(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117177763 A
(43)申请公布日 2023.12.05

(21)申请号 202280021291.5

(22)申请日 2022.02.02

(30)优先权数据
63/144,834 2021.02.02 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.09.13

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/014970 2022.02.02

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/169895 EN 2022.08.11

(71)申请人 吉奥瓦科斯公司
地址 美国佐治亚州
申请人 莱多斯公司

(72)发明人 M·J·豪泽 A·多米
G·古铁雷斯 J·帕努奇
V·科特莱亚 T·法雷斯
P·布翁滕波 C·布劳恩

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 陈文平 徐志明

(51)Int.Cl.
A61K 35/768(2006.01)

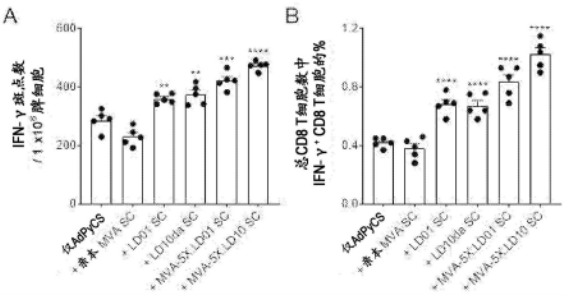
权利要求书14页 说明书115页
序列表369页 附图23页

(54)发明名称

用于增强疫苗接种期间的T细胞启动的病毒构建体

(57)摘要

本发明提供了包含免疫检查点抑制剂插入物的基于病毒的表达载体,其在疫苗接种方案期间用作增强宿主中针对抗原的T细胞启动的有效佐剂。具体而言,本文所述的组合物是编码一种或多种肽的新型重组修饰的安卡拉牛痘(MVA)病毒构建体,该一种或多种肽在施用后以多聚体构象表达并随后切割和从细胞中分泌。此类肽能够下调免疫检查点途径,例如通过抑制程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)、程序性细胞死亡配体1(PD-L1)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)或其他免疫检查点调节剂或其组合的激活。当与疫苗接种策略中的抗原施用协同使用时,表达免疫检查点的MVA病毒构建体提供了显著改善的抗原特异性CD8+T细胞扩增、增强的抗原反应和改善的疫苗接种效力。



CN 117177763 A

1.一种包含异源多顺反子核酸的重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其中所述多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_X$,其中x＝2-10,并且M为甲硫氨酸。

2.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中所述多顺反子核酸编码((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x＝1-10,并且M为甲硫氨酸。

3.根据权利要求1或2所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1-56的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

4.根据权利要求1-3所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO:1-15的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

5.根据权利要求1-4所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO:1或5的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

6.根据权利要求1-5所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

7.根据权利要求1-5所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

8.根据权利要求1-7所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含选自SEQ ID NO:57-90的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

9.根据权利要求1-8所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含选自SEQ ID NO:65的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

10.根据权利要求1-8所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含选自SEQ ID NO:66的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

11.根据权利要求1-10所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含选自SEQ ID NO:91-127的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

12.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含选自SEQ ID NO:93、120和123的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

13.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X＝任何氨基酸(SEQ ID NO:91)。

14.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X＝R、K或H(SEQ ID NO:92)。

15.根据权利要求1-12所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RAKR(SEQ ID NO:93)。

16.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RRRR(SEQ ID NO:94)。

17.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RKRR(SEQ ID NO:95)。

18.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RRKR(SEQ ID NO:96)。

19.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RKKR(SEQ ID NO:97)。

20.根据权利要求1-11所述的rMVA,其中所述可裂解肽为SEQ ID NO:123-127的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

21.根据权利要求1-12所述的rMVA,其中所述可裂解肽为SEQ ID NO:123的氨基酸,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

22.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:309-324的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

23.根据权利要求1-22所述的rMVA,其中x≥4。

24.根据权利要求1-22所述的rMVA,其中x＝3、4或5。

25.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:325-340的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

26.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:341-344的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

27.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:345-348的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

28.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码SEQ ID NO:325的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

29.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码SEQ ID NO:329的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

30.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码SEQ ID NO:333的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

31.根据权利要求1-2所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸编码SEQ ID NO:337的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

32.根据权利要求1-31所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸进一步编码抗原肽。

33.根据权利要求32所述的rMVA,其中所述抗原肽源自感染剂和肿瘤相关抗原。

34.根据权利要求33所述的rMVA,其中所述感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

35.根据权利要求34所述的rMVA,其中所述病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA逆转录病毒;双链DNA逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

36.根据权利要求32所述的rMVA,其中所述抗原肽源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫属寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定的抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

37.根据权利要求32所述的rMVA,其中所述抗原肽源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长

稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;MUC-1MARV GPTM氨基酸序列;马尔堡病毒VP40氨基酸序列;和MUC-1

-ECD-MARVTM-ICD序列;或其片段。

38.根据权利要求33所述的rMVA,其中所述肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过表达/累积的肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

39.根据权利要求33所述的rMVA,其中所述肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2

(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII,或其片段。

40.根据权利要求32所述的rMVA,其中所述抗原肽源自粘蛋白1或其片段。

41.根据权利要求40所述的rMVA,其中所述粘蛋白1由SEQ ID NO:402的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列编码。

42.根据权利要求40所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:349的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

43.根据权利要求40所述的rMVA,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

44.根据权利要求40所述的rMVA,其中所述粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞外结构域片段。

45.根据权利要求44所述的rMVA,其中所述人粘蛋白1的胞外结构域片段选自SEQ ID NO:358-361,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

46.根据权利要求40所述的rMVA,其中所述粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞内结构域片段。

47.根据权利要求46所述的rMVA,其中所述人粘蛋白1的胞内结构域片段包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

48.根据权利要求40所述的方法,其中所述粘蛋白1选自SEQ ID NO:363-364,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

49.根据权利要求48所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:363的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

50.根据权利要求48所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:364的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

51.根据权利要求32所述的rMVA,其中所述抗原肽源自选自SEQ ID NO:349-357的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

52.根据权利要求32所述的rMVA,其中所述抗原肽源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

53.根据权利要求51-52所述的rMVA,其中所述抗原肽源自选自SEQ ID NO:350、354、356、365、366、367、368、369、377、379的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

54.根据权利要求32-53所述的rMVA,其中所述抗原肽包括分泌信号。

55.根据权利要求54所述的rMVA,其中所述分泌信号融合至所述抗原肽的N-末端。

56.根据权利要求55所述的rMVA,其中所述分泌信号选自SEQ ID NO:57-90的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

57.根据权利要求56所述的rMVA,其中所述分泌信号包含SEQ ID NO.65的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

58.根据权利要求56所述的rMVA,其中所述分泌信号包含SEQ ID NO.66的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

59.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸插入两个必需且高度保守的MVA基因之间。

60.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸插入天然缺失位点中。

61.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入所述MVA中。

62.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间的位点插入所述rMVA中。

63.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间的位点插入所述rMVA中。

64.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自MVA基因A5和A6L之间的位点插入所述rMVA中。

65.根据权利要求32-64所述的rMVA,其中所述编码抗原肽氨基酸序列的核酸在甲硫氨酸(M)起始密码子下游的开放阅读框中。

66.一种增加患者中对靶抗原的免疫应答的方法,其包括向所述患者施用有效量的根据权利要求1-65所述的rMVA病毒载体,其中所述患者已经或正在施用有效量的所述靶抗原。

67.根据权利要求66所述的方法,其中所述rMVA病毒载体与靶抗原的施用同时施用或在其之后施用。

68.根据权利要求66-67所述的方法,其中所述靶抗原选自感染剂和肿瘤相关抗原。

69.根据权利要求68所述的方法,其中所述感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

70.根据权利要求69所述的方法,其中所述病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA-逆转录病毒;双链DNA-逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒

科病毒。

71.根据权利要求66-67所述的方法,其中所述靶抗原源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫属寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定的抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

72.根据权利要求66-67所述的方法,其中所述靶抗原源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;和SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;或其片段。

73.根据权利要求68所述的方法,其中所述肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过度表达/累积的肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

74.根据权利要求68所述的方法,其中所述肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2

(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII或其片段。

75.根据权利要求66-67所述的方法,其中所述靶抗原源自粘蛋白1或其片段。

76.根据权利要求75所述的方法,其中所述粘蛋白1由SEQ ID NO:402的核酸序列或与其至少95%相同的核酸序列编码。

77.根据权利要求75所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:349的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

78.根据权利要求75所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

79.根据权利要求75所述的方法,其中所述粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞外结构域片段。

80.根据权利要求79所述的方法,其中所述人粘蛋白1的胞外结构域片段选自SEQ ID NO:358-361,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

81.根据权利要求75所述的方法,其中所述粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞内结构域片段。

82.根据权利要求81所述的方法,其中所述人粘蛋白1的胞内结构域片段包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

83.根据权利要求75所述的方法,其中所述粘蛋白1选自SEQ ID NO:363-364,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

84.根据权利要求83所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:363的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

85.根据权利要求83所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:364的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

86.根据权利要求66-67所述的方法,其中所述靶抗原源自选自SEQ ID NO:349-357的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

87.根据权利要求66-67所述的方法,其中所述靶抗原源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

88.根据权利要求66-67所述的方法,其中所述靶抗原源自选自SEQ ID NO:350、354、356、365、366、367、368、369、377、379的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

89.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中所述多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

90.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中所述多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜肽),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

91.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中所述多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜肽-可裂解肽)(病毒基质蛋白),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

92.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物,其中所述多肽包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(抗原肽)),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

93.根据权利要求89-92所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1-56的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

94.根据权利要求89-93所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1-15的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

95.根据权利要求89-94所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1或5的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

96.根据权利要求89-95所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

97.根据权利要求89-95所述的rMVA,其中所述免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

98.根据权利要求89-97所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含选自SEQ ID NO.57-90的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

99.根据权利要求89-98所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含SEQ ID NO.65的氨基酸

序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

100.根据权利要求89-98所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含SEQ ID NO.66的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

101.根据权利要求89-100所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含选自SEQ ID NO.91-126的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

102.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含选自SEQ ID NO.93、120和123的氨基酸序列。

103.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:91)。

104.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X=R、K或H(SEQ ID NO:92)。

105.根据权利要求89-102所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RAKR(SEQ ID NO:93)。

106.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RRRR(SEQ ID NO:94)。

107.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RKRR(SEQ ID NO:95)。

108.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RRKR(SEQ ID NO:96)。

109.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽为RKKR(SEQ ID NO:97)。

110.根据权利要求89-101所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含选自SEQ ID NO.123-127的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

111.根据权利要求89-102所述的rMVA,其中所述可裂解肽包含SEQ ID NO.123的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

112.根据权利要求89-111中所述的rMVA,其中所述抗原肽源自感染剂和肿瘤相关抗原。

113.根据权利要求112所述的rMVA,其中所述感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

114.根据权利要求113所述的rMVA,其中所述病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA-逆转录病毒;双链DNA-逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

115.根据实施例89-111所述的rMVA,其中所述抗原肽源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫原寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定的抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

116.根据权利要求89-111所述的rMVA,其中所述抗原肽源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全

长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2 S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;

SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;

SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP13-14氨基酸序列;和SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;或其片段。

117.根据权利要求112所述的rMVA,其中所述肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过度表达/累积的肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

118.根据权利要求112所述的rMVA,其中所述肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2

(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII,或其片段。

119.根据权利要求89-111所述的rMVA,其中所述抗原肽源自粘蛋白1或其片段。

120.根据权利要求119所述的rMVA,其中所述粘蛋白1由SEQ ID NO:402的核酸序列或与其至少95%相同的核酸序列编码。

121.根据权利要求119所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:349的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

122.根据权利要求119所述的rMVA,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

123.根据权利要求119所述的rMVA,其中所述粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞外结构域片段。

124.根据权利要求123所述的rMVA,其中所述人粘蛋白1的胞外结构域片段选自SEQ ID NO:358-361,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

125.根据权利要求119所述的rMVA,其中所述粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞内结构域片段。

126.根据权利要求125所述的rMVA,其中所述人粘蛋白1的胞内结构域片段包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

127.根据权利要求119所述的方法,其中所述粘蛋白1选自SEQ ID NO:363-364,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

128.根据权利要求127所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:363的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

129.根据权利要求127所述的方法,其中所述粘蛋白1包含SEQ ID NO:364的氨基酸序

列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

130.根据权利要求89-111所述的rMVA,其中所述抗原肽源自选自SEQ ID NO:349-357的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

131.根据权利要求89-111所述的rMVA,其中所述抗原肽源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

132.根据权利要求89-111所述的rMVA,其中所述抗原肽源自选自SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

133.根据权利要求89-132所述的rMVA,其中所述糖蛋白信号肽源自丝状病毒科。

134.根据权利要求89-133所述的rMVA,其中所述糖蛋白信号肽包含SEQ ID NO.396的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

135.根据权利要求89-133所述的rMVA,其中所述糖蛋白跨膜肽包含SEQ ID NO.398的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

136.根据权利要求89-135所述的rMVA,其中所述病毒基质蛋白包含SEQ ID NO.400的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

137.根据权利要求89-136所述的rMVA,其中x≥4。

138.根据权利要求89-136所述的rMVA,其中x是3、4或5。

139.根据权利要求89-138所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸插入两个必需且高度保守的MVA基因之间。

140.根据权利要求89-138所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸插入天然缺失位点中。

141.根据权利要求89-138所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A5OR和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点处插入所述MVA中。

142.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间的位点插入所述rMVA中。

143.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A5OR和B1R之间的位点插入所述rMVA中。

144.根据权利要求1-58所述的rMVA,其中所述多顺反子核酸在选自MVA基因A5和A6L之间的位点插入所述rMVA中。

145.根据权利要求89-144所述的rMVA,其中所述编码抗原肽氨基酸序列的核酸在甲硫氨酸(M)起始密码子下游的开放阅读框中。

146.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

a)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第一核酸序列,其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸;和b)编码抗原肽的第二核酸序列;

其中所述免疫检查点抑制剂肽选自具有SEQ ID NO:1-57的序列的氨基酸;并且

其中所述第一核酸序列和所述第二核酸序列处于一个或多个牛痘病毒启动子的控制下。

147.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

a)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点

抑制剂肽)的氨基酸序列的第一核酸序列,其中x＝1-10,并且M为甲硫氨酸;和b)编码抗原肽的第二核酸序列;

其中所述免疫检查点抑制剂肽为SEQ ID NO:1,并且所述第一核酸序列和所述第二核酸序列处于一个或多个牛痘病毒启动子的控制下。

148.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

a)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第一核酸序列,其中x＝1-10,并且M为甲硫氨酸;和b)编码抗原肽的第二核酸序列;

其中所述免疫检查点抑制剂肽为SEQ ID NO:5,并且所述第一核酸序列和所述第二核酸序列处于一个或多个牛痘病毒启动子的控制下。

149.根据权利要求146-148所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含选自SEQ ID NO.57-90的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

150.根据权利要求146-149所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含SEQ ID NO.65的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

151.根据权利要求146-149所述的rMVA,其中所述分泌信号肽包含SEQ ID NO.66的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

152.根据权利要求146-151所述的rMVA,其中所述牛痘病毒启动子选自SEQ ID NO:128-308的核酸序列。

153.根据权利要求152所述的rMVA,其中所述抗原肽源自感染剂和肿瘤相关抗原。

154.根据权利要求153所述的rMVA,其中所述感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

155.根据权利要求154所述的rMVA病毒,其中所述病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA-逆转录病毒;双链DNA-逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

156.根据权利要求152所述的rMVA,其中所述抗原肽源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫属寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

157.根据权利要求152所述的rMVA,其中所述抗原肽源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全

长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;和SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;或其片段。

158.根据权利要求152所述的rMVA,其中所述抗原肽源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

159.根据权利要求146-158所述的rMVA,其中所述第一核酸序列和所述第二核酸序列在必需的MVA基因之间插入所述MVA中。

160.根据权利要求146-158所述的rMVA,其中所述第一核酸序列在必需的MVA基因之间插入所述MVA中。

161.根据权利要求146-160所述的rMVA,其中所述第二核酸序列在必需的MVA基因之间插入所述MVA中。

162.根据权利要求146-158所述的rMVA,其中所述第一核酸序列和所述第二核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入所述MVA中。

163.根据权利要求146-158所述的rMVA,其中所述第一核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入所述MVA中。

164.根据权利要求146-158所述的rMVA,其中所述第二核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入所述MVA中。

165.根据权利要求146-164所述的rMVA,其中所述牛痘病毒启动子为SEQ ID NO:128-130的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列。

166.根据权利要求146-165所述的rMVA,其中所述牛痘病毒启动子为SEQ ID NO:130,或与其至少95%相同的核酸序列。

167.根据权利要求146-166所述的rMVA,其中所述编码抗原肽氨基酸序列的核酸在甲硫氨酸(M)起始密码子下游的开放阅读框中。

168.根据权利要求146-167所述的rMVA,其中x≥4。

169.根据权利要求146-167所述的rMVA,其中x是3、4或5。

170.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

i)编码包含(粘蛋白1胞外片段肽-糖蛋白跨膜肽-粘蛋白1胞内片段肽)的氨基酸序列的第一核酸序列;和

ii)编码包含马尔堡病毒(MARV)VP40蛋白的氨基酸序列的第二核酸序列;和

iii)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第三核酸序列,其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸;

其中所述第一核酸序列、所述第二核酸序列和所述第三核酸序列在牛痘病毒启动子的控制下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起以形成病毒样颗粒(VLP)。

171.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

i)包含编码嵌合氨基酸序列的SEQ ID NO:402的核酸序列的第一核酸序列;

ii)包含SEQ ID NO:404的核酸序列的第二核酸序列;

iii)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第三核酸序列,其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸;

其中所述第一核酸序列、所述第二核酸序列和所述第三核酸序列在牛痘病毒启动子的控制下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起以形成病毒样颗粒(VLP)。

172.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

i)编码包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列的嵌合氨基酸序列的第一核酸序列;和

ii)编码包含SEQ ID NO:405的氨基酸序列的MARV VP40基质蛋白的第二核酸序列;和

iii)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第三核酸序列,其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸;

其中所述第一核酸序列、所述第二核酸序列和所述第三核酸序列在牛痘病毒启动子的控制下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起以形成病毒样颗粒(VLP)。

173.根据权利要求170-172所述的rMVA,其中所述第三核酸序列包含SEQ ID NO:408的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列。

174.根据权利要求170-172所述的rMVA,其中所述第三核酸序列包含SEQ ID NO:409的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列。

175.根据权利要求170-172所述的rMVA,其中所述第三核酸序列是选自SEQ ID NO:1、5或309-348的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸。

176.根据权利要求175所述的rMVA,其中所述第三核酸序列编码免疫检查点抑制剂肽,其包含SEQ ID NO:325的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

177.根据权利要求175所述的rMVA,其中所述第三核酸序列编码免疫检查点抑制剂肽,其包含SEQ ID NO:329的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

178.根据权利要求175所述的rMVA,其中所述第三核酸序列编码免疫检查点抑制剂肽,其包含SEQ ID NO:333的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

179.根据权利要求175所述的rMVA,其中所述第三核酸序列编码免疫检查点抑制剂肽,其包含SEQ ID NO:337的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

180.根据权利要求170-179所述的rMVA,其中所述第一核酸序列、所述第二核酸序列和所述第三核酸序列插入两个必需且高度保守的MVA基因之间。

181.根据权利要求170-179所述的rMVA,其中所述第一核酸序列、所述第二核酸序列和所述第三核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入所述rMVA中。

182.根据权利要求170-179所述的rMVA,其中所述第一核酸序列插入MVA基因I8R和GIL之间。

183.根据权利要求170-179所述的rMVA,其中所述第二核酸序列插入改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间。

184.根据权利要求170-179所述的rMVA,其中所述第三核酸序列插入两个必需的MVA基因A5R和A6L之间。

185.根据权利要求170-179所述的rMVA,其中所述第一核酸序列插入MVA基因I8R和GIL之间,所述第二核酸序列插入改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间,和所述第三核酸序列插入两个必需的MVA基因A5R和A6L之间。

186.根据权利要求170-185所述的rMVA,其中所述牛痘病毒启动子是选自SEQ ID NO:128-308的核酸序列。

187.根据权利要求170-186所述的rMVA,其中所述牛痘病毒启动子为SEQ ID NO:130,或与其至少95%相同的核酸序列。

188.一种药物组合物,其包含权利要求89-187中的至少一种rMVA和药学上可接受的载体。

189.一种在有需要的患者中预防、治疗或诱导对于靶抗原的免疫应答的方法,所述方法包括施用有效量的权利要求188的药物组合物,其中所述药物组合物增强针对所述靶抗原的免疫。

190.根据权利要求189所述的方法,其中所述靶抗原选自肿瘤相关抗原和感染剂。

191.根据权利要求190所述的方法,其中所述肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过度表达/累积的肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

192.根据权利要求190所述的方法,其中所述肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2

(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII,或其片段。

193.根据权利要求189-192所述的方法,其中所述患者是患有癌症的人。

194.根据权利要求193所述的方法,其中所述癌症选自肠癌、卵巢癌、乳腺癌、恶性黑色素瘤、肝细胞瘤、睾丸癌、前列腺癌、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、结肠直肠癌、胆管癌、胰腺癌、肺癌、黑色素瘤、软组织肉瘤或结肠癌。

195.根据权利要求190所述的方法,其中所述感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

196.根据权利要求195所述的方法,其中所述病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA-逆转录病毒;双链DNA-逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

197.根据权利要求190所述的方法,其中所述感染剂源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非

结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫属寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;和SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;或其片段。

198.根据权利要求195-197所述的方法,其中所述患者是暴露于所述感染剂的人。

199.根据权利要求198所述的方法,其中所述暴露的人是有症状的。

200.根据权利要求198所述的方法,其中所述暴露的人是无症状的。

201.根据权利要求195-197所述的方法,其中所述患者是未暴露于所述感染剂的人。

202.根据权利要求188-201所述的方法,其中rMVA施用选自肌内、动脉内、血管内、静脉内、腹膜内或皮下注射。

203.根据权利要求188-202所述的方法,其中所述rMVA包括用于增强免疫应答的佐剂。

204.根据权利要求188-202所述的方法,其中所述rMVA包括用于诱导免疫应答的疫苗。

205.根据权利要求192-204所述的方法,其中所述患者施用所述药物组合物至少2次或更多次。

206.根据权利要求205所述的方法,其中所述施用分开至少4周的间隔期。

207.一种增强患者的免疫应答的方法,其包括向所述患者施用有效量的根据权利要求89-187所述的rMVA。

208.一种在患者中诱导对于MUC1抗原的免疫应答的方法,其包括向所述患者施用有效量的根据权利要求119-145或170-187所述的rMVA。

209.根据权利要求207-208所述的方法,其中所述患者是人。

用于增强疫苗接种期间的T细胞启动的病毒构建体

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2021年2月2日递交的美国临时申请号63/144,834的优先权。出于所有目的,该申请的全部内容通过引入并入本文。

发明领域

[0003] 本发明提供了包含免疫检查点抑制剂编码核酸插入物的基于病毒的表达载体,其用作在疫苗接种方案期间增强宿主中针对抗原的T细胞启动的有效佐剂。特别地,本文所述的组合物是编码免疫检查点抑制剂肽的新型重组修饰的安卡拉牛痘(MVA)病毒构建体,该免疫检查点抑制剂肽在施用后以多聚体构象表达,并随后切割和从细胞分泌。

[0004] 通过引入并入

[0005] 在2022年2月1日创建,并且大小为564KB的名称为“19101-014W01_SEQ_TXT”的文本文件的内容以其整体通过引用并入本文。

背景技术

[0006] 疫苗被认为是现代医学最重要的进展之一,并且通过减少或消除许多严重的传染病极大地改善了生活质量。已开发出对于各种各样的人类病原体的疫苗,包括,例如,细菌毒素(例如,破伤风和白喉毒素)、急性病毒病原体(例如,麻疹、腮腺炎、风疹)、潜伏或慢性病毒病原体(例如,分别水痘带状疱疹病毒[VZV]和人乳头瘤病毒[HPV])、呼吸道病原体(例如,流感病毒、百日咳博德特氏菌)和肠道病原体(例如,脊髓灰质炎病毒、伤寒沙门氏菌)。大多数批准的疫苗可分为活疫苗、减毒疫苗、非复制型全颗粒疫苗(包括病毒样颗粒,或VLPs)和亚基疫苗。

[0007] 然而,为了开发成功的疫苗,需要由体液和细胞免疫应答组成的强大且持久的保护性免疫。免疫的两个要素对于有效消灭病原体是必要的。尽管在开发对于多种病原体的疫苗方面取得了进展,但无法引发有效、持久和保护性的T细胞免疫,特别是CD8+T细胞反应,已成为主要障碍,并且是许多疫苗开发(尤其是对于细胞内病原体)努力失败的主要原因(参见,例如,Seder等人,Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity.Nature.2000Aug 17;406(6797):793-8)。

[0008] 克服这些固有障碍的一个策略是鉴定和使用增强免疫原性的佐剂,并且已经进行了大量工作来评估推定的佐剂对先天免疫激活以及对模型抗原和潜在疫苗的适应性免疫应答的影响(参见,例如,Halbroth等人,Development of aMolecular Adjuvant to Enhance Antigen-Specific CD8+T Cell Responses.Sci Rep.2018Oct 9;8(1):15020;Counoupas等人,Delta inulin-based adjuvants promote the generation of polyfunctional $CD4^+$T cell responses and protection against Mycobacterium tuberculosis infection.Sci Rep.2017Aug 17;7(1):8582;Thakur等人,Intracellular Pathogens:Host Immunity and Microbial Persistence Strategies.Immunol Res.2019Apr 14;2019:1356540)。

[0009] 例如,铝胶(alhydrogel)是特性良好的氢氧化铝佐剂,目前包含在多种FDA批准的疫苗中。铝胶提供了贮库效应,由此抗原在体内更缓慢地释放,导致延长的抗原暴露时间,其可能会也可能不会有助于佐剂作用(adjuvancy)(Hutchison等人,Antigen depot is not required for alum adjuvanticity.FASEB J.2012;26:1272-1279)。此外,铝胶已被证明激活炎性小体,其可能有助于基于铝胶的疫苗的免疫原性(Guven等人,Aluminum hydroxide adjuvant differentially activates the three complement pathways with major involvement of the alternative pathway.PLoS One.2013;8:e74445)。

[0010] PolyICLC是由羧甲基纤维素中的聚L-赖氨酸稳定的双链RNA(Levy等人,A modified polyriboinosinic-polyribocytidylic acid complex that induces interferon in primates.J.Infect.Dis.1975;132:434-439)。其通过toll样受体-3(TLR3)和潜在黑色素瘤分化相关蛋白5(MDA5)受体发出信号,从而引发强的I型IFN反应,并使免疫应答偏向Th1谱应答(Wang等人,Cutting edge:polyinosinic:polycytidylic acid boosts the generation of memory CD8 T cells through melanoma differentiation-associated protein 5expressed in stromal cells.J.Immunol.2010;184:2751-2755)。PolyICLC已在多项临床试验中用于治疗和疫苗用途(Martins等,poly-IC及其衍生物的疫苗佐剂用途)。Expert Rev.Vaccines.2015;14:447-459)。

[0011] CpG寡脱氧核苷酸(或CpG ODN)是含有胞嘧啶三磷酸脱氧核苷酸(“C”)之后鸟嘌呤三磷酸脱氧核苷酸(“G”)的短单链合成DNA分子。“p”是指连续核苷酸之间的磷酸二酯连接,尽管一些ODN具有修饰的硫代磷酸酯(PS)主链。当这些CpG基序未被甲基化时,其作为免疫刺激剂发挥作用,并且也可以作为佐剂进行检验(Marshall等人,Identification of a novel cpg DNA class and motif that optimally stimulate B cell and plasmacytoid dendritic cell functions.J.Leukoc.Biol.2003;73:781-792)。

[0012] MPL是TLR4激动剂,及GSK佐剂AS04的活性组分(Einstein等人,Comparative humoral and cellular immunogenicity and safety of human papillomavirus(HPV)-16/18AS04-adjuvanted vaccine and HPV-6/11/16/18vaccine in healthy women aged 18-45years:follow-up through month 48in aPhase III randomized study.Hum.Vaccines Immunother.2014;10:3455-3465)。MPL已被证明作为佐剂非常有效,特别是与基于铝的佐剂如铝胶或纳米颗粒制剂组合使用(Bohannon等人,The immunobiology of Toll-Like receptor 4agonists:from endotoxin tolerance to immunoadjuvants.Shock.2013;40:451-462)。

[0013] 其他众所周知的佐剂包括基于明矾的佐剂、基于油的佐剂、Freund’s佐剂、specol、Ribi佐剂、母牛分枝杆菌、免疫刺激复合物(ISCOMS)、MF-59、SBAS-2、SBAS-4、脱毒BSE(Enhanzyn®)、脂质-A模拟物RC-529、氨基烷基葡萄糖胺4-磷酸酯(AGP)、CRX-527、单磷酰脂质A(例如,MPL-SE)、脱毒皂苷衍生物(例如,QS-21、QS7)、七叶皂苷、gigitonin、丝石竹(gypsophila)和藜麦皂苷(参见,例如,Alving等人,Adjuvants for Human Vaccines.Curr Opin Immunol.2012Jun;24(3):310-315)。

[0014] 尽管在佐剂的制剂和使用方面取得了重大进展,但大多数佐剂被设计为产生固有的炎症危险信号。虽然这些危险信号对先天免疫激活(包括抗原呈递和细胞因子产生)是必要的,但对T细胞启动的直接影响有限(Powell等人Polyionic vaccine adjuvants:

another look at aluminum salts and polyelectrolytes.Clin Exp Vaccine Res.2015Jan;4(1):23-45;Petrovsky N.Comparative Safety of Vaccine Adjuvants:A Summary of Current Evidence and Future Needs.Drug Saf.2015Nov;38(1 1):1059-74),大多数使用普通佐剂的疫苗接种策略不能诱导长期记忆$CD8^+$T细胞(Kamphorst等人,Beyond Adjuvants:Immunomodulation strategies to enhance T cell immunity.Vaccine.2015Jun 8;33(0 2):B21-B28)。在针对慢性感染和癌症的疫苗接种过程中尤其如此,这需要免疫调控策略来增强克服免疫抑制微环境所需的T细胞反应。

[0015] 一种这样的策略是下调免疫检查点抑制受体,例如程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)或程序性细胞死亡配体1(PD-L1)。例如,PD-1在调节T细胞对抗原呈递的反应的阈值、强度和持续时间方面发挥作用(Okazaki等人,A rheostat for immune responses:the unique properties of PD-1and their advantages for clinical application.Nat Immunol.2013Dec;14(12):1212-8)。PD1在原始T细胞激活时迅速上调,这是在感染期间和感染后将不受控制的炎症对宿主造成的损害最小化所必需的(Ahn等人,Role of PD-1during effector CD8 T cell differentiation.PNAS2018May 1;115(18):4749-4754)。在非人类灵长动物中,使用基于SIVgag腺病毒的疫苗与抗PD1单克隆抗体联合免疫显著提高了峰值Gag特异性T细胞反应(Finnefrock等人,PD-1blockade in rhesus macaques:impact on chronic infection and prophylactic vaccination.J Immunol.2009Jan15;182(2):980-7)。

[0016] 尽管为治疗癌症而开发的基于单克隆抗体(mAb)的检查点抑制剂可有效地恢复免疫功能,但它们并不容易适用于传染病疫苗学领域。由于其较长的血清半衰期,抗PD1单克隆抗体可触发严重的免疫相关不良事件(irAEs)并加速自身免疫疾病(Brahmer等人,Phase I study of single-agent anti-programmed death-1(MDX-1106)in refractory solid tumors:safety,clinical activity,pharmacodynamics,and immunologic correlates.J Clin Oncol.2010Jul 1;28(19):3167-75;Topalian等人,Safety,activity,and immune correlates of anti-PD-1antibody in cancer.N Engl J Med.2012Jun 28;366(26):2443-54),使其用作预防性疫苗佐剂是不可接受的。

[0017] 因此,需要在疫苗接种策略中使用免疫检查点抑制剂的改善方法,其提供安全和有效的免疫。

发明内容

[0018] 本文提供了包含重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体的组合物,其在宿主例如人的免疫方案期间用作佐剂或疫苗。rMVA被构建为表达能够抑制一种或多种免疫检查点途径的高浓度的肽(免疫检查点抑制剂肽)。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽由多顺反子、多聚核酸插入物表达并从细胞中分泌。

[0019] 先前已表明,PD-1抑制剂肽(LD01-SEQ ID NO:1)与基于腺病毒的或基于辐射的子孢子的预防性疟疾疫苗联合施用时,增强免疫活性小鼠的抗原特异性CD8+T细胞的扩增(参见Phares等人A peptide-based PD1 antagonist enhances T-cell priming and efficacy of a prophylactic malaria vaccine and promotes survival in a lethal malaria model.Front.Immunol.11,1377(2020),在此通过引用并入)。如本文所示,现已发

现,使用MVA作为递送媒介表达免疫检查点抑制剂在疫苗接种策略期间提供显著益处,因为MVA病毒载体的天然趋向性包括能够迁移至引流淋巴结并全身性扩散的专门抗原呈递细胞,例如树突状细胞。据信,在宿主暴露于抗原期间通过在淋巴结环境中,例如以多顺反子、多聚体构象表达充分且高量的治疗水平的免疫检查点抑制剂,显著增强了$CD8^+$T细胞启动。如以下实例所示,当在疫苗接种策略期间与抗原的施用协同使用时,与例如此类免疫检查点抑制剂肽的裸施用(naked adminstration)相比,表达免疫检查点的rMVA病毒构建体提供了显著改善的抗原特异性CD8+T细胞扩增、增强的抗原应答和改善的疫苗接种效率,并且提供了对现有技术的佐剂策略的显著改善。

[0020] 在一个方面,本文提供了一种包含异源多顺反子核酸插入物的rMVA病毒载体,所述异源多顺反子核酸插入物编码一种或多种嵌合多肽,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种或更多种嵌合多肽,每个嵌合多肽包含分泌信号肽和免疫检查点抑制剂肽。在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码两种或更多种嵌合多肽的异源核酸插入物,其中该两种或更多种嵌合多肽由单一异源多顺反子核酸插入物表达,其中编码两种或更多种嵌合多肽的每个核酸序列在多顺反子核酸序列中可操作地连接。在一些实施方案中,rMVA包含两种或更多种异源多顺反子插入物,例如2、3或4种或更多种多顺反子插入物。在一些实施方案中,从rMVA表达的嵌合多肽群由两种或更多种不同的免疫检查点抑制剂肽组成。在一些实施方案中,rMVA进一步编码一种或多种抗原肽,其在被rMVA表达时,能够诱导足够的免疫原性以提供或增强对感染剂的保护性免疫。在一些实施方案中,rMVA进一步编码一种或多种抗原肽,其在被rMVA表达时,能够在宿主中诱导免疫应答,其改善病症(例如传染病或癌症)的一种或多种症状或病况。

[0021] 在一些方面,包含由多顺反子核酸插入物编码的分泌信号肽和免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽各自包括能够在翻译期间或翻译后被切割的、与免疫检查点抑制剂肽的C-末端连接的肽序列。当可分泌的免疫检查点抑制剂肽以多聚体构象插入时,包括可裂解肽允许多聚体的每个嵌合多肽在翻译期间(例如,通过翻译新生链分离事件)作为单体表达,或在替代实施方案中,在翻译后被切割成单体,或两者的组合。在一些实施方案中,由最3'侧核酸编码的嵌合多肽缺乏可裂解肽序列。

[0022] 在一些实施方案中,本文提供了包含编码多肽的异源核酸插入物的rMVA病毒载体,其中多肽包含序列(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)$_x$,其中x=2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。

[0023] 在一些实施方案中,本文提供了包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物的rMVA病毒载体,其中多肽包含串联重复序列(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$,其中x=2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸(参见,例如,图1A-1B)。在一些实施方案中,本文提供了一种rMVA病毒载体,其包含编码串联重复序列中两种或更多种多肽的异源多顺反子核酸插入物和与串联重复序列中的最后多肽的C-末端融合的另外多肽((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M-甲硫氨酸(参见,例如,图2A-2B)。

[0024] 在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码两种或更多种多肽的多顺反子核酸插入物,其中多肽包含如本文所述的串联重复序列,例如包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽))的第一多肽串联重复序列,其

中x＝1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中M＝甲硫氨酸,其中第一多肽编码序列于5'→3'方向定向,并且第二多肽串联重复序列包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x＝1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中M＝甲硫氨酸,其中第二多肽编码序列于3'→5'方向定向,其中每个顺反子包括能够启动转录的痘病毒启动子。在一些实施方案中,x＝3、4、5或6。

[0025] 如本文所提供的,在疫苗接种方案期间,将rMVA用作佐剂以增加一种或多种共同施用的抗原的免疫原性。通过表达能够下调一种或多种检查点抑制途径的局部的、大量的一种或多种免疫检查点抑制剂肽,可以下调通常阻碍产生足够的抗原性以诱导免疫的免疫调控活性。在某些方面,免疫检查点抑制剂肽能够抑制由受体蛋白介导的免疫检查点途径的活性,其选自但不限于程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)、程序性死亡配体1(PD-L1)、程序性死亡配体2(PD-L2)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)、淋巴细胞激活基因3(LAG-3)、T细胞免疫球蛋白和粘蛋白域-3(TIM-3)、T细胞激活的V结构域Ig抑制因子(VISTA)、B7同源蛋白(B7)、B7同源物3蛋白(B7-H3)、B7同源物4蛋白(B7-H4)、B7同源物5蛋白(B7-H5)、OX-40(OX-40)、OX-40配体(OX-40L)、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)、CD137、CD40、B和T淋巴细胞衰减因子(BTLA)、疱疹病毒进入介质(HVEM)、半乳糖凝集素-9(GAL9)、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)、自然杀伤细胞受体2B4(2B4)、CD160、检查点激酶1(CHK1)、检查点激酶2(CHK2)、腺苷A2a受体(A2aR)、具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT)、诱导型T细胞共刺激剂(ICOS)、诱导型T细胞共刺激剂配体(ICOS-L)或其组合。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-1。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-L1。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制CTLA-4。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-1、PD-L1或CTLA-4或其组合。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-1和CTLA-4两者。

[0026] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自表1中所述的肽,或其同源物、衍生物或片段。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID NO:1-56的氨基酸序列的肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID NO:1-5的氨基酸序列的肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自具有SEQ ID NO:1(CRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ)的氨基酸序列的肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自具有SEQ ID SEQ ID NO:5(STGQISTLRVNITAPLSQ)的氨基酸序列的肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自具有SEQ ID NO:6(STGQISTLAVNITAPLSQ)的氨基酸序列的肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。

[0027] 在如本文提供的一些方面,由rMVA表达的每种免疫检查点抑制剂肽在其N-末端与分泌信号肽融合,并且其中rMVA表达两种或更多种免疫检查点抑制剂肽的情况下,在其C-末端与一种或多种可裂解肽融合。分泌信号肽允许免疫检查点抑制剂肽转位至内质网(ER)中。在生长的肽链共翻译插入到ER内腔中后,信号肽酶将信号肽从免疫检查点抑制剂肽中切割,并分泌免疫检查点抑制剂(参见,例如,图3A、图3B和3C)。本文使用的分泌信号肽可以是允许免疫检查点抑制剂肽分泌的任何合适的信号肽。用于本发明的分泌信号肽在本领域

中是已知的(参见,例如,Kober等人,Optimized signal peptides for the development of high expressing CHO cell lines.Biotechnol Bioengin.2013;110:1164-1173,通过引用并入本文)。在一些实施方案中,分泌信号肽是源自天然人分泌蛋白的长度在约15-30个氨基酸之间的短肽。在一些实施方案中,分泌信号是选自表2(SEQ ID NO:57-90)的那些的分泌信号,或其同源物、衍生物或片段。在一些实施方案中,分泌信号肽是或源自例如但不限于人生长因子、人细胞因子、白细胞介素-1、白细胞介素-2、人免疫球蛋白κ轻链、胰蛋白酶原、血清白蛋白、催乳素、组织纤溶酶原激活物、碱性磷酸酶或本文所述的其他合适的分泌信号序列。在一些实施方案中,分泌信号肽源自人组织纤溶酶原激活物。在一些实施方案中,分泌信号肽源自包含氨基酸序列DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQ(SEQ ID NO:65)的人组织纤溶酶原激活物,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,分泌信号肽源自包含氨基酸序列DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGAR(SEQ ID NO:66)的人组织纤溶酶原激活物,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,由多顺反子核酸插入物编码的第一种多肽的分泌信号肽进一步包含起始氨基酸甲硫氨酸(M)。

[0028] 在一些实施方案中,一种或多种免疫检查点抑制剂嵌合多肽包括一种或多种与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的肽序列,该免疫检查点抑制剂肽能够在多顺反子核酸翻译期间或翻译后或其组合中被切割(参见,例如,图3A、3B和3C)。在一些实施方案中,最C-末端的免疫检查点抑制剂嵌合多肽不包括可裂解肽。在一些实施方案中,可裂解肽能够被原蛋白转化酶,例如包括但不限于弗林蛋白酶或弗林样原蛋白转化酶切割。在一些实施方案中,可裂解肽序列包含碱性氨基酸靶序列(规范地,RX(R/K)R),其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:91)。在一些实施方案中,可裂解肽序列包含碱性氨基酸靶序列(规范地,RX(R/K)R),其中X=R、K或H(SEQ ID NO:92)。在一些实施方案中,可裂解肽序列为RAKR(SEQ ID NO:93)。在一些实施方案中,可裂解肽序列是RRRR(SEQ ID NO:94)。在一些实施方案中,可裂解肽为RKRR(SEQ ID NO:95)。在一些实施方案中,可裂解肽为RRKR(SEQ ID NO:96)。在一些实施方案中,可裂解肽为RKKR(SEQ ID NO:97)。通过在每种共价连接的嵌合多肽上包括可裂解肽序列,在多顺反子核酸插入物翻译期间表达的多聚体多肽可在翻译后通过裂解机制加工成单体嵌合多肽。这允许包含免疫检查点抑制剂肽的每个嵌合多肽从细胞中分泌,并起到下调不期望的免疫检查点途径的作用(参见,例如,图3A)。

[0029] 在一些实施方案中,每个嵌合多肽包括一种或多种融合到免疫检查点抑制剂肽C-末端的肽序列,该免疫检查点抑制剂肽能够在多顺反子核酸翻译期间诱导核酶跳跃。核糖体“跳跃”是一种替代翻译机制,其中特定的肽序列阻止核糖体共价连接新插入的氨基酸,但仍继续翻译。这导致通过诱导的核糖体跳跃的多蛋白“裂解”。在一些实施方案中,能够诱导核糖体跳跃的肽是顺式作用的水解酶元件肽(CHYSEL)。在一些实施方案中,CHYSEL序列包含具有强α-螺旋倾向的非保守氨基酸序列,随后是共有序列D(V/I)EXNPGP,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98),其中核糖体跳跃裂解发生在G和P序列之间。在一些实施方案中,CHYSEL序列包含DVEENPGP(SEQ ID NO:99)。在一些实施方案中,CHYSEL肽序列是选自表4中那些的序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,CHYSEL肽序列是选自SEQ ID NO:100-122的氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,CHYSEL肽序列是

选自SEQ ID NO:118-122的氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,CHYSEL序列包含GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:120),或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。通过包含诱导核糖体跳跃的肽序列,由多顺反子核酸插入物编码的多种嵌合多肽表达为单体,其然后从细胞中分泌并起到下调不期望的免疫检查点途径的作用(参见,例如,图3B)。

[0030] 在一些实施方案中,可裂解肽序列包含能够通过不同机制裂解的两种或更多种序列,例如能够在多顺反子核酸翻译后被裂解的可裂解肽序列和能够在多顺反子核酸翻译期间诱导核酶跳跃的肽序列。通过提供经受多种裂解模式的可裂解肽序列,可以提高由多顺反子核酸形成单体的效率。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽将弗林蛋白酶可裂解肽序列,例如肽序列RX(R/K)R,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:91)与其C-末端融合,并且融合至弗林可裂解肽序列的C-末端是包含例如D(V/I)EXNPGP(其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98))的CHYSEL肽序列。例如,通过在每个嵌合多肽之间包括融合至CHYSEL肽序列的N-末端的弗林蛋白酶可裂解肽序列,例如RAKR(SEQ ID NO:93),转录的多顺反子核酸在翻译期间经历核酶跳跃,从而导致单体嵌合多肽的产生,并且在翻译后加工和弗林蛋白酶-肽的裂解后,弗林蛋白酶裂解序列中除了精氨酸(R)和丙氨酸(A)残基之外的所有残基都保留在免疫检查点抑制剂肽的C-末端,从而限制了额外的氨基酸序列对免疫检查点抑制剂肽功能的潜在干扰(参见,例如,图3C)。在替代实施方案中,使用弗林蛋白酶可裂解肽RRRR(SEQ ID NO:94)、RKRR(SEQ ID NO:95)或RRKR(SEQ ID NO:96)导致完整的弗林蛋白酶裂解序列从免疫检查点抑制剂肽的C-末端移除,而没有剩余的氨基酸保留。在一些实施方案中,杂合裂解序列为RAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:123),或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,杂合裂解序列为RRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:124),或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,杂合裂解序列为RKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:125),或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,杂合裂解序列为RRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:126),或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,杂合裂解序列为RKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:127),或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。

[0031] 在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码具有选自SEQ ID NO:309-340或SEQ ID NO:341-348的氨基酸序列的多肽的异源多顺反子核酸插入物。在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码具有SEQ ID NO:325-340或SEQ ID NO:345-348的氨基酸序列的多肽的异源多顺反子核酸插入物。在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码具有SEQ ID NO:325的氨基酸序列的多肽的异源多顺反子核酸插入物。在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码具有SEQ ID NO:329的氨基酸序列的多肽的异源多顺反子核酸插入物。在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码具有SEQ ID NO:333氨基酸序列的多肽的异源多顺反子核酸插入物。在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码具有SEQ ID NO:337的氨基酸序列的多肽的异源多顺反子核酸插入物。

[0032] 核酸插入物的转录可以由一种或多种与MVA病毒载体相容的启动子启动,该启动

子位于核酸内含有的第一编码序列的起始密码子的5'侧并与其可操作地连接。与痘病毒表达载体相容的合适的启动子是本领域已知的,且包括但不限于pmH5、P11、pSyn、pHyb或任何其他合适的MVA启动子序列。在一些实施方案中,启动子是MVA ORF的天然启动子。在一些实施方案中,启动子选自表7中的启动子,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的序列的核酸。在一些实施方案中,启动子序列选自SEQ ID NO:128-308。或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。在一些实施方案中,启动子序列选自SEQ ID NO:130-132,或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。在一些实施方案中,启动子序列为SEQ ID NO:130,或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。

[0033] 在其中表达多种免疫检查点抑制剂肽的一些实施方案中,因为嵌合多肽被转录为单一转录物,多顺反子核酸插入物仅在最后的嵌合多肽的ORF序列之后包括一个或多个终止信号(例如,终止密码子,诸如TAA、TAG或TGA或其组合或多重)。当转录时,多种嵌合多肽产生然后被翻译的单一转录物。翻译后加工之后,产生多种单体嵌合多肽。

[0034] 本发明提供的rMVA病毒构建体可用作用于治疗或预防受试者的传染病或癌症,或诱导针对传染病或癌症的免疫应答的佐剂。在一些实施方案中,例如在引发阶段、增强阶段或引发阶段和宿主阶段两者,在预防性疫苗接种方案中将rMVA病毒构建体向有需要的受试者,例如人施用,以预防传染病。在替代实施方案中,rMVA病毒构建体以合并到疫苗接种方案中的治疗模式向有需要的受试者,例如人施用,以治疗癌症。因此,rMVA病毒构建体可与一种或多种旨在诱导针对抗原靶标的免疫应答的抗原协同施用,以便在有需要的受试者中诱导部分或完全免疫。

[0035] 因此,本发明的rMVA可与一种或多种靶向传染病或癌症的抗原一起施用。rMVA可用作其佐剂的抗原和抗原递送媒介的实例包括:抗原蛋白、多肽或肽,或其片段;编码一种或多种抗原的核酸,例如mRNA或DNA;多糖或多糖与蛋白质的缀合物;糖脂,例如神经节苷脂;类毒素;亚基(例如,病毒、细菌、真菌、阿米巴虫、寄生虫等的亚基);病毒样颗粒;活病毒;分裂病毒;减毒病毒;灭活病毒;包膜病毒;表达一种或多种抗原的病毒载体;肿瘤相关抗原;或其任何组合。

[0036] 在具体方面,本发明提供了在有需要的受试者中预防或治疗传染病,或诱导对于传染病的免疫应答的方法,所述方法包括与预防有效或治疗有效量的一种或多种抗原或抗原表达载体组合、交替或协同施用有效量的本发明的rMVA,其中rMVA增强针对靶向的感染性疾病的免疫。

[0037] 在一些实施方案中,靶向的感染是病毒感染,包括但不限于:双链DNA病毒,包括但不限于腺病毒、疱疹病毒和痘病毒;单链DNA,包括但不限于细小病毒;双链RNA病毒,包括但不限于呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒,包括但不限于冠状病毒,例如SARS-CoV2、小核糖核酸病毒和披膜病毒;反义单链RNA病毒,包括但不限于正粘病毒和弹状病毒;单链RNA-逆转录病毒,包括但不限于逆转录病毒;或双链DNA-逆转录病毒,包括但不限于嗜肝DNA病毒。在一些实施方案中,靶向的病毒为腺病毒、禽流感病毒、柯萨奇病毒、巨细胞病毒、登革热病毒、埃博拉病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、马脑炎病毒、黄病毒、嗜肝DNA病毒、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、丁型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、单纯疱疹病毒、人免疫缺陷病毒、人乳头瘤病毒、流感病毒、日本脑炎病毒、JC病毒、麻疹病毒、马尔堡病毒、中东呼吸综合征冠状病毒、腮腺炎病毒、正粘病毒、乳头瘤病毒、副流感病毒、细小病毒、小核糖核酸病毒、

脊髓灰质炎病毒、痘病毒、狂犬病毒、呼肠孤病毒、呼吸道合胞病毒、逆转录病毒、弹状病毒、鼻病毒、裂谷热病毒、轮状病毒、风疹病毒、麻疹病毒、严重急性呼吸综合症-冠状病毒1型、严重急性呼吸综合症-冠状病毒2型、天花病毒、披膜病毒、猪流感病毒、水痘带状疱疹病毒、重型天花病毒、轻型天花病毒和黄热病病毒。

[0038] 在一些实施方案中,靶向的感染是细菌,包括但不限于疏螺旋体属物种、炭疽杆菌、伯氏疏螺旋体、百日咳博德特菌、空肠弯曲杆菌、衣原体属、鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体、梭菌物种、破伤风杆菌、肉毒杆菌、产气荚膜梭菌、白喉棒杆菌、柯克斯菌物种、肠球菌物种、埃立克体物种、大肠杆菌、土拉弗朗西斯菌、嗜血杆菌物种、流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、乳杆菌物种、军团菌物种、嗜肺军团菌、问号钩端螺旋体、李斯特菌物种、单核细胞增多性李斯特菌、分枝杆菌物种、结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、支原体物种、肺炎支原体、奈瑟氏菌物种、脑膜炎奈瑟氏菌、淋病奈瑟氏菌、肺炎球菌物种、假单胞菌物种、铜绿假单胞菌、沙门氏菌物种、伤寒沙门氏菌、肠沙门氏菌、链球菌物种、立克次体物种、立氏立克次体、伤寒立克次体、志贺氏菌物种、葡萄球菌物种、金黄色葡萄球菌、链球菌物种、肺炎链球菌、化脓链球菌、变异链球菌、密螺旋体物种、梅毒螺旋体、弧菌属物种、霍乱弧菌和鼠疫耶尔森氏菌。

[0039] 在一些实施方案中,靶向的感染为真菌感染,包括但不限于来自曲霉菌属物种、念珠菌属物种、白色念珠菌、热带念珠菌、隐球菌属物种、新生隐球菌、溶组织内阿米巴、荚膜组织胞浆菌、利什曼原虫物种、星形诺卡氏菌、恶性疟原虫、弓形虫、阴道毛滴虫、弓形虫属物种、布氏锥虫、曼氏血吸虫、镰刀菌属物种和毛癣菌属物种的真菌。

[0040] 在一些实施方案中,靶向的感染为寄生虫,包括但不限于来自疟原虫属物种、弓形虫物种、内阿米巴物种、巴贝斯虫物种、锥虫属物种、利什曼原虫属物种、肺囊虫属物种、毛滴虫属物种、贾第鞭毛虫属物种和血吸虫属物种的寄生虫。

[0041] 在一些实施方案中,一种在有需要的受试者中预防或治疗癌症或者诱导对癌症的免疫应答的方法,所述方法包括与预防有效或治疗有效量的一种或多种肿瘤相关抗原或肿瘤相关抗原表达载体组合、交替或协同施用有效量的本发明的rMVA,其中rMVA增强针对靶向癌症的免疫。在一些实施方案中,肿瘤相关抗原(TAA)是但不限于:肿瘤胚胎TAA,其通常仅在胎儿组织和癌性体细胞中表达;肿瘤病毒TAA,其通常由致瘤转化病毒编码;过度表达/累积的TAA,其通常由正常组织和肿瘤组织两者表达,在肿瘤中表达水平显著升高;癌症-睾丸TAA,其通常仅由癌细胞和成人生殖组织(例如睾丸和胎盘)表达;谱系限制性的TAA,其通常主要由单一癌症组织类型表达;突变的TAA,其通常作为基因突变或转录改变的结果仅由癌症表达;翻译后改变的TAA,其通常具有肿瘤相关的糖基化改变等;和独特型TAA,其通常是高度多态性基因,其中肿瘤细胞表达特定的“克隆型”,即,如由克隆异常引起的B细胞、T细胞淋巴瘤/白血病中。在一些实施方案中,TAA选自:Wilm’s瘤蛋白(WT1);肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME);生存素;癌症/睾丸抗原1(NY-ESO-1);黑色素瘤相关抗原3(MAGE-A3);黑色素瘤相关抗原4(MAGE-A4);蛋白酶3(Pr3);细胞周期蛋白A1;高度同源性滑膜肉瘤X 2(SSX2);中性粒细胞弹性蛋白酶(NE);粘蛋白1(MUC1);甲胎蛋白(AFP);癌胚抗原(CEA);癌症抗原125(CA-125);上皮肿瘤抗原(ETA);酪氨酸酶;ras异常产物;p53异常产物;爱泼斯坦巴尔病毒早期抗原(EA)、潜膜蛋白1(LMP1)和潜膜蛋白2(LMP2);神经节苷脂,例如,GM1b、GD1c、GM3、GM2、GM1a、GD1a、GT1a、GD3、GD2、GD1b、GT1b、GQ1b、GT3、GT2、GT1c、GQ1c和GP1c和

神经节苷脂衍生物,例如,9-O-Ac-GD3、9-O-Ac-GD2、5-N-de-GM3、N-乙醇酰基GM3、NeuGcGM3和岩藻糖基GM1;或其组合。

[0042] 在一些实施方案中,抗原源自SEQ ID NO:349-394的氨基酸序列。

[0043] 在替代实施方案中,本发明的rMVA病毒载体,除了表达多种免疫检查点抑制剂肽的能力之外,可进一步构建为编码和表达一种或多种抗原肽。该一种或多种抗原肽可以在一个或多个单独的核酸插入物上编码,或者在替代实施方案中,一种或多种抗原肽与多个免疫检查点抑制剂肽在相同的多顺反子核酸插入物上编码。在一些实施方案中,本文提供了包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物的rMVA病毒载体,其中多肽包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(抗原肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,抗原肽包含在含有融合至抗原肽N-末端的分泌信号肽的嵌合多肽中,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸(参见,例如,图4A-图4B)。在一些实施方案中,还提供了抗原肽,使得在多顺反子核酸插入物中编码2种或更多种抗原肽,其中每个嵌合多肽由本文所述的可裂解肽分隔。在一些实施方案中,抗原肽包含在含有融合至抗原肽N-末端的分泌信号肽和融合至抗原肽C-末端的可裂解肽的嵌合多肽中,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_y$),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,融合至最后一个含抗原的嵌合多肽的C-末端的含抗原的嵌合多肽不包括可裂解序列,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,在包含融合至抗原肽N-末端的分泌信号肽和融合至抗原肽C-末端的可裂解肽的嵌合多肽中含有的抗原肽可在多顺反子核酸插入物中定向,使得含抗原的嵌合多肽的编码核酸位于含免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽的5'侧,例如((M)(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$)或者(M)(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽),其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,抗原肽包括其天然分泌信号肽。在替代肽中,分泌信号肽并非源自抗原,而源自不同的蛋白质、合成分泌信号或共有分泌信号肽。在一些实施方案中,抗原肽选自SEQ ID NO.349-394。

[0044] 在一些实施方案中,由rMVA中的多顺反子核酸插入物编码的抗原肽包含在嵌合多肽中,其包括融合至抗原肽的N-末端的病毒糖蛋白信号序列和融合至抗原肽的C-末端的病毒糖蛋白跨膜结构域,并且rMVA进一步被构建为编码病毒基质蛋白,其中在含抗原的嵌合肽被翻译裂解时,病毒基质蛋白和抗原-病毒糖蛋白嵌合多肽能够形成非感染性病毒样颗粒(VLP)。在一些实施方案中,本文提供了包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物的rMVA病毒载体,其中多肽包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸(参见,例如,图5A和5B)。在一些实施方案中,抗原肽包含在含有融合至抗原肽N-末端的病毒糖蛋白信号序列和融合至抗原肽C-末端的病毒糖蛋白跨膜结构域,以及融合至

病毒糖蛋白跨膜结构域C-末端的可裂解肽的嵌合多肽中,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_x$),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,融合至最后一个含抗原的嵌合多肽的C-末端的含抗原的嵌合多肽不包括可裂解序列,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$,其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,可在多顺反子核酸插入物中定向,使得含抗原嵌合多肽的编码核酸位于含免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽的5'侧,例如((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$),或可选地((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在又一个实施方案中,rMVA的多顺反子核酸插入物进一步编码病毒基质蛋白,例如,((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)(病毒基质蛋白)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸(参见,例如,图6A和6B)。在替代实施方案中,含抗原的嵌合多肽和病毒基质蛋白的编码序列以一个或多个拷贝包含在多顺反子核酸中,例如,((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,最C-末端的病毒基质蛋白缺乏可裂解肽,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_x$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$),其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸,可以在多顺反子核酸插入物中定向,使得该序列位于含免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽的5'侧,例如((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$)或者可选地((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,来自抗原的天然分泌信号被病毒糖蛋白信号肽替代。在一些实施方案中,抗原肽选自SEQ ID NO:349-394。

[0045] 含靶抗原的病毒样颗粒的产生特别适合用于对于包膜病毒的疫苗策略,因为其能够诱导强烈且持久的体液和细胞免疫应答。参见,例如,Salvato等人,A Single Dose of Modified Vaccinia Ankara Expressing Lassa Virus-like Particles Protects Mice from Lethal Intracerebral Virus Challenge.Pathogens(2019)8:133。用于产生含抗原VLP的合适糖蛋白和基质蛋白包括但不限于源自以下的那些:丝状病毒科,例如马尔堡病

毒、埃博拉病毒或苏丹病毒;逆转录病毒科,例如人免疫缺陷病毒1型(HIV-1);沙粒病毒科,例如拉沙病毒;黄病毒科,例如登革病毒和寨卡病毒。在具体实施方案中,糖蛋白和基质蛋白源自马尔堡病毒(MARV)。在具体实施方案中,糖蛋白源自MARV GP蛋白(Genebank登记号AFV31202.1)。MARV GP蛋白的氨基酸序列如下表10中的SEQ ID NO:395提供。在具体实施方案中,MARV GPS结构域包含糖蛋白的氨基酸2至19(WTTCFFISLILIQGIKTL)(SEQ ID NO:396,其可由例如SEQ ID NO:397的MVA优化的核酸序列编码),GPTM结构域包含糖蛋白的氨基酸序列644-673(WWTSDWGVLTNLGILLLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG)(SEQ ID NO:398,其可由例如SEQ ID NO:398的MVA优化的核酸序列编码)。在一些实施方案中,MARV GPS信号进一步包含甲硫氨酸作为第一氨基酸。

[0046] MARV VP40氨基酸序列可在Genebank登记号JX458834获得,并在下表10中作为SEQ ID NO:400提供,或与其70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上相同的核酸序列。在一些实施方案中,MARV VP40信号进一步包含甲硫氨酸作为第一氨基酸。

[0047] 在一些实施方案中,由rMVA中的多顺反子核酸插入物编码的rMVA抗原肽包含在嵌合多肽中,该嵌合多肽包括融合至抗原肽的N-末端的病毒糖蛋白信号序列和融合至抗原肽的C-末端的病毒糖蛋白跨膜结构域,并且rMVA被进一步构建为编码病毒基质蛋白,其中在含抗原的嵌合肽的翻译裂解时,病毒基质蛋白和抗原-病毒糖蛋白嵌合多肽能够形成非感染性病毒样颗粒(VLP)。

[0048] 在替代实施方案中,本发明的rMVA病毒载体除了能够表达多种免疫检查点抑制肽之外,被进一步构建为编码和表达一种或多种抗原肽,其中一种或多种抗原肽在一个或多个单独的核酸插入物上编码。

[0049] 在一些方面,本文提供了一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含一种或多种编码一种或多种嵌合多肽的异源核酸插入物,每个嵌合多肽包含((M)(免疫检查点抑制剂肽)$_x$),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸,其中异源核酸插入物处于牛痘病毒启动子的控制下。在具体方面,本文提供了一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含一种或多种编码一种或多种嵌合多肽的异源核酸插入物,每个嵌合多肽包含((M)(免疫检查点抑制剂肽)$_x$),其中x=1-10,免疫检查点抑制剂包含SEQ ID NO:1,并且M为甲硫氨酸,其中异源核酸插入物处于牛痘病毒启动子的控制下。在具体方面,本文提供了一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含一种或多种编码一种或多种嵌合多肽的异源核酸插入物,每个嵌合多肽包含((M)(免疫检查点抑制剂肽)$_x$),其中x=1-10,免疫检查点抑制剂包含SEQ ID NO:5,并且M为甲硫氨酸,其中异源核酸插入物处于牛痘病毒启动子的控制下。

[0050] 在一些方面,本文提供了一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含i)编码嵌合氨基酸序列的第一核酸序列,该嵌合氨基酸序列包含(a)MUC-1的胞外片段、(b)马尔堡病毒(MARV)的糖蛋白(GP)的跨膜结构域,和(c)MUC-1的胞内片段;ii)编码MARV VP40基质蛋白的第二核酸序列;iii)编码一种或多种免疫检查点抑制剂肽的第三核酸序列;并且其中第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列处于牛痘病毒启动子的控制下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起以形成病毒样颗粒(VLP)。在具体方面,本文提供了一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含i)第一核酸序列,该序列包含SEQ ID NO:402的核酸序列;ii)第二核酸序列,该序列包含SEQ ID NO:

404的核酸序列;iii)第三核酸序列,其编码一种或多种免疫检查点抑制剂肽;并且其中第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列处于牛痘病毒启动子的控制下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起以形成病毒样颗粒(VLP)。在具体方面,本文提供了一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含i)第一核酸序列,其编码包含SEQ ID NO:403的嵌合氨基酸序列;ii)第二核酸序列,其编码包含SEQ ID NO:405的氨基酸序列的MARV VP40基质蛋白;iii)第三核酸序列,其编码一种或多种免疫检查点抑制剂肽;并且其中第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列处于牛痘病毒启动子的控制下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起以形成病毒样颗粒(VLP)。

[0051] 在一个实施方案中,第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列被插入至MVA的一个或多个缺失位点中,其选自I、II、III、IV、V或VI。

[0052] 在另一个实施方案中,第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列被插入至MVA中的天然缺失位点、修饰的天然缺失位点或者必需或非必需的MVA基因之间。

[0053] 在另一个实施方案中,第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列被插入至相同的天然缺失位点、修饰的天然缺失位点或者相同的必需或非必需MVA基因之间。

[0054] 在另一个实施方案中,第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列被插入至不同的天然缺失位点、不同的修饰的缺失位点或者不同的必需或非必需MVA基因之间。

[0055] 在另一个实施方案中,其中第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列被插入至两个必需且高度保守的MVA基因之间;并且基质蛋白序列被插入至改组和修饰的缺失III中。

[0056] 在另一个实施方案中,其中第一核酸序列被插入在MVA基因I8R和GIL之间,第二核酸序列被插入在改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间,并且第三核酸序列被插入在两个必需的MVA基因A5R和A6L之间。

[0057] 在另一个实施方案中,其中牛痘病毒启动子为选自SEQ ID NO:128-308的核酸序列。

[0058] 在另一个实施方案中,其中牛痘病毒启动子为SEQ ID NO:130或与其95%相同的核酸序列。

[0059] 在一些实施方案中,MUC-1核酸序列作为SEQ ID NO:403,或与其70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上相同的核酸序列提供。在一些实施方案中,马尔堡VP40核酸序列作为SEQ ID NO:404,或与其70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上相同的核酸序列提供。在一些实施方案中,5xLD01核酸序列作为SEQ ID NO:408,或与其70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上相同的核酸序列提供。在一些实施方案中,5xLD10核酸序列作为SEQ ID NO:409,或与其70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上相同的核酸序列提供。

[0060] 本文还提供了穿梭载体,其包含如本文所述待插入至MVA中的多顺反子核酸序列,以及包含本文所述多顺反子核酸序列插入物的分离的核酸序列。本文进一步提供了包含本文所述rMVA病毒载体的细胞。

附图说明

[0061] 图1A提供了编码多种嵌合多肽的示例性重组MVA病毒载体多顺反子核酸插入物开

放阅读框(ORF)的示例性线性示意图,其中每个嵌合多肽包含分泌信号肽、与信号肽C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽。多顺反子核酸插入物可编码2至10个或更多个的嵌合多肽,并包括甲硫氨酸作为其第一氨基酸。

[0062] 图1B提供了包含编码多种嵌合多肽的多顺反子核酸插入物的示例性重组MVA病毒载体的示例性线性示意图,其中每个嵌合多肽包含分泌信号肽(SP)、与分泌信号肽的C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽(ICIP)和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽(裂解序列)。举例来说,能够启动MVA ORF转录的启动子(例如,mH5启动子(pmH5))可操作地连接至编码多种嵌合多肽的核酸。插入物可包括位于最5'侧嵌合多肽ORF的起始密码子之前的翻译起始序列,例如Kozak序列。举例来说,终止密码子位于最后一个嵌合多肽ORF的3'侧。

[0063] 图2A提供了编码多种嵌合多肽的示例性重组MVA病毒载体多顺反子核酸插入开放阅读框(ORF)的示例性线性示意图,其中除了缺乏可裂解肽的最C-末端嵌合多肽之外,所有嵌合多肽均包含分泌信号肽(SP)、与信号肽C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽和与免疫检查点抑制剂肽C-末端融合的可裂解肽。多顺反子核酸插入物可编码2至10个或更多个嵌合多肽,并且包括甲硫氨酸作为其第一氨基酸。

[0064] 图2B提供了包含编码多种嵌合多肽的多顺反子核酸插入物的示例性重组MVA病毒载体的示例性线性示意图,其中每个嵌合多肽包含分泌信号肽(SP)、与分泌信号肽的C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽(ICIP)和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽(裂解序列),除了缺乏可裂解肽的最C-末端的嵌合多肽之外。举例来说,能够启动MVA ORF转录的启动子(例如,mH5启动子(pmH5))可操作地连接至编码多种嵌合多肽的核酸。插入物可包括位于最5'侧嵌合多肽ORF的起始密码子之前的翻译起始序列,例如Kozak序列。举例来说,终止密码子存在于最后一个嵌合多肽ORF的3'侧。

[0065] 图3A、3B和3C提供了由本发明的多顺反子核酸插入物编码的各种表达的嵌合多肽的翻译加工的示例性示意图。在图3A中,嵌合多肽编码可裂解肽序列,例如弗林蛋白酶或弗林样裂解序列,其在多顺反子核酸转录物的翻译后被裂解。此外,在翻译期间或翻译后,与免疫检查点抑制剂肽融合的分泌信号肽也被裂解,并且所得单体免疫检查点抑制剂肽随后从细胞分泌。在图3B中,嵌合多肽编码可裂解肽序列,例如诱导核糖体跳跃的CHYSEL裂解序列,其中多蛋白经历共翻译裂解,从而导致翻译期间产生单体免疫检查点抑制剂肽。在翻译后或翻译期间,嵌合多肽经历分泌信号肽的进一步裂解,并且所得单体免疫检查点抑制剂肽随后从细胞分泌。在图3C中,嵌合多肽编码多种可裂解肽序列,例如弗林蛋白酶或弗林样裂解序列和CHYSEL序列,例如RAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:123)。在翻译期间,诱导CHYSEL序列C-末端的甘氨酸(G)和脯氨酸(P)氨基酸的的核糖体跳跃,其中多蛋白经历共翻译裂解,从而导致翻译期间产生单体免疫检查点抑制剂肽。单体免疫检查点抑制剂肽在翻译期间或翻译后经历进一步加工,其中分泌的信号肽被裂解。此外,翻译后,弗林蛋白酶或弗林样肽序列被裂解,从而产生仅包含弗林蛋白酶或弗林样裂解序列的精氨酸(R)和丙氨酸(A)残基的单体免疫检查点抑制剂肽,而降低了干扰免疫检查点抑制剂肽的可能性。

[0066] 图4A提供了编码多种嵌合多肽(包含分泌信号肽、与信号肽的C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽的串联重复),以及包

含与抗原肽融合的信号肽的嵌合多肽、与含有最C-末端免疫检查点抑制剂的嵌合肽融合的含抗原嵌合多肽的示例性重组MVA病毒载体多顺反子核酸插入开放阅读框架(ORF)的示例性线性示意图。多顺反子核酸插入物可编码1至10个或更多个含免疫检查点抑制剂的嵌合肽,并且包括甲硫氨酸作为其第一氨基酸。上述的这一相同的一般概念适用于本文提供的任何构建体,其包括可裂解序列。

[0067] 图4B提供了包含编码多种嵌合多肽(包含分泌信号肽(SP)、与信号肽的C-末端融合的免疫检查点抑制肽(ICIP)和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽(裂解序列)的串联重复),以及包含与抗原肽(抗原)融合的分泌信号肽(SP)的含抗原的嵌合多肽,与最C-末端含免疫检查点抑制剂的嵌合肽融合的含抗原嵌合多肽的多顺反子核酸插入物的示例性重组MVA病毒载体的示例性线性示意图。举例来说,能够启动MVA ORF转录的启动子(例如,mH5启动子(pmH5))可操作地连接至编码多种嵌合多肽的核酸。插入物可包括位于最5'侧嵌合多肽ORF的起始密码子之前的翻译起始序列,例如Kozak序列。举例来说,终止密码子存在于最后一个嵌合多肽ORF的3'侧。

[0068] 图5A提供了编码多种嵌合多肽(包含分泌信号肽、与信号肽的C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽,和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽的串联重复序列),以及包含与抗原肽融合的病毒糖蛋白信号肽的含抗原嵌合多肽的示例性重组MVA病毒载体多顺反子核酸插入开放阅读框架(ORF)的示例性线性示意图,抗原肽与病毒糖蛋白的跨膜结构域融合,其中含抗原的嵌合多肽与最C-末端含免疫检查点抑制剂的嵌合肽融合。多顺反子核酸插入物可编码1至10个或更多个含免疫检查点抑制剂有的嵌合多肽,并且包括甲硫氨酸作为其第一氨基酸。

[0069] 图5B提供了包含编码以下的多顺反子核酸插入物的示例性重组MVA病毒载体的示例性线性示意图:包含分泌信号肽(SP)、与信号肽C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽(ICIP)和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽(裂解序列)的串联重复的多种嵌合多肽,以及包含与抗原肽(抗原)融合的病毒糖蛋白信号肽(GPSP)的含抗原的嵌合多肽,该抗原肽与病毒糖蛋白跨膜结构域(GPTM)的跨膜结构域融合,并与最C-末端含免疫检查点抑制剂的嵌合肽融合。举例来说,能够启动MVA ORF转录的启动子(例如,mH5启动子(pmH5))可操作地连接至编码多种嵌合多肽的多顺反子核酸。插入物可包括位于最5'侧嵌合多肽ORF的起始密码子之前的翻译起始序列,例如Kozak序列。举例来说,终止密码子存在于最后一个多肽ORF的3'侧。

[0070] 图6A提供了示例性重组MVA病毒载体多顺反子核酸插入开放阅读框架(ORF)的示例性线性示意图,其编码包含分泌信号肽、与信号肽的C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽的串联重复的多种嵌合多肽,以及包含与抗原肽融合的病毒糖蛋白信号肽的含抗原嵌合多肽,该抗原肽与病毒糖蛋白的跨膜结构域融合并进一步与可裂解肽融合,其中含抗原的嵌合多肽与最C-末端含免疫检查点抑制剂的嵌合肽融合,并进一步包含病毒基质蛋白,其中病毒基质蛋白与含抗原的嵌合多肽的可裂解肽的C-末端融合。多顺反子核酸插入物可编码1至10个或更多个含免疫检查点抑制剂的嵌合多肽,并且包括甲硫氨酸作为其第一氨基酸。

[0071] 图6B提供了包含编码以下的多顺反子核酸插入物的示例性重组MVA病毒载体的示例性线性示意图:包含分泌信号肽(SP)、与信号肽的C-末端融合的免疫检查点抑制剂肽

(ICIP)和与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的可裂解肽(裂解序列)的多种嵌合多肽,以及包含与抗原肽(抗原)融合的病毒糖蛋白信号肽(GPSP)的含抗原嵌合多肽,该抗原肽与融合至与可裂解肽融合的病毒糖蛋白跨膜结构域(GPTM)的跨膜结构域融合,其中含抗原的嵌合多肽与最C-末端含免疫检查点抑制剂的嵌合肽融合,并且进一步包含病毒基质蛋白,其中病毒基质蛋白与含抗原的嵌合多肽的可裂解肽的C-末端融合。举例来说,能够启动MVA ORF转录的启动子(例如,mH5启动子(pmH5))可操作地连接至编码多种嵌合多肽的多顺反子核酸。插入物可包括位于最5'侧嵌合多肽ORF的起始密码子之前的翻译起始序列,例如Kozak序列。举例来说,终止密码子存在于病毒基质蛋白ORF的3'侧。

[0072] 图7是MVA-5X.LD01和MVA-5X.LD10载体的示意图,其说明在MVA特异性启动子控制下插入至MVA基因组中两个必需基因之间的的肽序列的设计。LD01和LD10序列前面是用于分泌的信号序列途径肽,之后是用于分离重复肽的裂解位点。分泌信号、肽序列和裂解位点重复5次,然后以终止密码子终止转录。

[0073] 图8显示了MVA感染细胞产生LD01和LD10。(图8A)DF-1细胞用MVA-5X.LD01、MVA-5X.LD10或亲本MVA感染。感染后两天,将细胞固定、渗透并用LD01和LD10特异性抗体染色。结果显示,肽进行细胞内检测。如所示的,LD01-和LD10-阳性细胞被染色。光学显微照片以20倍放大显示。(图8B)DF-1细胞用MVA-5X.LD01、MVA-5X.LD10或亲本MVA感染。感染两天后,收集上清液,浓缩并与化学合成肽(LD01)一起点在膜上,并用LD01和LD10特异性抗体进行探测。结果表明,这些肽从受感染的细胞分泌。

[0074] 图9显示了通过病毒载体递送LD01或LD10增强了疫苗诱导的抗原特异性$CD8^+$T细胞的扩增。(图9A和9B)。在AdPyCS免疫后第12天,在用H-2kd限制性CD8表位SYVPSAEQI(SEQ ID NO:406)刺激后,通过使用ELISpot测定(图9A)和流式细胞术(图9B)测量脾PyCS特异性、IFN-γ分泌$CD8^+$T细胞的数量来评估免疫原性。疫苗接种后立即皮下注射给予100μg剂量的LD01或LD10da。对于病毒载体,在疫苗接种后SC注射10^7 $TCID_{50}$的MVA-5X.LD01、MVA-5X.LD10或亲本MVA。数据以平均值±SEM表示。显示了来自两个独立实验之一的数据。使用双尾未配对t-检验确定单独AdPyCS和治疗小鼠之间的显著差异,并用**(p<0.001)、***(p<0.0005)和****p<0.0001表示。对于图9A,x轴为单独AdPyCS和处理的小鼠,和y轴为以计数测量的每$1x10^6$个脾细胞的IFN-γ斑点数。对于图9B,x轴为单独AdPyCS和处理的小鼠,y轴为以百分比测量的总CB8 T细胞内的IFN-γCB8 T细胞数量。

[0075] 图10显示了从MVA-VLP-MUC-1-LD10病毒感染的DF-1细胞DNA样品扩增的LD10、MUC-1和VP40插入物的PCR凝胶。用亲本MVA(阴性对照)、携带LD10、MUC-1或VP40插入物的质粒(阳性对照)或者MVA-VLP-MUC-1-LD10重组病毒的感染的DF1细胞收获用于病毒DNA。PC'R分析确认了插入物完整性。

[0076] 图11显示了从感染MVA-VLP-MUC-1-LD10病毒的DF-1细胞收集的LD10、MUC-1和VP40插入物尺寸的预期PCR片段大小。预期的片段大小与PCR凝胶的条带尺寸相匹配。

[0077] 图12显示了重组MUC-1蛋白在感染MVA-VLP-MUC-1-LD10的DF-1细胞中的表达。DF1细胞用亲本修饰的安卡拉牛痘(pMVA)或编码VLP-MUC-1-LD10的MVA感染。未感染的细胞作为阴性对照包括。收集细胞裂解物和上清液的蛋白质,并通过免疫印迹进行分析。膜用MUC-1抗体(小鼠单克隆VU4H5,Santa Cruz#sc-7313,1:200)探测,在

[0078] MVS-VLP-MUC-1-LD10裂解物样品中标记约63kDa的蛋白质条带。

[0079] 图13显示了重组VP40蛋白在感染MVA-VLP-MUC-1-LD10的DF-1细胞中的表达。DF1细胞用亲本修饰的安卡拉牛痘(pMVA)或编码VLP-MUC-1-LD10的MVA感染。未感染的细胞作为阴性对照包括。收集细胞裂解物和上清液的蛋白质,并通过免疫印迹进行分析。膜使用VP40抗体探测,在MVS-VLP-MUC-1-LD10上清液和裂解物样品中标记约32kDa的蛋白质条带。

[0080] 图14显示了重组LD10蛋白在感染MVA-VLP-MUC-1-LD10的DF-1细胞中的表达。DF1细胞用亲本修饰的安卡拉牛痘(pMVA)或编码VLP-MUC-1-LD10的MVA转染。未感染的细胞作为阴性对照包括。收集细胞裂解物的蛋白质,并使用斑点印迹装置施加到硝酸纤维素膜上。还将二十微克LD10肽也作为LD10抗体的阳性对照加载到膜上。使用LD10抗体探测膜,显示了在MVA-VLP-MUC-1-LD10和LD10肽样品中的信号。

[0081] 图15显示了用不同量的重组MVA-VLP-MUC-1-LD10病毒感染DF-1细胞后,MUC-1阳性斑块的百分比。DF1细胞在6孔板中的3个孔中被感染,每个孔有30个噬斑形成单位(PFU)和60PFU的MVA-VLP-MUC-1-LD10病毒。使用MUC-1抗体对所有孔进行探测,并计数MUC-1阳性斑的数量。然后,在再次用MVA抗体探测之前对孔进行清洗,并计数MVA阳性斑的数量。为了计算疫苗的纯度,显示了MUC-1阳性斑的百分比与MVA阳性斑的数量。图的底部显示了每个单独重复的阳性斑的数量。

[0082] 图16显示了用不同量的重组MVA-VLP-MUC-1-LD10病毒感染DF-1细胞后,VP40阳性斑的百分比。DF1细胞在6孔板中的3个孔中被感染,每个孔有30噬斑形成单位(PFU)和60PFU的MVA-VLP-MUC-1-LD10病毒。用MUC-1抗体探测所有孔,并计数VP40阳性斑的数量。然后,在再次用MVA抗体探测之前对孔进行清洗,并计数MVA阳性斑的数量。为了计算疫苗的纯度,显示了VP40阳性斑的百分比与MVA阳性斑的数量。图的底部显示了每个单独重复的阳性斑的数量。

具体实施方案

[0083] 定义

[0084] 当术语以单数形式提供时,发明人还考虑了由该术语的复数形式描述的本发明的各个方面。本说明书和所附权利要求书中使用的单数形式“一”、“一种”和“该”包括复数引用,除非上下文另有明确说明,例如,“一种肽”或“嵌合多肽”包括多种肽或嵌合多肽。因此,例如,提及“一种方法”包括一种或多种方法和/或本文所述类型的步骤,和/或本领域技术人员在阅读本公开后将变得显而易见的方法和/或步骤。

[0085] 本文中使用的术语“佐剂”意指如本文所述的rMVA增强一种或多种抗原的免疫原性的用途。

[0086] 术语“抗原”是指能够诱导免疫应答的物质或分子,例如,蛋白质或其片段,例如肽。

[0087] 本文中使用的“嵌合”或“融合”指示非天然存在的肽或蛋白质的共价接合,从而产生杂合多肽。本文所述的嵌合或融合多肽的翻译提供了源自每个相应融合肽或蛋白质的功能特性。

[0088] 本文中使用的“编码序列”或“编码核酸”或“编码核酸序列”等意指包含编码氨基酸序列,例如多蛋白、多肽、蛋白质、肽或其片段的核苷酸序列的核酸(RNA或DNA分子)。编码序列可进一步包括可操作地连接至调控元件的起始和终止信号,其包括能够指导核酸所施

用的人或哺乳动物细胞中的表达的启动子和聚腺苷酸化信号。

[0089] 术语“保守性氨基酸置换”是指用非天然残基取代天然氨基酸残基,使得该位置的氨基酸残基的大小、极性、电荷、疏水性或亲水性影响很小或没有影响,并且不会导致免疫原性的显著改变。例如,这些可以是以下组中的置换:缬氨酸;甘氨酸、丙氨酸;缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸;天冬氨酸、谷氨酸;天冬酰胺、谷氨酰胺;丝氨酸、苏氨酸;赖氨酸、精氨酸;和苯丙氨酸、酪氨酸。对多肽序列的保守性氨基酸修饰(以及对编码核苷酸的相应修饰)可能产生具有与亲本多肽类似的功能和化学特征的多肽。

[0090] 在多肽或蛋白质的上下文中,术语“缺失”是指从多肽或蛋白质序列中去除一个或多个氨基酸残基的密码子,其中任一侧的区域接合在一起。在核酸的上下文中,术语缺失是指从核酸序列中去除一个或多个碱基,其中任一侧的区域接合在一起。

[0091] 在蛋白剂的上下文中,术语“片段”是指包含肽、多肽或蛋白质的氨基酸序列的至少2个连续氨基酸残基、至少5个连续氨基酸残基、至少10个连续氨基酸残基、至少15个连续氨基酸残基、至少20个连续氨基酸残基、至少25个连续氨基酸残基、至少40个连续氨基酸残基、至少50个连续氨基酸残基,至少60个连续的氨基酸残基、至少70个连续的氨基酸残基、至少80个连续的氨基酸残基、至少90个连续的氨基酸残基、至少100个连续的氨基酸残基、至少125个连续的氨基酸残基、至少150个连续的氨基酸残基、至少175个连续的氨基酸残基、至少200个连续的氨基酸残基或至少250个连续的氨基酸残基的肽或多肽。在一个实施方案中,片段构成参考多肽全长的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一个实施方案中,全长蛋白质的片段保留了全长蛋白质的活性。在另一个实施方案中,全长蛋白质的片段不保留全长蛋白质的活性。

[0092] 在核酸的上下文中,术语“片段”是指包含编码肽、多肽或蛋白质的核酸序列的至少2个连续核苷酸、至少5个连续核苷酸、至少10个连续核苷酸、至少15个连续核苷酸、至少20个连续核苷酸、至少25个连续核苷酸、至少30个连续核苷酸、至少35个连续核苷酸、至少40个连续核苷酸、至少50个连续核苷酸、至少60个连续核苷酸、至少70个连续核苷酸、至少80个连续核苷酸、至少90个连续的核苷酸、至少100个连续的核苷酸、至少125个连续的核苷酸、至少150个连续的核苷酸、至少175个连续的核苷酸、至少200个连续的核苷酸、至少250个连续的核苷酸、至少300个连续的核苷酸、至少350个连续的核苷酸或至少380个连续核苷酸的核酸序列的核酸序列。在一个实施方案中,片段构成参考核酸序列全长的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一个优选的实施方案中,核酸片段编码保留全长蛋白活性的肽或多肽。在另一个实施方案中,片段编码全长蛋白质的肽或多肽,但不保留全长蛋白质的活性。

[0093] 本文使用的短语“异源序列”是指在自然界中通常不与另一目标核酸或蛋白质、多肽或肽序列相关的任何核酸、蛋白质、多肽或肽序列。

[0094] 本文使用的短语“异源核酸插入物”是指已经或将要插入至本文所述重组载体中的任何核酸序列。异源核酸插入物可仅指基因产物编码序列,或可以是指包含启动子、基因产物编码序列(例如分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽嵌合多肽)和与其相关或可操作连接的任何调控序列的序列。

[0095] 术语“同聚物链段”是指包含不被任何其他核苷酸中断的相同核苷酸中的至少四个的序列,例如,GGGG或TTTTTT。

[0096] 当在核酸序列的上下文中使用时,术语“百分相同”、“百分同源性”或“百分相似性”等是指被比较的两个序列中在为了最大同一性进行比对时相同的残基。序列同一性比较的长度可以在序列的全长上,或者可选地至少约50至2500个核苷酸的片段。类似地,术语“百分相同”、“百分同源性”或“百分相似性”可以容易地在蛋白质全长或其片段上对于氨基酸序列确定。合适地,片段的长度为至少约8个氨基酸,并且可以至多约7500个氨基酸。本文描述了合适的片段的实例。通常,“同一性”、“同源性”或“相似性”是参照“比对的”序列来确定的。“比对的”序列或“比对”是指多个核酸序列或蛋白质(氨基酸)序列,其通常包含与参考序列相比缺失或附加的碱基或氨基酸的校正。可以使用多种公开的或市售的多序列比对程序中的任一种来进行比对。此类程序的示例包括“Clustal Omega”、“Clustal W”、“CAPCAP序列组装”、“MAP”和“MEME”,其可通过互联网上的网络服务器访问。此类程序的其他来源为本领域技术人员已知。可替代地,还可使用Vector NTI实用程序。现有技术中也有许多已知可用于测量核苷酸序列同一性的算法,包括上述程序中含有的那些。作为另一个实例,可以使用Fasta™(GCG版本6.1中的程序)比较多核苷酸序列。Fasta™提供了查询和搜索序列之间最佳重叠的区域的比对和百分序列同一性。例如,核酸序列之间的百分序列同一性可以使用Fasta™及其默认参数(字长6和用于评分矩阵的NOPAM因子)来确定,如GCG版本6.1中所提供的,通过引入并入本文。多种序列比对程序也可用于氨基酸序列,例如,“Clustal Omega”、“Clustal X”、“MAP”、“PIMA”、“MSA”、“BLOCKMAKER”、“MEME”和“Match-Box”程序。通常,尽管本领域技术人员可以根据需要更改这些设置,但通常这些程序中的任何一个在默认设置下使用。可替代地,本领域技术人员可以利用另一种算法或计算机程序,其提供了至少由引用的算法和程序提供的同一性或比对的水平。参见,例如,J.D.Thomson等人,Nucl.Acids.Res.,“Acomprehensive comparison of multiple sequence alignments”,27(13):2682-2690(1999)。

[0097] 术语“诱导免疫应答”意指对于在已施用rMVA的受试者中针对由rMVA表达的一种或多种抗原蛋白或其片段引发体液反应(例如,产生抗体)或细胞反应(例如,激活T细胞),或体液和细胞反应两者。

[0098] 术语“修饰的安卡拉牛痘(vaccinia Ankara)”、“修饰的安卡拉痘苗(vaccinia ankara)”、“修饰的痘苗安卡拉株(Vaccinia Ankara)”或“MVA”通常是指由Anton Mayr博士通过在鸡胚成纤维细胞上连续传代而开发的高度减毒的牛痘病毒株;或其变体或衍生物。Mayr,A.等人1975Infection 3:6-14对MVA进行了综述。MVA和各种变体的基因组序列在例如Genebank登记号AY603355、U94848,和DQ983238中描述。在一些实施方案中,如本文提供的MVA可通过合成衍生,例如通过化学合成的质粒,并在宿主细胞中重构为全长基因组MVA序列,例如,如US2018/0251736、US2021/0230560和WO2021/158565中所述,各自通过引用并入本文。

[0099] 本文中使用的“核酸”或“寡核苷酸”或“多核苷酸”意指至少两个共价连接在一起的核苷酸。单链的描述也定义了互补链的序列。因此,核酸还包含所描绘单链的互补链。核酸的许多变体可用于与给定核酸相同的目的。因此,核酸还涵盖基本相同的核酸及其互补物。单链提供了可在严格杂交条件下与靶序列杂交的探针。因此,核酸还涵盖在严格杂交条件下杂交的探针。

[0100] 核酸可以是单链或双链的,或者可以含有双链和单链序列两者的部分。核酸可以

是DNA(基因组和cDNA两者)、RNA或杂合体,其中核酸可以含有脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸的组合,以及碱基的组合,包括尿嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、鸟嘌呤、肌苷、黄嘌呤次黄嘌呤、异胞嘧啶和异鸟嘌呤。核酸可以通过化学合成方法或通过重组方法获得。

[0101] 本文使用的"可操作地连接"意指基因的表达处于与其空间连接的启动子的控制之下。启动子可以位于其控制之下的基因的5'(上游)或3'(下游)。启动子和基因之间的距离可以与该启动子和该启动子所来源的基因中它所控制的基因之间的距离大致相同。如本领域已知,可以在不丧失启动子功能的情况下适应该距离的变化。

[0102] 本文中使用的"肽"、"蛋白质"、"多肽"或"多蛋白"可以意指氨基酸的连接序列,并且可以是天然的、合成的或天然的和合成的修饰或组合。

[0103] 本文中使用的"启动子"意指能够赋予、激活或增强细胞中的核酸转录的合成或天然衍生的分子。启动子可以包含一种或多种特异性转录调控序列,以进一步增强表达和/或改变其空间表达和/或时间表达。启动子还可包含远端增强子或阻遏子元件,其可位于距转录起始位点多达数千个碱基对的位置。

[0104] 术语"预防(prevent)"、"防止(preventing)"和"阻止(prevention)"是指抑制病况(例如,感染)的发展或发作,或预防由施用疗法或施用联合疗法而导致的受试者中病况的一种或多种症状的复发、发作或发展。

[0105] 术语"预防有效量"是指足以导致预防病况或其症状(例如,病毒感染)或与之相关的症状的发展、复发或发作或足以增强或改善另一种疗法的一种或多种预防效果的组合物(例如,本文所述的靶抗原组合物和/或rMVA)的量。

[0106] 术语"重组",关于病毒载体,意指已在体外操作,例如使用重组核酸技术,以表达异源病毒核酸序列的载体(例如,病毒基因组)。

[0107] 术语"调控序列"和"多种调控序列"是共同地指启动子序列、聚腺苷酸化信号、转录终止序列、上游调控结构域、复制起点、内部核糖体进入位点("IRES")、增强子等,其共同提供了编码序列的转录和翻译。只要所选基因能够被转录和翻译,并非所有这些控制序列都需要存在。

[0108] 术语"穿梭载体"是指可用于将遗传物质从一个宿主系统转移至另一个宿主系统中的遗传载体(例如,DNA质粒)。穿梭载体可以在至少一种宿主(例如,大肠杆菌)中单独复制(不存在任何其他载体)。在MVA载体构建的背景下,穿梭载体通常是可在大肠杆菌中操作的DNA质粒,然后其引入至用MVA载体感染的培养细胞,从而通过例如同源重组产生新的重组MVA载体。

[0109] 术语"沉默突变"意指核苷酸序列的变化,其不会引起由该核苷酸序列编码的蛋白质的一级结构的变化,例如从AAA(编码赖氨酸)变为AAG(也编码赖氨酸)。

[0110] 所治疗的"宿主"、"患者"或"受试者"通常为人患者,尽管应理解,本文所述方法对其他动物,例如哺乳动物有效。更具体地,术语"患者"可包括用于测定的动物,例如用于临床前检测的那些,其包括但不限于小鼠、大鼠、猴、狗、猪和兔;以及家养猪(家猪(pig)和阉猪(hog))、反刍动物、马、家禽、猫、牛、鼠、犬等。"处于风险"的那些受试者的确定可以通过受试者或医疗保健提供者的诊断测试或意见(例如,基因测试、酶或蛋白质标志物、标志物史等)进行任何客观或主观的测定来确定。

[0111] 术语"同义密码子"是指使用具有不同核酸序列的密码子来编码相同的氨基酸,例

如,AAA和AAG(两者均编码赖氨酸)。密码子优化将蛋白质的密码子改变为载体或宿主细胞最常用的同义密码子。

[0112] 术语“治疗有效量”意指在向受试者施用用于治疗或预防病症,例如,感染或癌症时,组合物(例如,抗原组合物和/或重组MVA载体或药物组合物)足以影响此类病症的治疗或预防的量。

[0113] 术语“治疗(treating)”或“处理(treat)”是指由施用一种或多种疗法导致的消除或控制病症,减轻或改善病症或由病症引起的一种或多种症状的进展、严重程度和/或持续时间。

[0114] 术语“疫苗”意指用于在向受试者施用物质后激发免疫应答并赋予免疫的物质。此类免疫可包括当受试者在施用疫苗后暴露于免疫原时发生的细胞或体液免疫应答。

[0115] 术语“病毒样颗粒”或“VLP”是指类似于病毒但不具有感染性的结构,因为其不含有病毒遗传物质。

[0116] 对于本文列举的数值范围,明确地考虑了两者之间具有相同精度的每个中间数字。例如,对于6-9的范围,除了6和9之外,还考虑数字7和8,并且对于6.0-7.0的范围,明确考虑了数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9和7.0。

[0117] 修饰的安卡拉牛痘(MVA)病毒载体

[0118] 尤其是修饰的安卡拉牛痘(MVA)已被用作针对传染病的安全和有效的病毒载体疫苗。MVA是通过在鸡胚成纤维细胞(CEF)中大量连续传代衍生的高度减毒的牛痘病毒株(Sutter G,Staib C.Vaccinia vectors as candidate vaccines:the development of modified vaccinia virus Ankara for antigen delivery.Current Drug Targets-Infectious Disorders.2003;3:263-71)。MVA的特征是其极大的减毒作用,如通过毒性减弱和在灵长目动物细胞中复制能力降低所证明的,同时维持良好免疫原性。MVA病毒已被分析以确定相对于亲本株绒毛尿囊牛痘病毒安卡拉(CVA)株的基因组变化。已鉴定基因组DNA的六个主要缺失(缺失I、II、III、IV、V和VI),共计31,000个碱基对(Meyer,H.等人1991J Gen Virol 72:1031-1038)。所得的MVA病毒是仅限于禽细胞的宿主细胞。因此,MVA疫苗可以在鸡细胞系中大规模生产。

[0119] 本文提供的病毒载体组合物包含牛痘病毒株修饰的牛痘安卡拉(MVA)。修饰的安卡拉牛痘(MVA)是由牛痘病毒(CVA)安卡拉株在鸡胚胎成纤维细胞上的长期连续传代产生(综述参见Mayr A,等人Abstammung,eigenschafter und verwendung des attenuierten vaccinia-stammes.Infection 3:6-14,1975;瑞士专利号568,392)。MVA病毒可从美国典型培养物保藏中心以ATCC号VR-1508公开获得。MVA的特征是其极大的减毒,如毒性减弱和在灵长目动物细胞中复制能力降低所证明的,同时维持良好免疫原性。MVA病毒已被分析以确定相对于亲本CVA株的基因组变化。已鉴定基因组DNA的六个主要缺失(缺失I、II、III、IV、V和VI),共计31,000个碱基对(Meyer,H.等人1991J Gen Virol72:1031-1038)。所得的MVA病毒是仅限于禽细胞的宿主细胞复制。

[0120] 在具体实施方案中,所使用的MVA是作为ATCC VR-1566可得的MVA,其是通过在Anton Mayr教授的实验室中在鸡胚成纤维细胞(CEF)中连续传代CVA(安卡拉)株而分离的病毒,然后将其提供给国家卫生研究院,其在此处在CEF细胞中进行了三次空斑纯化。VR-1566是通过对从NIH接收的母液在SL-29鸡胚成纤维细胞系[ATCC CRL-1590]中进行有限的

进一步传代而衍生的。

[0121] 在替代实施方案中,MVA源自具有如Genebank登记号AY603355、U94848和DQ983238所述的基因组序列的MVA。在一些实施方案中,如本文提供的MVA可以合成地衍生,例如,通过化学合成的质粒,并在宿主细胞中重构为全长基因组MVA序列,例如,如US2018/0251736、US2021/0230560和WO2021/158565中所述,各自通过引用并入本文。

[0122] 本发明的重组MVA(rMVA)病毒载体的构建可通过本领域已知的方法制备。例如,含有本文所述的异源多顺反子核酸序列的DNA-构建体的侧翼可以是与预定插入位点相邻的MVA DNA序列(例如,在两个保守的必需MVA基因如I8R/G1L之间(参见,例如,美国专利号9133478,以其整体通过引入并入本文);在改组和修饰的缺失III中(参见,例如,美国专利号9,133,480,以其整体通过引入并入本文);或在MVA基因组内的其他非必需位点)被引入MVA感染的细胞中,以允许同源重组。一旦将DNA-构建体引入真核细胞中,并且外源DNA与病毒DNA重组,有可能以本身已知的方式分离所需的rMVA,优选借助于标志物。待插入的DNA-构建体可以是线性的或环状的。优选的是质粒或聚合酶链式反应产物。此类制备重组MVA载体的方法描述于例如美国专利号9,133,478,通过引入并入本文。为了表达DNA序列或基因,多顺反子核酸序列转录所需的调控序列必须存在于DNA上。此类调控序列(称为启动子)为本领域技术人员已知的,并且包括例如下文进一步描述的那些。DNA-构建体可通过转染,例如通过磷酸钙沉淀引入至MVA感染的细胞中(Graham等人1973Virol 52:456-467;Wigler等人1979Cell 16:777-785)、通过电穿孔(Neumann等人1982EMBO J.1:841-845)、通过微注射(Graessmann等人1983Meth Enzymol 101:482-492)、通过脂质体(Straubinger等人1983Meth Enzymol 101:512-527)、通过原生质球(Schaffher 1980PNAS USA

[0123] 77:2163-2167)或通过本领域技术人员已知的其他方法。

[0124] 在一些实施方案中,如本文提供的rMVA可通过合成衍生,例如,通过化学合成的质粒,并在宿主细胞中重构为全长基因组MVA序列,例如,如US2018/0251736、US2021/0230560和WO2021/158565中所述,各自通过引入并入本文。

[0125] 如上所述,本发明的异源多顺反子核酸序列可以插入rMVA基因组序列中的任何合适位点。在一些实施方案中,将多顺反子核酸序列插入MVA载体的天然缺失位点、修饰的天然缺失位点或者必需或非必需的MVA基因之间。

[0126] 免疫检查点抑制剂肽

[0127] 本文提供了包含重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体的组合物,其在宿主例如人的免疫方案期间用作佐剂或疫苗,rMVA被构建为表达能够抑制一种或多种免疫检查点途径的高浓度肽(免疫检查点抑制剂肽)。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽由多顺反子核酸序列表达,其包含能够被加工成单体并从细胞中分泌以增强靶向的抗原的免疫原性的免疫检查点抑制剂的串联重复。在一些实施方案中,在疫苗接种方案期间,rMVA用作佐剂以增加一种或多种共同施用的抗原的免疫原性。在一些实施方案中,rMVA进一步编码一种或多种抗原肽,并用作佐剂化疫苗。通过表达能够下调一种或多种检查点抑制途径的局部的、大量的两种或更多种免疫检查点抑制剂肽,可以下调通常阻碍产生足够的抗原性以诱导免疫的免疫调控活性。

[0128] 在某些方面,免疫检查点抑制剂肽能够抑制由受体蛋白介导的免疫检查点途径的活性,该受体蛋白选自但不限于:程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)、程序性死亡配体1(PD-

L1)、程序性死亡配体2(PD-L2)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)、淋巴细胞-激活基因3(LAG-3)、T细胞免疫球蛋白和粘蛋白结构域-3(TIM-3)、T细胞激活的V结构域Ig抑制因子(VISTA)、B7同源蛋白(B7)、B7同源物3蛋白(B7-H3)、B7同源物4蛋白(B7-H4)、B7同源物5蛋白(B7-H5)、OX-40(OX-40)、OX-40配体(OX-40L)、糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)、CD137、CD40、B和T淋巴细胞衰减因子(BTLA)、疱疹病毒进入介体(HVEM)、半乳凝集素-9(GAL9)、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)、自然杀伤细胞受体2B4(2B4)、CD160、检查点激酶1(CHK1)、检查点激酶2(CHK2)、腺苷A2a受体(A2aR)、具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体(TIGIT)、诱导型T细胞共刺激因子(ICOS)、诱导型T细胞共刺激因子配体(ICOS-L)或其组合。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-1。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-L1。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制CTLA-4。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-1、PD-L1或CTLA-4或其组合。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽能够抑制PD-1和CTLA-4两者。

[0129] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂是能够抑制PD-1、PD-L1、CTLA4、LAG-3、TIM3、OX40或其组合的抑制剂。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂能够抑制PD-1和CTLA4。

[0130] 在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自表1中公开的肽序列或其片段、同源物或衍生物。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自SEQ ID NO:1-56的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽选自SEQ ID NO:1-15的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:1的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:2的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:3的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:4的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:5的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:6的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:7的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:8的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:9的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:10的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:11的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:12的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:13的肽序列,或具有与

其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:14的肽序列，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂肽具有SEQ ID No:15的肽序列，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中，免疫检查点抑制剂肽具有选自SEQ ID NO:16-56的肽序列，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的肽。

[0131] 表1-免疫检查点抑制剂肽

[0132]

SEQ ID NO:	肽识别号	肽序列
1	LD01	CRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
2	LD01r	RTSTGDITSLRVITA
3	LD01 TQ19	TSTGQISTLRVNITAPLSQ
4	LD04	STLRVNITAPLSQRYRVRIR
5	LD10	STGQISTLRVNITAPLSQ
6	LD10 R9A	STGQISTLAVNITAPLSQ
7	LD10 P15A	STGQISTLRVNITAALSQ
8	LD11	CHHTSTGQISTLRVNITAPLSQ
9	LD17m	STGQISTARVNITAPLSQ
10	LD40	QISTLRVNITA
11	QP20	QTRTVPMPKIHHPPWQNVVP
12	HD20	HHHQVYQVRSHWTGMHSGHD
13	WQ20	WNLPASFHNHHIRPHEHEWIQ
14	SQ20	SSYHHFKMPELHFGKNTFHQ
15	LD12	CRRTSTGQISTARVNITAPLSQ
16	C1	YSAYQCWCWRQQGTS
17	C2	YHQYSCWCWRPPGPY
18	C3	YASYHCWCWRDPGRS

[0133]

19	C4	TAYWNCWCWREKAGQ
20	C5	TYGYSCWCWRQHPWT
21	C6	STAYHCWCWREPYGN
22	C7	TTRYSCWCWRDDAYA
23	CLP001	HYPFRPHANQAS
24	CLP002	WHRSYYTWNLNT
25	CLP003	WHFSYNWRWLPP
26	CLP004	DYHDPSLPTLRK
27	人PD-L1抑制剂I	FNWDYSWKSERLKEAYDL
28	人PD-L1抑制剂II	FNWDYSLEELREKAKYK
29	人PD-L1抑制剂III	TEKDYRHGNIRMKLAYDL
30	人PD-L1抑制剂IV	GNWDYNSQRAQLYNQ
31	人PD-L1抑制剂V	LDYVNRRKMYQ
32	PPA-1	NYSKPTDRQYHF
33	PPA-2	KHAHHTHNLRLP
34	PPA-3	AAKMDGHLHGGQ
35	PPA-4	MRNRERYPKPYY
36	PPA-5	TYLQRPSTNLER
37	P1	SCFPNWSLRPMNQM
38	P2	MDEKAQKGPAKLVFFACEKG
39	TP	SCFPNWSLRPMNQM
40	AP	MDEKAQKGPAKLVFFACEKG

[0134]

41	PD6478	MLNWNRLSPSNQTEK
42	PL120131	GADYKRITVKVN
43	C17	CNMHTPMVC
44	C19	CNWMINKEC
45	C25	CVPMTYRAC
46	P29	ADFRVMADMSMY
47	P1309	SHTTTEHAKDKI
48	P26	GLIPLTTHMHIGK
49	P1310	TFLNSVPTYSYW
50	P1307	SHDTRSPFTWGR
51	P24	GSWNTFRAQPTI
52	P22	SFAGVHQFRPAP
53	P1303	ALWPSSSMSSTI
54	P1301	HDAFPRPHLFRN
55	P20	LTPHKHHKHLHA
56	GTX89379	C-KWYSHSKEKIQN

[0135] 表1的免疫检查点抑制剂先前已描述于例如美国专利号10,098,950、10,799,555和10,799,581,以及美国专利申请号2018/0071385、2018/0185474、2018/0200328和2018/0339044中的SEQ ID NO:1-15;Li等人,Peptide blocking of PD-1/PD-L1 Interaction for Cancer Immunotherapy,Cancer Immunol Res February 1 2018(6)(2)178-188中的SEQ ID NO:16-22。Liu等人,Discovery of low-molecular weight anti-PD-L1 peptides for cancer immunotherapy.J.Immunotherapy Cancer 7,270(2019)中的SEQ ID NO:23-26;Keir等人D-1 and its ligands in T-cell immunity.Curr Opin Immunol.2007;19(3):309-14和Li等人,Discovery of peptide inhibitors targeting human programmed death 1(PD-1)receptor.Oncotarget.2016;7(40):64967-64976中的SEQ ID NO:27-31;Wang等人,Journal of Medicinal Chemistry 2019 62(4),1715-1730中的SEQ ID NO:32-36;Xiao等人,ACS Appl.Mater.Interfaces 2020,12,36,40042-40051中的SEQ ID NO:37-40;Boohaker et al.,Rational design and development of a peptide inhibitor for the PD-1/PD-L1 interaction,Cancer Letters,2018,434,第11-21页中的SEQ ID NO:41-42;Zhai et al.,A novel cyclic peptide targeting LAG-3for cancer immunotherapy by activating antigen-specific CD8+T cell responses,Acta Pharmaceutica Sinica B,2020,10(6),第1047-1060页;2020年6月6日中的SEQ ID NO:43-45;Zhong等人,The biologically functional identification of a novel TIM3-binding peptide P26 in vitro and in vivo.Cancer Chemother Pharmacol.2020;86(6):783-792中的SEQ ID NO:

46-56。所有参考文献通过引入并入本文。

[0136] 分泌信号肽

[0137] 如本文所提供的,由rMVA表达的免疫检查点抑制剂肽由细胞分泌。在一些实施方案中,如果适用,可通过包括与免疫检查点抑制剂肽相关的天然分泌信号来实现分泌。在替代实施方案中,由rMVA表达的免疫检查点抑制剂肽对于宿主可以是异源的,或者可以不具有适当的分泌信号传导以确保从宿主细胞中分泌。因此,免疫检查点抑制剂肽的分泌可以通过表达包含与免疫检查点抑制剂肽融合的分泌信号肽的嵌合多肽来实现。

[0138] 在包含分泌信号肽和免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽的翻译期间,信号肽在从核糖体中出现时被识别;其被信号识别颗粒(SRP)结合并且翻译停止。这种整体复合物被转运至内质网(ER)的外表面,其中其与SRP受体结合,且信号序列被转移至易位子(translocon)。当与易位子结合时,翻译被重新启动,并且蛋白质穿过ER膜和进入内腔中。在此过程进行中,信号肽被信号肽酶识别,并被裂解以产生免疫检查点抑制剂肽,其通过高尔基体网络运输,然后通过经典的分泌途径从细胞分泌。

[0139] 适用于本发明的分泌信号可以是天然产生的分泌信号、共有分泌信号(参见,例如,US20100305002,通过引入并入本文)或合成的分泌信号。

[0140] 在一些实施方案中,分泌信号选自表2的肽序列或其同源物、衍生物或片段。在一些实施方案中,分泌信号具有选自SEQ ID NO:57-90的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的或肽。

[0141] 在一些实施方案中,分泌信号源自人组织纤维蛋白溶酶原激活物(tPA)分泌信号或其同源物、衍生物或片段。在一些实施方案中,分泌信号肽具有SEQ ID NO:65的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,分泌信号肽具有SEQ ID NO:66的肽序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。已经发现,tPA分泌信号是特别适合用于本发明的分泌信号,因为其进一步增强了免疫检查点抑制剂肽的表达。

[0142] 表2-分泌信号肽

[0143]

SEQ ID NO:	分泌信号	肽序列
57	人OSM	GVLLTQRTLLSLVLALLFPSMASM
58	VSV-G	KCLLYLAFLFIGVNC
59	小鼠 Ig κ	ETDTLLLWVLLLWVPGSTGD
60	人IgG2 H	GWSCIILFLVATATGVHS
61	BM40	RAWIFFLLCLAGRALA
62	Secrecon	WWRLWWLLLLLLLLWPMVWA
63	人IgK VIII	DMRVPAQLLGLLLLWLRGARC
64	CD33	PLLLLLPLLWAGALA
65	组织纤溶酶原激活物(tPA)	DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPS
66	组织纤溶酶原激活物(tPA)	DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIH ARFRRGAR
67	人糜蛋白酶原	AFLWLLSCWALLGTTFG
68	人胰蛋白酶原-2	NLLLILTFVAAAVA
69	人IL-2	YRMQLLSCIALSLALVTNS
70	Gaussia荧光素酶	GVKVLFALICIAVAEA
71	白蛋白(HSA)	KWVTFISLLFSSAYS
72	流感血凝素	KTIIALSYIFCLVLG
73	人胰岛素	ALWMRLLPLLALLALWGPDPAAA
74	蚕丝心蛋白 LC	KPIFLVLL
75	碱性磷酸酶	LGPCMLLLLLLGLRLQLSLG
76	Secron 2	RPTWAWWLFLVLLLALWAPARG
77	人胱抑素	AGPLRAPLLLLAILAVALAVSPAAGSS
78	乳转铁蛋白	HKLVFLVLLFLGALGLCLA

[0144]

79	促红细胞生成素	GVHECPAWLWLLLSLLSLPLGLPVLG
80	人a-1- 抗胰凝乳蛋白酶	ERMLPLLALGLLAAGFCPAVLC
81	TNF受体超家族 成员6亚型4	HLGIWTLLPLVLTSVA
82	人催乳素	NIKGSPWKGSLLLLLVSNLLLCQSVAP
83	骨桥蛋白	RLAVVCLCLFGLASC
84	ATC	GRMLPLLALLLLAAGFCPAVLA
85	共有	RSLSVLALLLLLLLAPASAA
86	共有	KSLSALVLLLLLLLLPGALAA
87	共有	RGAALVLLLLLLLLLALALAAPVP
88	共有	RGAALVLLLLLLLLLAGVLAAP
89	共有	RGAALVLLLLLLLLLSPALA
90	共有	RSLSVLALLLLLLLAPASAA

[0145] 在一些实施方案中,由多顺反子核酸插入物编码的第一多肽的分泌信号肽进一步包含起始氨基酸甲硫氨酸(M)。

[0146] 可裂解序列

[0147] 除了每个免疫检查点抑制剂肽的N-末端上的分泌信号肽之外,该多肽还可以包括与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的自裂解肽。通过提供与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的自裂解肽序列,多种免疫检查点抑制剂肽可在翻译期间或翻译后被裂解成多个单体。合适的裂解序列是本领域已知的(参见,例如,Donnelly等人,Analysis of the aphthovirus 2A/2B polyprotein'cleavage'mechanismindicates not a proteolytic reaction,but a novel translational effect:a putative ribosomal'skip'.J.Gen.Virol.82,1013-1025(2001),以其整体通过引用并入本文)。

[0148] 在一些实施方案中,一种或多种免疫检查点抑制剂嵌合多肽包括一种或多种与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的肽序列,其能够在多顺反子核酸翻译期间或之后(或其组合)被裂解(参见,例如,图3A、3B和3C)。在一些实施方案中,最C-末端免疫检查点抑制剂嵌合多肽不包括可裂解肽。

[0149] 在一些实施方案中,可裂解肽能够被原蛋白转化酶裂解,其包括但不限于弗林蛋白酶或弗林样原蛋白转化酶(表3)。在一些实施方案中,可裂解肽序列包含碱性氨基酸靶序列(规范地,RX(R/K)R),其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:91)。在一些实施方案中,可裂解肽序列包含碱性氨基酸靶序列(规范地,RX(R/K)R),其中X=R、K或H(SEQ ID NO:92)。在一些实施方案中,可裂解肽序列为RAKR(SEQ ID NO:93)。在一些实施方案中,可裂解肽序列是RRRR(SEQ ID NO:94)。在一些实施方案中,可裂解肽为RKRR(SEQ ID NO:95)。在一些实施方案中,可裂解肽为RRKR(SEQ ID NO:96)。在一些实施方案中,可裂解肽为RKKR(SEQ ID NO:97)。通过在每个共价连接的嵌合多肽上包括可裂解肽序列,在多顺反子核酸插入物翻译期间表达的多聚体多肽可在翻译后通过裂解机制加工成单体嵌合多肽。这允许包含免疫检查点抑制剂肽的每个嵌合多肽从细胞分泌,并发挥下调不期望免疫检查点途径的作用(参见,

例如,图3A)。

[0150] 表3-可裂解肽序列

[0151]

SEQ IN NO:	可裂解肽序列
91	RX(R/K)R
92	RX(R/K)R,X＝R,K或H
93	RAKR
94	RRRR
95	RKRR
96	RRKR
97	RKKR

[0152] 在一些实施方案中,每个嵌合多肽包括一个或多个与免疫检查点抑制剂肽的C-末端融合的肽序列,其能够在多顺反子核酸翻译期间诱导核酶跳跃。核糖体“跳跃”是替代翻译机制,其中特定的肽序列阻止核糖体共价连接新插入的氨基酸,但仍继续翻译。这导致多蛋白通过诱导的核糖体跳跃而“裂解”(参见,例如,图3B)。

[0153] 在一些实施方案中,能够诱导核糖体跳跃的肽是顺式作用的水解酶元件肽(CHYSEL)。在一些实施方案中,CHYSEL序列包含具有强α-螺旋倾向的非保守氨基酸序列,随后是共有序列D(V/I)EXNPGP,其中X＝任何氨基酸(SEQ ID NO:98),其中核糖体跳跃裂解发生在G和P序列之间。在一些实施方案中,CHYSEL序列包含DVEENPGP(SEQ ID NO:99)。

[0154] 在一些实施方案中,CHYSEL裂解序列源自一个或多个2A自加工肽。2A序列是位于病毒家族的一些成员(例如小核糖核酸病毒家族)中的P1和P2蛋白之间的寡肽,并且可以在真核细胞中进行自我裂解以产生成熟的病毒蛋白P1和P2(Ahier等人,Simultaneous expression of multiple proteins under a single promoter in Caenorhabditis elegans via a versatile 2A-based toolkit.Genetics.2014;196:605-613;Luke等人,Occurrence,function and evolutionary origins of’2A-like’sequences in virus genomes.J Gen Virol.2008年4月;89(Pt 4):1036-42;Doronina等人,Dissection of a co-translational nascent chain separation event.Biochem Soc Trans.2008年8月;36(Pt 4):712-6;Martin等人,A Model for Nonstoichiometric,Cotranslational Protein Scission in Eukaryotic Ribosomes.Bioorganic Chemistry,第27卷,第1期,1999年2月,55-79)。最早发现的2A病毒是F2A(口蹄疫病毒),之后还鉴定了E2A(马鼻炎A病毒)、P2A(猪捷申病毒-1 2A)和T2A(thosea asigna病毒2A)(Ryan等人,Cleavage of foot-and-mouth disease virus polyprotein is mediated by residues located within a 19amino acid sequence.The Journal of general virology.1991;72(Pt 11):2727-2732;Szymczak等人,Development of 2A peptide-based strategies in the design of multi ci str onic vectors.Expert opinion on biological therapy.2005;5:627-638)。

[0155] 在一些实施方案中,CHYSEL裂解序列源自表4中提供的一个或多个2A自加工肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,CHYSEL裂解序列源自一种或多种具有选自SEQ ID NO:100-117的氨基酸序列的2A自加工肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。

[0156] 表4-CHYSEL序列

SEQ ID NO:	来源	肽序列
98		D(V/I)EXNPGP
99		DVEENPGP
100	小核糖核酸病毒科：口疮病毒：口蹄疫病毒	PSDARHKQRIVAPAKQLLNFDLLKLAGDVESNPGP
101	禽病毒属：禽病毒 A 型	ARRTLEWARREVGAIDETDHKDILLGGDIEENPGP
102	禽肝炎病毒：鸭甲型肝炎病毒	RLKTLAFELNLEIESDQIRNKKDLTTEGVEPNPGP
103	心脏病毒：脑心肌炎：病毒	VREENVFGLYRIFNAHYAGYFADLLIHDIETNPGP
104	Cosavirus：Cosavirus A 型	IMADSVLPRPLTRAERDVARDLLLIAGDIESNPGP
105	马鼻炎病毒：马鼻炎 B 病毒	SEPIPEATLSTILSEGATNFSLLKLAGDVELNPGP
106	马鼻炎病毒：塞内卡谷病毒	RYKNARAWCPSMLPFRSYKQKMLMQSGDIETNPGP
107	Hunnivirus：Hunnivirus A 型	CPRPGMAIDPPAQSSGATNFSLLRLAGDVELNPGP

[0157]

[0158]

108	Kunsagivirus: Kunsagivirus A 型	SPRSLLHFLIGRPRPRVPPSPSLLLSGDVEPNPG|P
109	Mischivirus: Mischivirus A 型	DSYPASGEEEEDDFHDMEDHSDILLGGDVEENP GP
110	Mosavirus: Mosavirus A2 型	TNSRAKLMVDEDYVIQRSAHRSVLLDGDVESN PGP
111	Pasivirus: Pasivirus A1 型	DIPSFQRDFINWLGSKEELQNMILQCGDVEQNP GP
112	捷申病毒：猪捷申病毒 1 型	EGLSSAMTVMAFQGPGATNFSLLKQAGDVEEN PGP
113	Iflaviridae: Iflavirus: 传染性软化病病毒	NYPLVPSIGNVARTLTRAEIEDELIRAGIESNPGP
114	Tetraviridae: 贝塔四体病毒: Thosea asigna 病毒	RSRRLRGPRPQNLGVRAEGRGSLLTCGDVEENP GP
115	双顺反子病毒科: Cripavirus: 蟋蟀麻痹病毒	FQQWKLVSSNDECRAFLRKRTQLLMSGDVESN PGP
116	呼肠孤病毒科：轮状病毒：人轮状病毒 C 型	LKKHNGAGYPLIVANSKFQIDKILISGDIELNPGP
117	质型多角体病毒：舞毒蛾质型多角体病毒 1 型	TDFLSMTAFDFQQAVFRSNYDLLKLCGDVESNP GP

[0159] 在一些实施方案中,裂解序列是源自口蹄疫病毒(FMDV)的2A裂解序列,例如源自包含VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID No.118)的氨基酸序列,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,2A裂解序列是选自GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP(SEQ ID NO:119)、GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:120)、GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:121)或GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP(SEQ ID NO:122)的2A或2A样裂解序列,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序

列的肽。在具体实施方案中,2A样裂解序列为GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:120),或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽。

[0160] 表5-2A/2A样裂解序列

[0161]

SEQ ID NO:	肽序列
118	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
119	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP
120	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
121	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP
122	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

[0162] 在一些实施方案中,可裂解肽序列包含能够通过不同机制裂解的两个或更多个序列,例如能够在多顺反子核酸翻译后被裂解的可裂解肽序列和能够在多顺反子核酸翻译期间诱导核酶跳跃的肽序列。通过提供经受多种裂解模式的可裂解肽序列,可以提高由多顺反子核酸形成单体的效率。在一些实施方案中,免疫检查点抑制剂肽已将弗林蛋白酶可裂解肽序列融合至其C-末端,例如肽序列RX(R/K)R,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:91),并且融合至弗林可裂解肽序列的C-末端的是CHYSEL肽序列,例如包含氨基酸序列D(V/I)EXNPGP的肽,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98)。通过在每个嵌合多肽之间包括融合至CHYSEL肽序列的N-末端的弗林可裂解肽序列,例如RAKR(SEQ ID NO:93),转录的多顺反子核酸在翻译期间经历核酶跳跃,导致单体嵌合多肽的产生,并且弗林裂解序列中除了精氨酸(R)和丙氨酸(A)残基之外的所有残基均保留在免疫检查点抑制剂肽的C-末端,限制了额外的氨基酸序列对免疫检查点抑制剂肽功能的潜在干扰(参见例如,图3C)。在替代实施方案中,包括融合至每个嵌合多肽之间的CHYSEL肽序列的N-末端的弗林可裂解肽序列,例如RRRR(SEQ ID NO:94)、RKRR(SEQ ID NO:95)或RRKR(SEQ ID NO:96),转录的多顺反子核酸在翻译期间经历核酶跳跃,导致单体嵌合多肽的产生,并且在免疫检查点抑制剂肽的C-末端的剩余的弗林蛋白酶裂解序列和CHYSEL肽序列被去除。

[0163] 在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至含有氨基酸序列D(V/I)EXNPGP的CHYSEL的RAKR(SEQ ID NO:93),其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:100-122的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RAKR(SEQ ID NO:93)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:118-122的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RAKR(SEQ ID NO:93)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至氨基酸SEQ ID NO:120的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RAKR(SEQ ID NO:93)。在具体实施方案中,杂合可裂解肽为RAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:123)。

[0164] 在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至含有氨基酸序列D(V/I)EXNPGP,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98)的CHYSEL的RRRR(SEQ ID NO:94)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:100-122的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RRRR(SEQ ID NO:94)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:118-122的CHYSEL氨基

酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RRRR(SEQ ID NO:93)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至氨基酸SEQ ID NO:120的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RRRR(SEQ ID NO:94)。在具体实施方案中,杂合可裂解肽为RRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:124)。

[0165] 在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至含有氨基酸序列D(V/I)EXNPGP,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98)的CHYSEL的RKRR(SEQ ID NO:95)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:100-122的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RKRR(SEQ ID NO:95)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:118-122的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RKRR(SEQ ID NO:95)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至氨基酸SEQ ID NO:120的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RKRR(SEQ ID NO:95)。在具体实施方案中,杂合可裂解肽为RKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:125)。

[0166] 在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至含有氨基酸序列D(V/I)EXNPGP,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98)的CHYSEL的RRKR(SEQ ID NO:96)(表6)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:100-123的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RRKR(SEQ ID NO:96)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:118-122的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RRKR(SEQ ID NO:96)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至氨基酸SEQ ID NO:120的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RRKR(SEQ ID NO:96)。在具体实施方案中,杂合可裂解肽为RRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:126)。

[0167] 在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至含有氨基酸序列D(V/I)EXNPGP,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:98)的CHYSEL的RKKR(SEQ ID NO:97)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:100-123的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RKKR(SEQ ID NO:97)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至选自SEQ ID NO:118-122的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RKKR(SEQ ID NO:97)。在一些实施方案中,杂合可裂解肽序列包含融合至氨基酸SEQ ID NO:120的CHYSEL氨基酸序列,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的肽的RKKR(SEQ ID NO:97)。在具体实施方案中,杂合可裂解肽为RKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP(SEQ ID NO:127)。

[0168] 表6-杂合可裂解肽序列

[0169]

SEQ ID NO:	肽序列
123	RAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
124	RRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

125	RKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
126	RRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
127	RKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

[0170] 调控序列

[0171] 如本文所提供的,免疫检查点抑制剂肽由插入MVA基因组序列内合适位置中的核酸序列表达。为了表达在rMVA基因组主链内的核酸插入物,有必要将编码多蛋白的多顺反子核酸转录所需的调控序列例如启动子位于与转录起始位点相邻的核酸插入物的5'区域中以启动转录。其中核酸插入物是编码多种蛋白质/肽为单一多蛋白的多顺反子核酸,一个或多个启动子可位于编码多蛋白的最N-末端多肽的ORF的转录起始位点的5'侧。

[0172] 因为MVA是胞质病毒,在一些实施方案中,合适的启动子包括源自天然存在的痘病毒启动子的那些。痘病毒基因、启动子和转录因子根据其在痘病毒感染期间的表达时间被分为早期、中期、晚期种类(参见,例如,Assarsson等人,Kinetic analysis of a complete poxvirus transcriptome reveals an immediate-early class of genes.PNAS2008;105(6):2140-2145;Yang Z等人,Genome-wide analysis of the 5'and 3'ends of vaccinia virus early mRNAs delineates regulatory sequences of annotated and anomalous transcripts.J Virol.2011;85(12):5897-5909)。大多数哺乳动物细胞(非许可细胞)中的MVA复制在所有发生表达的阶段后的子代病毒体组装期间停止。这支持了所有启动子类别,包括晚期启动子,用于控制转基因表达的效用(Sancho等人,The block in assembly of modified vaccinia virus Ankara in HeLa cells reveals new insights into vaccinia virus morphogenesis.J Virol.2002;76(16):8318-8334;Geiben-Lynn等人,Kinetics of recombinant adenovirus type 5,vaccinia virus,modified vaccinia ankara virus,and DNA antigen expression in vivo and the induction of memory T-lymphocyte responses.Clin Vaccine Immunol.2008;15(4):691-696)。一些痘病毒启动子同时具有早期和后期元件,从而允许其开放阅读框(ORF)或重组抗原分别在病毒感染早期和病毒基因组复制后的晚期表达(Broyles SS,Vaccinia virus transcription.J Gen Virol.2003;84(Pt 9):2293-2303)。痘病毒启动子可以跨株使用(参见Prideaux等人,Comparative analysis of vaccinia virus promoter activity in fowlpox and vaccinia virus recombinants.Virus Res.1990;16(1):43-57;Tripathy等人,Regulation of foreign gene in fowlpox virus by avaccinia virus promoter.Avian Dis.1990;34(1):218-220)。

[0173] 此类MVA启动子序列为本领域技术人员已知的,并且包括例如驱动由F17R ORF编码的11k蛋白表达的P11启动子(Wittek等人,Mapping of a gene coding for a major late structural polypeptide on the vaccinia virus genome.JVirol.1984;49(2):371-378);p7.5启动子(Cochran等人,In vitro mutagenesis of the promoter region for a vaccinia virus gene:evidence for tandem early and late regulatory signals.J Virol.1985;54(1):30-37);pI1L启动子(Schmitt等人,Sequence and transcriptional analysis of the vaccinia virus HindIII I fragment.J Virol.1988;62(6):1889-1897);pTK启动子(Weir和Moss,Determination of the promoter region of an early vaccinia virus gene encoding thymidine

kinase.Virology.1987;158(1):206-210);pF7L启动子(Coupar等人,Effect of in vitro mutations in a vaccinia virus early promoter region monitored by herpes simplex virus thymidine kinase expression in recombinant vaccinia virus.J Gen Virol.1987;68(Pt 9):2299-2309;pH5启动子(Perkus等人,Cloning and expression of foreign genes in vaccinia virus,using a host range selection system.J Virol.1989;63(9):3829-3836);短合成启动子pSyn(Chakrabarti等人,Compact, synthetic,vaccinia virus early/late promoter for protein expression.Biotechniques.1997;23(6):1094-1097;Hammond等人,A synthetic vaccinia virus promoter with enhanced early and late activity.J Virol Methods.1997;66(1):135-1380);pmH5启动子(Wyatt等人,Development of a replication-deficient recombinant vaccinia virus vaccine effective against parainfluenza virus 3infection in an animal model.Vaccine.1996;14(15):1451-1458);pHyb启动子(Sancho等人,The block in assembly of modified vaccinia virus Ankara in HeLa cells reveals new insights into vaccinia virus morphogenesis.J Virol.2002;76(16):8318-8334);LEO启动子(Wyatt等人,Correlation of immunogenicities and in vitro expression levels of recombinant modified vaccinia virus Ankara HIV vaccines.Vaccine.2008;26(4):486-493);pB8启动子(Orubu等人,Expression and cellular immunogenicity of a transgenic antigen driven by endogenous poxviral early promoters at their authentic lociin MVA.PLoS One.2012;7(6):e40167);pF11启动子(Orubu等人,Expression and cellular immunogenicity of a transgenic antigen driven by endogenous poxviral early promoters at their authentic lociin MVA.PLoS One.2012;7(6):e40167)。在一些实施方案中,启动子选自pMH5、p11、pSyn、pHyb或其组合的一种或多种。

[0174] 在一些实施方案中,启动子是pH5启动子AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAA(SEQ ID NO:128),或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。在一些实施方案中,启动子是pH5启动子AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATT(SEQ ID NO:129),或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。

[0175] 在一些实施方案中,启动子是修饰的pH5启动子(pmH5)AAAAATTGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAA(SEQ ID NO:130),或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。在一些实施方案中,启动子是修饰的pH5启动子(pmH5)AAAAATTGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATA(SEQ ID NO:131),或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。在一些实施方案中,启动子是修饰的pH5启动子(pmH5)AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATA(SEQ ID NO:132),或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。

[0176] 可特别适合作为本发明的启动子的另外的牛痘病毒启动子包括例如,如下表7所提供的源自天然启动子序列的那些,或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列,其中基因座的命名法基于最初用于牛痘病毒的WR和哥本哈根株的ORF命名法。在一些

实施方案中,启动子选自SEQ ID.No.133-308的一种或多种或其组合,或与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的核酸序列。

[0177] 表7-另外的牛痘病毒启动子

SEQ ID. No.	基因座	启动子序列
128	pH5 启动子	AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTA AATTGAAAGCGAGAAATAATCATAA
129	pH5 启动子	AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTA AATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATT
130	修饰的pH5 启动子(pmH5)	AAAAATTGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTA AATTGAAAGCGAGAAATAATCATAA
131	修饰的pH5 启动子(pmH5)	AAAAATTGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTA AATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATA

[0178]

132	修饰的pH5 启动子(pmH5)	AAAAAATGAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTA AATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATA
133	C23L	AAAGTAGAAAATATA
134	假基因	TATCCGGAGACGTCA
135	C11R	ATTACTGAATTAATA
136	C10L	GCAACGTAAAACACA
137	无直系同源物	AAAAAATAAAAAAAA
138	无直系同源物	AGTAAAGAAAAAGAA
139	无直系同源物	AAAATTGATAAATAA
140	无直系同源物	AAATTAGACATTTGA
141	C9L	ATAACTGAAATGAAA
142	C7L	AAAGATGAAAAAGTA
143	C6L	ATTAATGAAATAATA
144	C5L	AAAAATGAAAATGGA
145	C4L	AAAACATAAAAATTA
146	N2L	ATAACATAAAAATAA
147	M2L	AAGATAGATTTCCTA
148	K1L	AAAAATGAAAAAATA
149	K3L	GAAAAAGAAATTCCT
150	K5L	AATGGTGAAAAAATG
151	K6L	AAAACATAAAAATAA
152	K7R	ATAATTGTAAAAACA
153	F7L	ATAATTGAAAATGGA
154	F8L	AAAAATTTAATTACA

155	F11L	AAAAGTGAAAAACAA
156	F12L	AAAAAAGAAAATAGA
157	F14L	GTAGAAGAAAATAAT
158	F15L	AAAAATGAAACGTAA
159	F16L	AAAAAACAAAATGAA
160	E1L	GAGACAGTAGTTTTA
161	E3L	AAAAATGATAAAATA
162	E4L	AATAATGAAAAAATA
163	E5R	ACAAAAGTGAATATA
164	E9L	TTAAATGAAAATATA
165	OIL	AATAATGAAAAAACA

[0179]

166	I3L	TAAAGTGAAAATATA
167	I4L	ATTAATGAAAAGTTA
168	G2R	ATAACAAAAATAAAA
169	G5R	AAAAATGATAAGATA
170	G5.5R	AAAACTGTAACACGA
171	L2R	AAAACTGAAAATATA
172	J2R	TAAAGTGAACAATAA
173	J6R	AAAAGGGAAATTTGA
174	H3L	AGAATTGAAAACGAA
175	H5R	AAAAATGAAAATAAA
176	D1R	GTAAATGAAAAAAAA
177	D4R	GAAAATGAAAAGGTA
178	D7R	AAAACTGATGAAATA
179	D9R	AAAAATGAAATGATA
180	D12L	AATAATGAAAACAAA
181	A4L	AATTCTGAAACTAGA
182	A5R	AAAATTGAATTGCGA
183	A8R	TAAAGTGAAAATCTA
184	A18R	GCAATAGAAAAGATG
185	A20R	AAGAATGAAATAACA

186	A23R	AAAAATGTAATAACG
187	A29L	AAAGTCGAAAAAGAA
188	A31R	AAAACATAAATATAA
189	A33R	AATATGGAAAACTAA
190	A35R	AAAAATGAATTAATA
191	A37R	AAAATTGAAGTAATA
192	A40R	AATACTTAAAATGTA
193	A41L	AAAATATAAAATAAA
194	268	AAAAATGAACTCTTA
195	A44L	AAAATAGAATAAGTA
196	A46R	ATAAATGAAAAGATA
197	A47L	AAAACTGAAAATAAA
198	A48R	AAATTGTAAAAAATA
199	A50R	AAATATTAAAAAAAA
200	A52R	GAAATAAAAAACATA

[0180]

201	A55R	AAAAATAAAAATATA
202	A56R	AATTTTGTAAAAATA
203		ATTACATATTATATA
204	B1R	AAAACTTAAAATTTA
205	B2R	ATAAAAATTAAAAAA
206	B5R	ATATCTAAAAATCTT
207	B6R	AAAAATAATGACCAA
208	B8R	ATTATTCAAAATATG
209	B11R	GAAAATGAAAATATA
210	B12R	AAAACATAAAAAACA
211	B13R	AAGATTGAAATTATA
212	B17L	AAATATGTAAATATG
213	B19R	AAAACTGATATTATA
214	假基因	ATAAATGTAGACTCT
215	C12L	TAAACTGAAGTTTAA
216	K2L	ATTTTTATACCGAACATAAAAATAAGGTTAATTATTAATACCA TAAAATC
217	K4L	GGATTTTTAATAGAGTGAAGTGATATAGGATTATTCTTTTAAC AAATAAA
218	F13L	ATTCTAGAATCGTTGATAGAACAGGATGTATAAGTTTTTATGT TAACTAA

219	E11L	TTTGTATCATTTGTCCATCAACGTCATTTCAATAATATTGGATG ATATAA
220	O2L	ACTAAAGAGTTAAATAAGTCGAGATAGTTTTATATCACTTAAA TATTAAA
221	03L	GTGCCTAATATTACTATATCAAGTAATGCTGAATAAAAATATT TATAAAT
222	I1L	TTCTACTACTATTGATATATTTGTATTTAAAAGTTGTTTGGTGA ACTTAA
223	I5L	ATACAACTAGGACTTTGTCACATATTCTTTGATCTAATTTTTAG ATATAA
224	I6L	TGTGATATGTGATAAATTAACTACAAAATTAAATAGAATAGTA AACGACG
225	G4L	CAGTGATTTATTTTCCAGCAGTAACGATTTTAAGTTTTTGATAC CCATAA
226	H1L	AATTACACGCGTTTACCGATAAAGTAGTTTTATCCATTTGTAC GTTATAA
227	H3L	AAAATATAACTCGTATTAAAGAGTTGTATATGATTAATTTCAA TAACTAA

[0181]

228	D8L	AATTCCCATACTAAGAGCTATTTTTAAACAGTTATCATTTCATT TTTACT
229	D11L	TAAACTACTGCTGTGATTTTTAAAACATAGTTATTACTTATCAC TCATAA
230	D13L	GATATTTCTCTACGGAGTTTATTGTAAGCTTTTTCCATTTTAAA TAGAAA
231	A1L	AGGTTTTCTACTTGCTCATTAGAAGTATAAAAAAATAGTTCCG TAATTAA
232	A2L	AAAATGTTTTTATATAAAATATTGGACGACGAGATACGTAGAG TGTTAAC
233	A3L	AGATTGGATATTAAAATCACGCTTTCGAGTAAAAACTACGAAT ATAAATA
234	A6L	AACTCTGGAAGAGCACAAATAAATTAAACAACTAAATCTGTA AATAAATA
235	A12L	TATAATCTAGTTAAATCTTCTGTATAAATAAAAATATTTTTAGC TTCTAA
236	A15L	CTATTTTATATCTATTTATTCGCGTCCTAAAATTAAAACAAATG ATATAA
237	A16L	GATGTTGATATACCAACATTTAACAGTTTAAATACTGACGATT ATTAAGA
238	A19L	TTGCACGATCGTGTTATAGGGCATATTCTGACTTATTTTTTACT ACCTAA
239		AATTCGAAAGAAAAAGAATCACAGTCCTAAAAGCTGAACTTC GGAAATCT
240		ATCTAGAATATCAGATCTTGAAAGACAGTTGAACGACTGTAG ACGTAATA

241	A25L	TTATAATTACCCGATTGTAGTTAAGTTTTGAATAAAATTTTTTA TAATAA
242	A27L	TACCAAATATAAATAACGCAGAGTGTCAGTTTCTAAAATCTGT ACTTTAA
243	A30L	TCCATAAAAGACGAATAAGATACAAACACAAATGTTTATATA ATATTTAA
244	A30.5L	ATGTTTTTTCCAAAAACCTAAGTGTATTTAAAATAGATGCCAT GTTAAAA
245	A32L	TCCATATTTTGATTTATTATCAAATTAATTTAGTAACTGTAAAT ATAATT
246	A38L	CAAAATAGAATAAAATAAATAACAAAGGTATCATTTTAAATA AATAAAAA
247		GATATCCATGGTATAGACCAAACAATAACGATATATATCATAA ATAAATAA
248	E6R	TAATTATTAGAATAAGAGTGTAGTATCATAGATAACTCTCTTC TATAAAA

[0182]

249	E7R	TATACATAGATATAATTATCACATATTAAAAATTCACACATTT TTGATAA
250	E8R	ACATAAAAACTCATTACATAGTTGATAAAAAGCGGTAGGATA TAAATATT
251	I8R	TAGTTCTGGTATTTTACTAATTACTAAATCTGTATATCTTTCCA TTTATC
252	G8R	CGACGCTGTTCTGCAGCCATTTAACTTTAAATAATTTACAAAA ATTTAAA
253	L4R	TTTGTAACATCGGTACGGGTATTCATTTATCACAAAAAAAACT TCTCTAA
254	J1R	TAGTAAACCGATAGTGTATAAAGATTGTGCAAAGCTTTTGCGA TCAATAA
255	H7R	CTACGGATGGATGATATAGATCTTTACACAAATAATTACAAAA CCGATAA
256	D6R	ATCTCCGTAAATATATGCTCATATATTTATAGAAGATATCACA TATCTAA
257	D10R	GATAAATACGAATATCTGTCTTATATTTATAATATGCTAGTTA ATAGTAA
258	A22R	CAATATTGAAAATACTAATTGTTTAAATAACCCGAGTATTGAA ACTATAT
259	A34R	TATTTTTGTGTTAAAACAATGAACTAATATTTATTTTTGTACAT TAATAA
260		GATACGATACTATATGTATTCTTCGATAGTCCGCATTATGTAC CTATTCT

[0183]

261	A42R	CAAGTTTATTCCAATAGATGTCTTATTAAAAACATATATAATA AATAACA
262	A43R	AACTGGTAATTAAAATAAAAAGTAATATTCATATGTAGTGTCA ATTTTAA
263	A53R	TTTTTGATGGTGGTTTAACGTTTTAAAAAAAGATTTTGTTATTG TAGTAT
264	B4R	TAACATTGTTAATTGAAAAGGGATAACATGTTACAGAATATAA ATTATAT
265	B9R	TGCATATTATACACTGGTTAACGCCCTTATAGGCTCTAACCAT TTTCAAG
266		TTGCAGTGTTCATCTCCCAACTGCAAGTGAAGGATTGATAACT GAAGGCA
267		CTCTTCTCCCTTTCCCAGAAACAAACTTTTTTTACCCACTATAA AATAAA
268	C13L	AATAGTATAAACTAAAAATTAAACAAATCGTTATTATAAGTAA TATCAAA
269	C19L	TTCTGTTTTTCTTTCACATCTTTAATTATGAAAAAGTAAATCAT TATGAG

[0184]

270	C8L	CACTTACTAAATAGCCAAGGTGATTATTCGTATTTTTTTAAGG AGTAACC
271	C3L	TTTTATTATTTGTACGATGTCCAGGATAACATTTTTACGGATAA ATAAAT
272	F9L	TAGTTTCTTGGAAAAATTTATTATGAGAGACATTTTCTCAGAC TGGATAA
273	F10L	TCTATCAAACCTGGACTTTCGTTTGTAAATTGGGGCTTTTTGTA CAATAA
274	I2L	ATGAATATGATGAAGATAGCGATAAAGAAAAGCCAATATTCA ATGTATAA
275	I7L	AACGCAGTTTGGAAAAAAGAAGATATCTGGTAAATTCTTTTCC ATGATAA
276	G1L	TACGATGATAACGACATACGAACATTACTTCCTATTTTACTCC TTAGTAA
277	G3L	ATCTTCTGTAAGTAGGAATTTGGACAAGTTGAACAAAATTAGA TCTCTAA
278	G7L	ATTTTTATACGGATGCTCATTTTAAATTTTTGTAAATTATTTAA AGTTAA
279	L3L	ATGAGGTTTTCTAGCAGTAGACTCATTTAGAGAAGTTTTTTTTG TGATAA
280	J5L	TTATTACAACTATAAAAATAATAGTTATATTTACACTTTAAATT TTTATC
281	H4L	TAAAAAAATTATACATCATAAACCAATTTCCTAGTTGTTTGTA ACTTTAA
282	D2L	CGTTATCGTCGTTATCTACTTTGGGATACTTATTATCCTTAACT ATAAAA
283	A2.5L	TATATTAGCGCTAGACATATTACAGAACTATTTTAGATTATGA TATTTAA
284	A7L	AAGACTTACATCATCGGTAGTAGATTTTCACTTTACCCCACGA TATAAAT
285	A9L	AAAATCTAAATATGACAGATGGTGACTCTGTCTCTTTTGATGA TGAATAA
286	A10L	ATCGTTTTGTATATCCGTCACTGGTACGGTCGTCATTTAATACT AAATAA
287	A13L	AAAAGATGATATATTGCATACTTGATCAATAGTGAAGTTATTG TCAATAA
288	A14L	GTTTATATTCCACTTTGTTCATTCGGCGATTTAAAATTTTTATT AGTTAA
289	A14.5L	ATTCGTATTATTTGAGCAAGAAAATATCCCACCACCTTTTCGT CTAGTAA
290	A17L	GGCATAAAGATTATACTCCATCTTTAATAGTGACATTTTTTAAT ATATAA

[0185]

291	A21L	TGTACAGACTAAGTAATTCTTTTAAGTTAGTTAAATCAGCGCT AGAAGTC
292	A26L	ACTTAACTCTTTTGTTAATTAAAAGTATATTCAAAAAATGAGT TATATAA
293	A28L	CATTGTCTGATGCGTGTAAAAAAATTTTGTCAGCTTCTAATAG ATTATAA
294	F17R	TGTATGTAAAAATATAGTAGAATTTCATTTTGTTTTTTTCTATG CTATAA
295	E10R	TAATGCACCGAACATCCATTTATAGAATTTAGAAATATATTTT CATTTAA
296	G6R	AGAACCTCAACGTAACTTAACAGTGCAACCTCTATTGGATATA AACTAAT
297	G9R	GATCAACATCTTTATGGCGTTTTTAGATTAATACTTTCAATGAG ATAAAT
298	L1R	TCAGTTTATTATCTCTCTTGGTAATATGGATACTAATTGTAGCT ATTTAA
299	L5R	AAAAGAATATTCCTCTAACAGATATTCCGACAAAGGATTGATT ACTATAA
300	H2R	GTAGTAGTAAGTATTTATACAAACTTTTCTTATCCATTTATAAC GTACAA
301	H6R	AGGGAAAATCTAAAGTTGTTCGTAAAAAAGTTAAAACTTGTA AGAAGTAA
302	D3R	ATAAAATACTACTGTTGAGTAAATCAGTTATTTTTTTTATATCG ATATTG
303	A11L	TTGATCAAGAGTAACTATTGACTTAATAGGCATCATTTATTTA GTATTAA
304	A39R	CCAATTTCCATCTAATATACTTTGTCGGATTATCTATAGTACAC GGAATA
305	A45R	CCATTGCTGCCACTCATAATATCAGACTACTTATTCTATTTTAC TAAATA
306	B7R	TTTGTATAAATAATTATTTCAATATACTAGTTAAAATTTTAAGA TTTTAA
307		TCCATCCACAGACGTTACCGAACCGATTAGTGATGTGACACCA TCGGTGG
308		ATACGAGGACGTGTATAGAGTAAGTAAAGAAAAAGAATGTGG AATTTGCT

[0186] 此外,用于插入的核酸序列可进一步包括合适的翻译起始序列,例如诸如,Kozak共有序列(GCCACC/ATG)。

[0187] 此外,用于插入的多顺反子核酸序列可在多肽的最后一个氨基酸编码序列之后的核酸序列的3'端包括适当的终止密码子,例如TAA、TAG或TGA或其组合或多重。此外,核酸序列可包括多蛋白最后一个终止密码子3'侧的牛痘病毒终止序列。此外,用于插入的核酸序列可进一步包括用于产生穿梭载体的限制性酶位点,以便于免疫检查点抑制剂编码序列的插入。

[0188] 抗原靶

[0189] 本发明提供的rMVA病毒构建体可用作用于治疗或预防受试者的传染病或癌症的佐剂。在一些实施方案中,在预防性疫苗接种方案中,例如在引发阶段、增强阶段或在引发阶段和宿主阶段两者,将rMVA病毒构建体向有需要的受试者,例如人施用,以预防传染病。在替代实施方案中,将rMVA病毒构建体以合并疫苗接种方案的治疗方式向有需要的受试

者,例如人,施用以治疗癌症。因此,rMVA病毒构建体可与一种或多种旨在诱导针对抗原靶标的免疫应答的抗原协同施用,以便在有需要的受试者中诱导部分或完全免疫。

[0190] 因此,本发明的rMVA可与一种或多种靶向传染病或癌症的抗原一起施用。rMVA可用作佐剂的抗原和抗原递送媒介的实例包括:抗原蛋白、多肽或肽,或其片段;编码一种或多种抗原的核酸,例如mRNA或DNA;多糖或多糖与蛋白质的缀合物;糖脂,例如神经节苷脂;类毒素;亚基(例如,病毒、细菌、真菌、阿米巴虫、寄生虫等的);病毒样颗粒;活病毒;分裂病毒;减毒病毒;灭活病毒;包膜病毒;表达一种或多种抗原的病毒载体;肿瘤相关抗原;或其任何组合。

[0191] 在具体方面,本发明提供了一种在有需要的受试者中预防或治疗传染病的方法,所述方法包括与预防有效量或治疗有效量的一种或多种抗原或抗原表达载体组合、交替或协同施用有效量的本发明的rMVA,其中rMVA增强针对靶向的传染病的免疫。

[0192] 在一些实施方案中,靶向的感染是病毒感染,包括但不限于:双链DNA病毒,包括但不限于腺病毒、疱疹病毒和痘病毒;单链DNA,包括但不限于细小病毒;双链RNA病毒,包括但不限于呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒,包括但不限于冠状病毒、小核糖核酸病毒和披膜病毒;反义单链RNA病毒,包括但不限于正粘病毒和弹状病毒;单链RNA逆转录病毒,包括但不限于逆转录病毒;或双链DNA逆转录病毒,包括但不限于嗜肝DNA病毒。在一些实施方案中,靶向的病毒为腺病毒、禽流感病毒、柯萨奇病毒、巨细胞病毒、登革热病毒、埃博拉病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、马脑炎病毒、黄病毒、嗜肝DNA病毒、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、丁型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、单纯疱疹病毒、人免疫缺陷病毒、人乳头瘤病毒、流感病毒、日本脑炎病毒、JC病毒、麻疹病毒、马尔堡病毒、中东呼吸综合征(MERS-CoV)-冠状病毒、腮腺炎病毒、正粘病毒、乳头瘤病毒、副流感病毒、细小病毒、小核糖核酸病毒、脊髓灰质炎病毒、痘病毒、狂犬病毒、呼肠孤病毒、呼吸道合胞病毒、逆转录病毒、弹状病毒、鼻病毒、裂谷热病毒、轮状病毒、风疹病毒、麻疹病毒、严重急性呼吸综合症-冠状病毒1型(SARS-CoV)、严重急性呼吸综合症冠状病毒2型(SARS-CoV2)、天花病毒、披膜病毒、猪流感病毒、水痘带状疱疹病毒、重型天花、轻型天花和黄热病病毒。可用作抗原的病毒的实例还包括麻疹病毒、腮腺炎病毒(流行性腮腺炎病毒)、风疹病毒、水痘带状疱疹病毒或其全部四种或三种的组合(例如,麻疹、腮腺炎和风疹)。

[0193] 在一些实施方案中,靶向的感染剂为黄病毒科病毒,包括黄病毒属和瘟病毒属病毒的感染。黄病毒感染包括登革热、凯萨努森林病、波瓦桑病、韦塞尔斯布朗病、西尼罗热病、黄热病、寨卡病毒、里约布拉沃病毒、罗西奥病毒、根岸病毒和脑炎,包括加利福尼亚脑炎、中欧脑炎、伊列乌斯病毒、默雷谷脑炎、圣路易斯脑炎、日本B型脑炎、卢平病和俄罗斯春季啮齿动物夏季脑炎。瘟病毒感染主要包括家畜疾病,包括猪的猪瘟、牛的BVDV(牛病毒性腹泻病毒)或边境疾病病毒感染。

[0194] 在一些实施方案中,靶向的感染剂为甲病毒属病毒,例如,东方马脑炎(EEE)病毒、委内瑞拉马脑炎(VEE)病毒、西方马脑炎(WEE)病毒、大沼泽地病毒、基孔肯雅病毒、马亚罗病毒、奥克尔博病毒、奥尼昂-尼昂病毒、罗斯河病毒、塞姆利基森林病毒或辛德毕斯病毒(SINV)。

[0195] 在一些实施方案中,靶向的感染剂为马动脉炎病毒、牛病毒性腹泻病毒(BVDV)、猪霍乱病毒或边境疾病病毒。风疹病毒属的唯一成员是风疹病毒。

[0196] 在一些实施方案中,靶向的感染剂为丝状病毒科病毒,例如埃博拉病毒和马尔堡病毒;副粘病毒科病毒,例如麻疹病毒、腮腺炎病毒、尼帕病毒、亨德拉病毒、呼吸道合胞病毒(RSV)和新城疫病毒(NDV);弹状病毒科病毒,例如狂犬病毒;尼亚病毒科病毒例如尼亚病毒、沙粒病毒科病毒例如拉沙病毒、布尼亚病毒科病毒例如汉坦病毒、克里米亚-刚果出血热;或蛇形病毒科和正粘病毒科病毒例如流感病毒。

[0197] 在一个实施方案中,抗原从一种或多种选自以下的细菌获取:疏螺旋体属物种、炭疽杆菌、伯氏疏螺旋体、百日咳博德特氏菌、空肠弯曲杆菌、衣原体属、鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体、梭菌属物种、破伤风梭菌、肉毒杆菌、产气荚膜梭菌、白喉棒状杆菌属、柯克斯氏菌物种、肠球菌物种、埃立克体物种、大肠杆菌、土拉弗朗西斯菌、嗜血杆菌物种、流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、乳杆菌物种、军团菌物种、嗜肺军团菌、问号钩端螺旋体、李斯特菌物种、单核细胞增多性李斯特菌、分枝杆菌物种、结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、支原体物种、肺炎支原体、奈瑟氏菌物种、脑膜炎奈瑟氏菌、淋病奈瑟氏菌、肺炎球菌物种、假单胞菌物种、铜绿假单胞菌、沙门氏菌物种、伤寒沙门氏菌、肠沙门氏菌、链球菌物种、立克次体物种、立氏立克次体、伤寒立克次体、志贺氏菌物种、葡萄球菌物种、金黄色葡萄球菌、链球菌物种、肺炎链球菌、化脓链球菌、变异链球菌、密螺旋体物种、梅毒螺旋体、弧菌物种、霍乱弧菌和鼠疫耶尔森氏菌。此类细菌可以是全细胞(例如,活的、减毒的或灭活的)或此类细菌的多肽或多糖。

[0198] 在一些实施方案中,靶向的感染剂是细菌。用于靶向的抗原细菌剂可以是多糖-多肽抗原,例如肺炎球菌(例如,肺炎链球菌)多糖(例如,细胞荚膜糖)-蛋白(例如,白喉蛋白)缀合物。在一些实施方案中,缀合物包含缀合至蛋白(例如,白喉蛋白)的肺炎链球菌的细胞捕获糖,例如,其中细胞荚膜糖为与白喉蛋白缀合的肺炎链球菌的七种血清型(4、6B、9V、14、18C、19F和23F)的。在一些实施方案中,缀合物包含肺炎球菌多糖血清型1、4、5、6B、7F、9V、14、18C、19F和23F,其缀合至蛋白质,例如源自不可分型的流感嗜血杆菌的蛋白质D、破伤风类毒素载体蛋白和/或白喉类毒素载体蛋白。在一些实施方案中,缀合物包含缀合至白喉蛋白的肺炎链球菌荚膜多糖,例如,缀合至诸如白喉crm197蛋白的蛋白的肺炎链球菌1、3、4、5、6a、6b、7f、9v、14、18c、23f、19a和19f型荚膜多糖。在一些实施方案中,一种或多种多糖-蛋白质缀合物包含缀合至一种或多种载体蛋白的以下肺炎链球菌至少一种血清型的荚膜多糖:1、2、3、4、5、6A、6B、6C、6D、6E、6G、6H、7F、7A、7B、7C、8、9A、9L、9N、9V、10F、10A、10B、10C、11F、11A、11B、11C、11D、11E、12F、12A、12B、13、14、15F、15A、15B、15C、16F、16A、17F、17A、18F、18A、18B、18C、19F、19A、19B、19C、20A、20B、21、2F、22A、23F、23A、23B、24F、24A、24B、25F、25A、27、28F、28A、29、31、32F、32A、33F、33A、33B、33C、33D、33E、34、35F、35A、35B、35C、36、37、38、39、40、41F、41A、42、43、44、45、46、47F、47A、48、CWPS1、CWPS2、CWPS3。

[0199] 在一些实施方案中,靶向的感染剂为真菌,例如但不限于选自曲霉菌属物种、念珠菌属物种、白色念珠菌、热带念珠菌、隐球菌属物种、新生隐球菌、溶组织内阿米巴、荚膜组织胞浆菌、利什曼原虫属物种、星形诺卡氏菌、恶性疟原虫、弓形虫、阴道毛滴虫、弓形虫属物种、布氏锥虫、曼氏血吸虫、镰刀菌属物种和毛癣菌属物种的一种或多种真菌。此类真菌可以是全细胞(例如,活的、减毒的或灭活的)或此类真菌的多肽或多糖。

[0200] 在一些实施方案中,靶向的感染剂为一种或多种寄生虫,其选自疟原虫物种、弓形虫物种、内阿米巴物种、巴贝斯虫物种、锥虫属物种、利什曼原虫物种、肺囊虫物种、毛滴虫

物种、贾第鞭毛虫物种和血吸虫物种。此类寄生虫抗原可以是此类寄生虫的全细胞(例如,活的、减毒的或灭活的)或多肽或多糖。

[0201] 在一些实施方案中,抗原剂由核酸编码。例如,在一些实施方案中,抗原剂由选自DNA、RNA、mRNA等的核酸编码。

[0202] 在一些实施方案中,抗原是类毒素。在一些实施方案中,类毒素为白喉类毒素或破伤风类毒素或来自艰难梭菌的类毒素。

[0203] 在具体实施方案中,靶向的抗原源自:埃博拉病毒,例如,埃博拉病毒扎伊尔株的包膜糖蛋白(例如,UniProtKB-P87671(VGP_EBOEC))、埃博拉病毒扎伊尔株的基质蛋白VP40(例如,UniProtKB-Q05128(VP40_EBOZM))或埃博拉病毒苏丹株的基质蛋白(例如,UniProtKB-Q7T9D9(VGP_EBOSU));拉沙病毒,例如Z蛋白(例如UniProtKB-073557(Z_LASSJ));寨卡病毒,例如,非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒,例如,马尔堡病毒糖蛋白(Genebank登记号AFV31202.1)、马尔堡VP40基质蛋白(Genebank登记号JX458834);疟原虫属寄生虫,例如恶性疟原虫,诸如环子孢子蛋白(CSP)、雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原)、细胞穿越所必需的子孢子微线蛋白(SPECT2)或GTP结合蛋白、推定抗原(Genebank登记号PF3D7_1462300);人免疫缺陷病毒,例如Env蛋白,例如gp41、gp120、gp160、Gag蛋白、MA、CA、SP1、NC、SP2、P6或Pol蛋白RT、核糖核酸酶H、IN、PR。

[0204] 在替代实施方案中,rMVA病毒构建体以合并疫苗接种方案的治疗方式向有需要的受试者,例如人施用,例如以治疗癌症。因此,rMVA病毒构建体可与一种或多种旨在诱导对于抗原靶标的免疫应答的抗原协同施用,以便在有需要的受试者中诱导部分或完全免疫。

[0205] 用于癌症免疫治疗的抗原通常基于对肿瘤细胞的独特性、与正常细胞相比在肿瘤细胞中的更高表达或具有抗原表达的正常细胞受到不利影响而不显著损害正常细胞或组织的能力而有意选择的。肿瘤相关抗原(TAA)可大致分为癌胚胎抗原(通常仅在胚胎组织和癌性体细胞中表达)、癌病毒抗原(由致瘤转化病毒编码)、过度表达/积累的抗原(由正常组织和肿瘤组织两者表达,在肿瘤形成中表达水平显著升高)、癌-睾丸抗原(仅由癌细胞和成人生殖组织例如睾丸和胎盘表达)、谱系限制性抗原(主要由单一癌症组织类型表达)、突变的抗原(仅由基因突变或转录改变引起的癌症表达)、翻译后改变的抗原(与肿瘤相关的糖基化改变等)或独特型抗原(高度多态性基因,其中肿瘤细胞表达特定的"克隆型",即,如克隆异常引起的B细胞、T细胞淋巴瘤/白血病中)。尽管TAA优先由肿瘤细胞表达,但其通常在正常组织中发现。然而,它们的表达与正常组织的不同之处在于其在肿瘤中的表达程度、与正常对应物相比其蛋白质结构的改变或其在恶性或肿瘤细胞内的异常亚细胞定位。

[0206] 癌胚胎肿瘤相关抗原的实例包括癌胚抗原(CEA)、未成熟层粘连蛋白受体和肿瘤相关糖蛋白(TAG)72。过度表达/积累抗原的实例包括BING-4、钙激活的氯通道(CLCA)2、细胞周期蛋白A_1、细胞周期蛋白B_1、9D7、上皮细胞粘附分子(Ep-Cam)、EphA3、Her2/neu、端粒酶、间皮素、孤儿酪氨酸激酶受体(ROR1)、胃癌相关蛋白酪氨酸磷酸酶1(SAP-1)和生存素。

[0207] 癌症-睾丸抗原的实例包括b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT 10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2。谱系限制性肿瘤抗原的实例包括T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前

列腺特异性抗原。

[0208] 突变肿瘤抗原的实例包括β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras和TGF-βRII。翻译后改变的肿瘤抗原的实例是粘蛋白(MUC)1。独特型肿瘤抗原的实例包括免疫球蛋白(Ig)和T细胞受体(TCR)。

[0209] 在一些实施方案中,与疾病或病症相关的抗原选自CD19、CD20、CD22、乙型肝炎表面抗原、抗叶酸受体、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、EGFR、EGP-2、EGP-4、OEPHa2、ErbB2、3或4、FBP、胎儿乙酰胆碱受体、HMW-MAA、IL-22R-α、IL-13R-α、kdr、κ轻链、Lewis Y、MUC16(CA-125)、PSCA、NKG2D配体、癌胚抗原、VEGF-R2、PSMA、雌激素受体、孕激素受体、ephrinB2、CD123、CS-1、c-Met和/或生物素化分子,和/或由HIV、HCV、HBV或其他病原体表达的分子。

[0210] 示例性肿瘤抗原至少包括以下:对于肠癌的癌胚抗原(CEA);对于卵巢癌的CA-125;对于乳腺癌的MUC1或上皮性肿瘤抗原(ETA)或CA15-3;对于恶性黑色素瘤的酪氨酸酶或黑色素瘤相关抗原(MAGE);以及对于多种类型肿瘤的ras、p53的异常产物;对于肝细胞瘤、卵巢癌或睾丸癌的甲胎蛋白;患有睾丸癌的男性的hCG的β亚基;对于前列腺癌的前列腺特异性抗原;对于多发性骨髓瘤和某些淋巴瘤的β2微球蛋白;对于结肠直肠癌、胆管癌和胰腺癌的CA19-9;对于肺癌和前列腺癌的嗜铬粒蛋白A;用于黑色素瘤、软组织肉瘤及乳腺癌、结肠癌和肺癌的TA90。TAA的实例在本领域中是已知的,例如在N.Vigneron,“Human Tumor Antigens and Cancer Immunotherapy,”BioMed Research International,第2015卷,文章ID 948501,第17页,2015.doi:10.1155/2015/948501;Ilyas等人,J Immunol.(2015)12月1日;195(11):5117-5122;Coulie等人,Nature Reviews Cancer(2014)第14卷,第135-146页;Cheever等人,Clin Cancer Res.(2009)9月1日;15(17):5323-37,其全部内容通过引用并入本文。

[0211] 肿瘤病毒TAA的实例包括人乳头瘤病毒(HPV)LI、E6和E7、爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)爱泼斯坦-巴尔核抗原(EBNA)1和2、EBV病毒衣壳抗原(VCA)Igm或IgG、EBV早期抗原(EA)、潜膜蛋白(LMP)1和2、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙型戊型肝炎e抗原(HBeAg)、乙型肝炎核心抗原(HBcAg)、乙型肝炎x抗原(HBxAg)、丙型肝炎核心抗原(HCV核心Ag)、人嗜T淋巴细胞病毒1型核心抗原(HTLV-1核心抗原、HTLV-1Tax抗原、HTLV-1组特异性(Gag)抗原、HTLV-1包膜(Env)、HTLV-1蛋白酶抗原(Pro)、HTLV-1Tof、HTLV-1Rof、HTLV-1聚合酶(Pro)抗原、人嗜T-淋巴细胞病毒2型核心抗原(HTLV-2核心抗原)、HTLV-2Tax抗原、HTLV-2组特异性(Gag)抗原、HTLV-2包膜(Env)、HTLV-2蛋白酶抗原(Pro)、HTLV-2Tof、HTLV-2Rof、HTLV-2聚合酶(Pro)抗原、潜伏相关核抗原(LANA)、人疱疹病毒-8(HHV-8)K8.1、默克尔细胞多瘤病毒大T抗原(LTAg)和默克尔细胞多瘤病毒小T抗原(sTAg)。

[0212] 某些类型的糖脂(例如神经节苷脂)的表达升高与促进某些类型癌症的肿瘤存活相关。神经节苷脂的实例包括,例如,GM1b、GD1c、GM3、GM2、GM1a、GD1a、GT1a、GD3、GD2、GD1b、GT1b、GQ1b、GT3、GT2、GT1c、GQ1c和GP1c。神经节苷脂衍生物的实例包括,例如,9-O-Ac-GD3、9-O-Ac-GD2、5-N-de-GM3、N-乙醇酰基GM3、NeuGcGM3和岩藻糖基-GM1。通常以较高水平存在于肿瘤,例如黑色素瘤、小细胞肺癌、肉瘤和神经母细胞瘤中的示例性神经节苷脂包括GD3、GM2和GD2。

[0213] 除了上述TAA之外,另一TAA类别是肿瘤特异性新抗原,其通过改变氨基酸编码序列的突变(非同义体细胞突变)产生。这些突变肽中的一些可以在细胞表面上表达、加工和呈递,并随后被T细胞识别。由于正常组织不具有这些体细胞突变,新抗原特异性T细胞不受中枢和外周耐受的影响,也缺乏诱导正常组织破坏的能力。参见,例如,Lu&Robins,Cancer Immunotherapy Targeting Neoantigens,Seminars in Immunology,第28卷,第1期,2016年2月,第22-27页,通过引入并入本文。

[0214] 在一些实施方案中,TAA对选自癌胚抗原(CEA)、未成熟层粘连蛋白受体、孤儿酪氨酸激酶受体(ROR1)和肿瘤相关糖蛋白(TAG)72的癌胚TAA具有特异性。

[0215] 在一些实施方案中,TAA对选自人乳头瘤病毒(HPV)E6和E7、爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)爱泼斯坦-巴尔核抗原(EBNA)1和2、潜膜蛋白(LMP)1和LMP2的肿瘤病毒TAA具有特异性。

[0216] 在一些实施方案中,TAA对选自BING-4、钙激活的氯通道(CLCA)2、细胞周期蛋白A_1、细胞周期蛋白B_1、9D7、上皮细胞粘附分子(Ep-Cam)、EphA3、Her2/neu、L1细胞粘附分子(L1-Cam)、端粒酶、间皮素、胃癌相关蛋白酪氨酸磷酸酶1(SAP-1)和生存素的过度表达/积累的TAA具有特异性。

[0217] 在一些实施方案中,TAA对选自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、皮肤T细胞淋巴瘤相关抗原家族(cTAGE)、白细胞介素-13受体亚基α-1(IL13RA)、CT9、推定肿瘤抗原NA88-A、亮氨酸拉链蛋白4(LUZP4)、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、解旋酶抗原(HAGE)、脂肪酶I(LIPI)、肿瘤中优选表达的黑色素瘤抗原(PRAME)、滑膜肉瘤X(SSX)家族、染色体X上与核相关的精子蛋白(SPANX)家族、癌症/睾丸抗原2(CTAG2)、钙结合酪氨酸磷酸化调节纤维鞘蛋白(CABYR)、顶体蛋白结合蛋白(ACRBP)、中心体蛋白55(CEP55)和联会复合体蛋白1(SYCP1)的癌症-睾丸抗原具有特异性。

[0218] 在一些实施方案中,TAA对选自T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸酶、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原的谱系限制性肿瘤抗原具有特异性。

[0219] 在一些实施方案中,TAA对选自β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、MART-2、p53、Ras、TGF-βRII和截短的上皮生长因子(tEGFR)的突变TAA具有特异性。

[0220] 在一些实施方案中,TAA对翻译后改变的TAA粘蛋白(MUC)1具有特异性。

[0221] 在一些实施方案中,TAA对选自免疫球蛋白(Ig)和T细胞受体(TCR)的独特型TAA具有特异性。

[0222] 在一些实施方案中,TAA对BCMA具有特异性。在一些实施方案中,至少一个T细胞亚群对BCMA具有特异性。

[0223] 在一些实施方案中,TAA对CS1具有特异性。

[0224] 在一些实施方案中,TAA对XBP-1具有特异性。

[0225] 在一些实施方案中,TAA对CD138具有特异性。

[0226] 在一些实施方案中,TAA对WT1、PRAME、生存素、NY-ESO-1、MAGE-A3、MAGE-A4、Pr3、细胞周期蛋白A1、SSX2、中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)、HPV E6.HPV E7、EBV LMP1、EBV LMP2、

EBV EBNA1或EBV EBNA2具有特异性。

[0227] 除了上述TAA之外,另一TAA种类是肿瘤特异性新抗原,其通过改变氨基酸编码序列的突变(非同义体细胞突变)产生。这些突变肽中的一些可以在细胞表面上表达、加工和呈递,并随后被T细胞识别。由于正常组织不具有这些体细胞突变,新抗原特异性T细胞不经历中枢和外周耐受,也缺乏诱导正常组织破坏的能力。参见,例如,Lu&Robins,Cancer Immunotherapy Targeting Neoantigens,Seminars in Immunology,第28卷,第1期,2016年2月,第22-27页,通过引入并入本文。

[0228] 在具体实施方案中,TAA源自粘蛋白1(MUC1)(UniProtKB-P15941(MUC1_HUMAN))。在一些实施方案中,TAA源自细胞周期蛋白B1(UniProtKB-P14635(CCNB1_HUMAN))。

[0229] rMVA病毒载体

[0230] 如本文提供的是包含编码能够从细胞分泌的免疫检查点抑制剂的异源核酸插入物的rMVA病毒载体。

[0231] 在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码多肽的异源核酸插入物,其中该多肽包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂)$_x$,其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中M=甲硫氨酸。

[0232] 在一些实施方案中,rMVA病毒载体包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物,其中该多肽包含串联重复序列(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$,其中x=2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸(参见,例如,图1A-1B)。

[0233] 在一些实施方案中,本文提供了一种rMVA病毒载体,其包含编码串联重复序列的一种或多种多肽和融合至串联重复序列中最后一个多肽的C-末端的附加多肽的异源多顺反子核酸插入物((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸(参见,例如,图2A-2B)。在具体实施方案中,编码的多肽包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$,其中x=2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,或在替代实施方案中((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中M=甲硫氨酸,并且其中分泌信号肽选自具有选自SEQ ID NO:57-90的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID NO:1-56的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽选自具有选自SEQ ID NO:91-127的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,分泌信号肽选自具有选自SEQ ID NO:65和66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID NO:1和5的氨基酸序列的肽,和可裂解肽选自具有选自SEQ ID NO:93-97、120和123-127的氨基酸序列的肽。

[0234] 在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽。

[0235] 在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x=2-10。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x≥4。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸

序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x＝4、5或6。

[0236] 在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽。

[0237] 在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x＝2-10。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x≥4。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x＝4、5或6。

[0238] 在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含下表8的氨基酸的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:309-340或SEQ ID NO:341-348的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:309的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:310的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:3110的氨基酸序列的氨基酸的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:312的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:313的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:314的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:315的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:316的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:317的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:318的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:319的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:320的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:321的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:322的氨基酸序列的多

肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:323的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:324的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:325的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:326的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:327的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:328的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:329的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:330的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:331的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:332的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:333的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:334的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:335的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:336的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:337的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:338的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:339的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:340的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:341的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:342的氨基酸序列的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:343的氨基酸序列的多肽,或具有与其至

少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中，多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:344的氨基酸序列的多肽，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中，多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:345的氨基酸序列的多肽，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中，多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:346的氨基酸序列的多肽，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中，多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:347的氨基酸序列的多肽，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中，多顺反子核酸插入物编码包含选自SEQ ID NO:348的氨基酸序列的多肽，或具有与其至少85％、90％、95％、97％或99％相同的氨基酸序列的多肽。

[0239] 表8-rMVA病毒载体

[0240]

SEQ ID NO:	序列描述	编码的多肽
309	(M)(tPA+LD01+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
310	(M)(tPA+LD01+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
311	(M)(tPA+LD01+RKRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
312	(M)(tPA+LD01+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
313	(M)(tPA+LD10+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
314	(M)(tPA+LD10+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
315	(M)(tPA+LD10+RKRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
316	(M)(tPA+LD10+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
317	(M)(tPA+LD01+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD01)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
318	(M)(tPA+LD01+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD01)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
319	(M)(tPA+LD01+RKRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD01)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。

[0241]

320	(M)(tPA+LD01+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD01)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
321	(M)(tPA+LD10+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD10)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
322	(M)(tPA+LD10+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD10)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
323	(M)(tPA+LD10+RKRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD10)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
324	(M)(tPA+LD10+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD10)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
325	(M)(tPA+LD01+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
326	(M)(tPA+LD01+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
327	(M)(tPA+LD01+RKRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
328	(M)(tPA+LD01+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
329	(M)(tPA+LD01+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)4(tPA+LD01)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ

[0242]

330	(M)(tPA+LD01+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)4(tPA+LD01)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRV NITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLC GAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGA TNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRR GARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENP GPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLL CGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
331	(M)(tPA+LD01+RKRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)4(tPA+LD01)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRV NITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLC GAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGA TNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRR GARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENP GPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLL CGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
332	(M)(tPA+LD01+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)4(tPA+LD01)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRV NITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLC GAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGA TNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRR GARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENP GPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLL CGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
333	(M)(tPA+LD10+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITA PLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQ AGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQI STLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCC VLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARF RRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
334	(M)(tPA+LD10+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITA PLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQ AGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQI STLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCC VLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARF RRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
335	(M)(tPA+LD10+RKRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITA PLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQ AGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQI STLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCC VLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARF RRGARSTGOISTLRVNITAPLSORKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
336	(M)(tPA+LD10+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITA PLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQ AGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQI STLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCC VLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARF RRGARSTGOISTLRVNITAPLSORRKRGSGATNFSLLKOAGDVEENPGP

[0243]

337	(M)(tPA+LD10+RAKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_4$(tPA+LD10)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
338	(M)(tPA+LD10+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_4$(tPA+LD10)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
339	(M)(tPA+LD10+RRRR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)4(tPA+LD10)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKRRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
340	(M)(tPA+LD10+RRKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)4(tPA+LD10)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRRKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ
341	(M)(tPA+LD01+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列) x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
342	(M)(tPA+LD10+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x, 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
343	(M)(tPA+LD01+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD01)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
344	(M)(tPA+LD10+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)x(tPA+LD10)	(M)(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP)x(DAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ), 其中 x=2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多。
345	(M)(tPA+LD01+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

[0244]

346	(M)(tPA+LD10+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_5$	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITA PLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQ AGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQI STLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCC VLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARF RRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
347	(M)(tPA+LD01+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)4(tPA+LD01)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRV NITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLC GAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGA TNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRR GARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENP GPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLR VNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLL CGAVFVSPSQEIHARFRRGARCRRTSTGQISTLRVNITAPLSQ
348	(M)(tPA+LD10+RKKR可裂解序列+2A/2A-样裂解序列)$_4$(tPA+LD10)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITA PLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVF VSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQ AGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQI STLRVNITAPLSQRKKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCC VLLLCGAVFVSPSQEIHARFRRGARSTGQISTLRVNITAPLSQRKKRGSG ATNFSLLKQAGDVEENPGPDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPSQEIHARF RRGARSTGQISTLRVNITAPLSQ

[0245] 如本文所提供的,编码本文所述的免疫检查点抑制多肽的多顺反子核酸插入物可插入到MVA基因组中的任何合适位置,例如,天然缺失位点、修饰的天然缺失位点、非必需的MVA基因(例如MVA胸苷激酶基因座)或必需或非必需的MVA基因之间的基因间区域。合适的插入位点已描述于例如美国专利号6,998,252、美国专利号9,133,478、Ober等人,Immunogenicity and safety of defective vaccinia virus lister:comparison with modified vaccinia virus Ankara.J.Virol.,2002年8月(第7713-7723页)、美国专利号9,133,480、美国专利号8,288,125,其各自通过引用并入本文。

[0246] 在一些实施方案中,将编码如本文所述的免疫检查点抑制多肽的多顺反子核酸插入物可以插入到天然缺失位点(例如选自天然缺失位点I、II、III、IV、V或VI的缺失位点)、修饰的天然缺失位点(例如改组和修饰的缺失III位点),在MVA基因A5OR和B1R之间(参见,例如,美国9,133,480)、在非必需的MVA基因之间、在必需的MVA基因(例如I8R和GIL或A5R和A6L)之间或其他合适的插入位点,在非必需的基因座中,例如在MVA TK基因座中,或其组合。

[0247] 在替代实施方案中,本发明的rMVA病毒载体除了能够表达多种免疫检查点抑制肽之外,可以进一步被构建为编码和表达一种或多种抗原肽。一种或多种抗原肽可以在一个或多个单独的核酸插入物上编码,或者在替代实施方案中,一种或多种抗原肽在与多个免疫检查点抑制剂肽相同的多顺反子核酸插入物上编码。

[0248] 在一些实施方案中,本文提供的是包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物的rMVA病毒载体,其中多肽包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(抗原肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,抗原肽包含在含有融合至抗原肽的N-末端的分泌信号肽的嵌合多肽中,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸(参见,例如,图4A-4B)。在一些实施方案中,还提供了抗原肽,使得在多顺反子核酸插入物中编码2个或更多个抗原肽,其中每个嵌合多肽由本文所述的可裂解肽分隔。在一些实施方案中,抗原肽包含在含有融合至抗原肽的N-末端的分泌信号肽和融合至抗原肽的C-末端的可裂解肽的嵌合多肽中,例如((M)(分泌信号肽-

免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_y$),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,融合至最后一个含抗原的嵌合多肽的C-末端的含抗原的嵌合多肽不包括可裂解序列,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,包含在含有融合至抗原肽的N-末端的分泌信号肽和融合至抗原肽的C-末端的可裂解肽的嵌合多肽中的抗原肽可在多顺反子核酸插入物中定向,使得含抗原的嵌合多肽的编码核酸位于含免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽的5'侧,例如((M)(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$)或可选地((M)(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。

[0249] 在一些实施方案中,抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素的肽,或可选地,肿瘤相关抗原,或源自如上标题"抗原靶标"的部分中所述的试剂的抗原,其明确并入本部分中。

[0250] 在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含下表9的抗原氨基酸的多肽,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,多顺反子核酸插入物编码包含源自选自SEQ ID NO:349-396、398、400、402或405的氨基酸序列的氨基酸或其片段的抗原,或具有与其至少85%、90%、95%、97%或99%相同的氨基酸序列的多肽。

[0251] 表9-抗原肽

[0252]

SEQ ID NO:	抗原	氨基酸序列
349	人粘蛋白 1	TPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEK NAVSMTSSVLSSHSPGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVT SVPVTRPALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHG VTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSAS GSASTLVHNGTSARATTTPASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASS THHSTVPPLTSSNHSTSPQLSTGVSFFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQ ELQRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHD VETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVPFPFSAQSGAGV
350	细胞周期蛋白 B1	LPGMALRVTRNSKINAENKAKINMAGAKRVPTAPAATSKPGLRPRTA LGDIGNKVSEQLQAKMPMKKEAKPSATGKVIDKKLPKPLEKVPMLVP VPVSEPVPEPEPEPEPEPVKEEKLSPEPILVDTASPSPMETSGCAPAEEDL CQAFSDVILAVNDVDAEDGADPNLCSEYVKDIYAYLRQLEEEQAVRP KYLLGREVTGNMRAILIDWLVQVQMKFRLLQETMYMTVSIIDRFMQN NCVPKKMLQLVGVTAMFIASKYEEMYPPEIGDFAFVTDNTYTKHQIRQ MEMKILRALNFGLGRPLPLHFLRRASKIGEVDVEQHTLAKYLMELTML DYDMVHFPPSQIAAGAFCLALKILDNGEWTPTLQHYLSYTEESLLPVM QHLAKNVVMVNQGLTKHMTVKNKYATSKHAKISTLPQLNSALVQDL AKAVAKV
351	HBV PresS2	QWNSTTFHQTLQDPRVRGLYFPAGGSSSGAVNPVPTTASPLSSIFSRIG DPALNMENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGG TTVCLGQNSQSPTSNHSPTSCPPTCPGYRWMCLRRFIIFLFILLLCLIFLL VLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCMTTAQGTSMYPSCCCTKPS DGNCTCIPIPSSWAFGKFLWEWASARFSWLSLLVPFVQWFVGLSPTVW LSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPIFFCLWVYI
352	HBV Pre 核心/核心	HLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGATVELLSFLPS DFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLA TWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVIE YLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRR SQSPRRRRSQSREPQC

[0253]

353	HBV 截短 X 基因产物	AARLCCQLDPARDVLCLRPVGAESCGRPFSGSLETLSSPSPSAVPTDHG AHLSLRGLPAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEEIRLKVFVLGGCRHK LVCAPAPCTFFTSA
354	HBV PreS、HA（嵌合融合体，包括流感 HA 的信号肽、preS 和流感 HA 跨膜/胞质结构域）	EAKLFVLFCAFTALKAMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPD WDFNPIKDHWPAANQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVST IPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQDPRVRGL YLPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTNKLESVGVHQILAIYS TVASSLVLLVSLGAISFWMCSNGSLQCRICI
355	疟原虫属 CSP	ARPGMMRKLAILSVSSFLFVEALFQEYQCYGSSSNTRVLNELNYDNAG TNLYNELEMNYYGKQENWYSLKKNSRSLGENDDGNNEDNEKLRKPK HKKLKQPADGNPDPGGGSNKNNQGNGQGHNMPNDPNRNVDENANA NSAVKNNNNEEPSDKHIKEYLNKIQNSLSTEWSPCSVTCGNGIQVRIKP GSANKPKDELDYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVNS
356	疟原虫属 CSP CSP21R (21 个重复)	PIPGMMRKLAILSVSSFLFVEALFQEYQCYGSSSNTRVLNELNYDNAGT NLYNELEMNYYGKQENWYSLKKNSRSLGENDDGNNEDNEKLRKPKH KKLKQPADGNPDPNANPNVDPNANPNVDPNANPNVDPNANPNANPN ANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNANPNAN PNANPNANPNANPNVDPNANPNKNNQGNGQGHNMPNDPNRNVDEN ANANSAVKNNNNEEPSDKHIKEYLNKIQNSLSTEWSPCSVTCGNGIQV RIKPGSANKPKDELDYANDIEKKICKMEKCSSVFNVVNS
357	疟原虫属 Pfs230	PGATMSVLQSGALPSVGVDELDKIDLSYETTESGDTAVSEDSYDKYAS NNTNKEYVCDFTDQLKPTESGPKVKKCEVKVNEPLIKVKIICPLKGSVE KLYDNIEYVPKKSPYVVLTKEETKLKEKLLSKLIYGLLISPTVNEKENN FKEGVIEFTLPPVVHKATVFYFICDNSKTEDDNKKGNRGIVEVYVEPY GNKING
358	人粘蛋白-I 胞外结构域片段	AHGVTSAPDTRPAPGSTAPP
359	人粘蛋白-I 胞外结构域片段	AHGVTSAPDNRPALGSTAPP
360	人粘蛋白-I 胞外结构域片段	AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNRPALGSTAPP
361	人粘蛋白-I 胞外结构域片段	AHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAP DTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNRPALGST APP
362	人粘蛋白-I 胞内结构域片段	RRKNYGQLDIFPARDTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSA GNGGSSLSYTNPAVAATSANL
363	人粘蛋白-I 1 串联重复序列	TPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEK NAVSMTSSVLSSHSPGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVT SVPVTRPALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPIAHGVTSAPDTRPA PGSTAPAAHGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSASGSASTLVHN GTSARATTTPASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTHHSTVPPLT SSNHSTSPQLSTGVSFFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMF LQIYKQGGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKT EAASRYNLTISDVSVSDVPFPFSAQSGAGVPGWGIALLVLVCVLVALAI VYLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPARDTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSS TDRSPYEKVSAGNGGSSLS YTNPAVAATSANL
364	人粘蛋白-I 4 串联重复序列	TPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEK NAVSMTSSVLSSHSPGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVT SVPVTRPALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAP GSTPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGV TSAPDTRPAPGSTAPPHGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTSASGSASGS ASTLVHNGTSARATTTPASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTH HSTVPPLTSSNHSTSPQLSTGVSFFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQEL QRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVE TQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVPFPFSAQSGAGVPGWGIALLVL VCVLVALAIVYLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPARDTYHPMSEYPTYHT HGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSSLSYTNPAVAATSANL

[0254]

365	拉沙病毒糖蛋白	GQIVTFFQEVPHVIEEVMNIVLIALSVLAVLKGLYNFATCGLVGLVTFL LLCGRSCTTSLYKGVYELQTLELNMETLNMTMPLSCTKNNSHHYIMV GNETGLELTLTNTSIINHKFCNLSDAHKKNLYDHALMSIISTFHLSIPNF NQYEAMSCDFNGGKISVQYNLSHSYAGDAANHCGTVANGVLQTFMR MAWGGSYIALDSGRGNWDCIMTSYQYLIIQNTTWEDHCQFSRPSPIGY LGLLSQRTRDIYISRRLLGTFTWTLSDSEGKDTPGGYCLTRWMLIEAEL KCFGNTAVAKCNEKHDEEFCDMLRLFDFNKQAIQRLKAEAQMSIQLIN KAVNALINDQLIMKNHLRDIMGIPYCNYSKYWYLNHTTTGRTSLPKC WLVSNGSYLNETHFSDDIEQQADNMITEMLQKEYMERQGKTPLGLVD LFVFSTSFYLISIFLHLVKIPTHRHIVGKSCPKPHRLNHMGICSCGLYKQP GVPVKWKR
366	拉沙病毒 Z 蛋白	GNKQAKAPESKDSPRASLIPDATHLGPQFCKSCWFENKGLVECNNHYL CLNCLTLLLSVSNRCPICKMPLPTKLRPSAAPTAPPTGAADSIRPPPYSP
367	埃博拉病毒糖蛋白	GVTGILQLPRDRFKRTSFFLWVIILFQRTFSIPLGVIHNSTLQVSDVDKL VCRDKLSSTNQLRSVGLNLEGNGVATDVPSVTKRWGFRSGVPPKVVN YEAGEWAENCYNLEIKKPDGSECLPAAPDGIRGFPRCRYVHKVSGTGP CAGDFAFHKEGAFFLYDRLASTVIYRGTTFAEGVVAFLILPQAKKDFFS SHPLREPVNATEDPSSGYYSTTIRYQATGFGTNETEYLFEVDNLTYVQL ESRFTPQFLLQLNETIYASGKRSNTTGKLIWKVNPEIDTTIGEWAFWET KKNLTRKIRSEELSFTAVSNGPKNISGQSPARTSSDPETNTTNEDHKIM ASENSSAMVQVHSQGRKAAVSHLTTLATISTSPQPPTTKTGPDNSTHN TPVYKLDISEATQVGQHHRRADNDSTASDTPPATTAAGPLKAENTNTS KSADSLDLATTTSPQNYSETAGNNNTHHQDTGEESASSGKLGLITNTIA GVAGLITGGRRTRREVIVNAQPKCNPNLHYWTTQDEGAAIGLAWIPYF GPAAEGIYTEGLMHNQDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSI LNRKAIDFLLQRWGGTCHILGPDCCIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDK TLPDQGDNDNWWTGWRQWIPAGIGVTGVIIAVIALFCICKFVF
368	埃博拉病毒 VP40 蛋白	RRVILPTAPPEYMEAIYPARSNSTIARGGNSNTGFLTPESVNGDTPSNPL RPIADDTIDHASHTPGSVSSAFILEAMVNVISGPKVLMKQIPIWLPLGVA DQKTYSFDSTTAAIMLASYTITHFGKATNPLVRVNRLGPGIPDHPLRLL RIGNQAFLQEFVLPPVQLPQYFTFDLTALKLITQPLPAATWTDDTPTGS NGALRPGISFHPKLRPILLPNKSGKKGNSADLTSPEKIQAIMTSLQDFKI VPIDPTKNIMGIEVPETLVHKLTGKKVTSKNGQPIIPVLLPKYIGLDPVA PGDLTMVITQDCDTCHSPASLPAVVEK

[0255]

369	寨卡病毒-寨卡天然多蛋白序列，来自Genebank (ALX35659)	KNPKKKSGGFRIVNMLKRGVARVSPFGGLKRLPAGLLLGHGPIRMVL AILAFLRFTAIKPSLGLINRWGSVGKKEAMEIIKKFKKDLAAMLRIINAR KEKKRRGADTSVGIVGLLLTTAMAAEVTRRGSAYYMYLDRNDAGEAI SFPTTLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCN TTSTWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESRE YTKHLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILLIAPA YSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVLEHGGCVTVMAQDKPTVDIEL VTTTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQGEAYLDKQSDTQYVC KRTLVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSIQPENLEYRI MLSVHGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGFGSLG LDCEPRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGT PHWNNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMD GAKGRLSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTV TVEVQYAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLTPVGRLITANPVITESTENSK MMLELDPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGAKRM AVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIFGAAFKSLFGGMSWFSQILIG TLLMWLGLNAKNGSISLMCLALGGVLIFLSTAVSADVGCSVDFSKKET RCGTGVFVYNDVEAWRDRYKYHPDSPRRLAAAVKQAWEDGICGISS VSRMENIMWRSVEGELNAILEENGVQLTVVVGSVKNPMWRGPQRLP VPVNELPHGWKAWGKSYFVRAAKTNNSFVVDGDTLKECPLKHRAW NSFLVEDHGFGVFHTSVWLKVREDYSLECDPAVIGTAVKGKEAVHSD LGYWIESEKNDTWRLKRAHLIEMKTCEWPKSHTLWTDGIEESDLIIPKS LAGPLSHHNTREGYRTQMKGPWHSEELEIRFEECPGTKVHVEETCGTR GPSLRSTTASGRVIEEWCCRECTMPPLSFRAKDGCWYGMEIRPRKEPE SNLVRSMVTAGSTDHMDHFSLGVLVILLMVQEGLKKRMTTKIIISTSM AVLVAMILGGFSMSDLAKLAILMGATFAEMNTGGDVAHLALIAAFKV RPALLVSFIFRANWTPRESMLLALASCLLQTAISALEGDLMVLINGFAL AWLAIRAMVVPRTDNITLAILAALTPLARGTLLVAWRAGLATCGGFM LLSLKGKGSVKKNLPFVMALGLTAVRLVDPINVVGLLLLTRSGKRSWP PSEVLTAVGLICALAGGFAKADIEMAGPMAAVGLLIVSYVVSGKSVD MYIERAGDITWEKDAEVTGNSPRLDVALDESGDFSLVEDDGPPMREIIL KVVLMTICGMNPIAIPFAAGAWYVYVKTGKRSGALWDVPAPKEVKK GETTDGVYRVMTRRLLGSTQVGVGVMQEGVFHTMWHVTKGSALRS GEGRLDPYWGDVKQDLVSYCGPWKLDAAWDGHSEVQLLAVPPGER ARNIQTLPGIFKTKDGDIGAVALDYPAGTSGSPILDKCGRVIGLYGNGV VIKNGSYVSAITQGRREEETPVECFEPSMLKKKQLTVLDLHPGAGKTR RVLPEIVREAIKTRLRTVILAPTRVVAAEMEEALRGLPVRYMTTAVNV THSGTEIVDLMCHATFTSRLLQPIRVPNYNLYIMDEAHFTDPSSIAARG YISTRVEMGEAAAIFMTATPPGTRDAFPDSNSPIMDTEVEVPERAWSSG FDWVTDHSGKTVWFVPSVRNGNEIAACLTKAGKRVIQLSRKTFETEFQ KTKHQEWDFVVTTDISEMGANFKADRVIDSRRCLKPVILDGERVILAG PMPVTHASAAQRRGRIGRNPNKPGDEYLYGGGCAETDEDHAHWLEA RMLLDNIYLQDGLIASLYRPEADKVAAIEGEFKLRTEQRKTFVELMKR GDLPVWLAYQVASAGITYTDRRWCFDGTTNNTIMEDSVPAEVWTRH GEKRVLKPRWMDARVCSDHAALKSFKEFAAGKRGAAFGVMEALGTL PGHMTERFQEAIDNLAVLMRAETGSRPYKAAAAQLPETLETIMLLGLL GTVSLGIFFVLMRNKGIGKMGFGMVTLGASAWLMWLSEIEPARIACV LIVVFLLLVVLIPEPEKQRSPQDNQMAIIIMVAVGLLGLITANELGWLER TKSDLSHLMGRREEGATIGFSMDIDLRPASAWAIYAALTTFITPAVQHA VTTSYNNYSLMAMATQAGVLFGMGKGMPFYAWDFGVPLLMIGCYSQ LTPLTLIVAIILLVAHYMYLIPGLQAAAARAAQKRTAAGIMKNPVVDGI

[0256]

		VVTDIDTMTIDPQVEKKMGQVLLIAVAVSSAILSRTAWGWGEAGALIT AATSTLWEGSPNKYWNSSTATSLCNIFRGSYLAGASLIYTVTRNAGLV KRRGGGTGETLGEKWKARLNQMSALEFYSYKKSGITEVCREEARRAL KDGVATGGHAVSRGSAKLRWLVERGYLQPYGKVIDLGCGRGGWSYY AATIRKVQEVKGYTKGGPGHEEPVLVQSYGWNIVRLKSGVDVFHMA AEPCDTLLCDIGESSSSPEVEEARTLRVLSMVGDWLEKRPGAFCIKVLC PYTSTMMETLERLQRRYGGGLVRVPLSRNSTHEMYWVSGAKSNTIKS VSTTSQLLLGRMDGPRRPVKYEEDVNLGSGTRAVVSCAEAPNMKIIGN RIERIRSEHAETWFFDENHPYRTWAYHGSYEAPTQGSASSLINGVVRLL SKPWDVVTGVTGIAMTDTTPYGQQRVFKEKVDTRVPDPQEGTRQVM SMVSSWLWKELGKHKRPRVCTKEEFINKVRSNAALGAIFEEEKEWKT AVEAVNDPRFWALVDKEREHHLRGECQSCVYNMMGKREKKQGEFG KAKGSRAIWYMWLGARFLEFEALGFLNEDHWMGRENSGGGVEGLGL QRLGYVLEEMSRIPGGRMYADDTAGWDTRISRFDLENEALITNQMEK GHRALALAIIKYTYQNKVVKVLRPAEKGKTVMDIISRQDQRGSGQVV TYALNTFTNLVVQLIRNMEAEEVLEMQDLWLLRRSEKVTNWLQSNG WDRLKRMAVSGDDCVVKPIDDRFAHALRFLNDMGKVRKDTQEWKPS TGWDNWEEVPFCSHHFNKLHLKDGRSIVVPCRHQDELIGRARVSPGA GWSIRETACLAKSYAQMWQLLYFHRRDLRLMANAICSSVPVDWVPT GRTTWSIHGKGEWMTTEDMLVVWNRVWIEENDHMEDKTPVTKWTD IPYLGKREDLWCGSLIGHRPRTTWAENIKNTVNMVRRIIGDEEKYMDY LSTQVRYLGEEGSTPGVL
370	寨卡病毒 - PrM+E	TRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMS YECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVT LPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAW LLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVL EHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDS RCPTQGEAYLDKQSDTQYVCKRTLVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAK FACSKKMTGKSIQPENLEYRIMLSVHGSQHSGMIVNDTGHETDENRAK VEITPNSPRAEATLGGFGSLGLDCEPRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVH KEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWNNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGS QEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYS LCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLT PVGRLITANPVITESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHR SGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIF GAAFKSLFGGMSWFSQILIGTLLMWLGLNAKNGSISLMCLALGGVLIF LSTAVSA
371	寨卡病毒 - JEV 信号	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGA
372	寨卡病毒-JEV 信号+PrM+E	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGATRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPT TLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTS TWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTK HLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIR CIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVLEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTT VSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQGEAYLDKQSDTQYVCKRTL VDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSIQPENLEYRIMLSV HGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGFGSLGLDCE PRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWN NKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGR LSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQ YAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLTPVGRLITANPVITESTENSKMMLEL DPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGD TAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIFGAAFKSLFGGMSWFSQILIGTLLMW LGLNAKNGSISLMCLALGGVLIFLSTAVSA
373	寨卡病毒-全长寨卡病毒 NS1 蛋白序列	VGCSVDFSKKETRCGTGVFVYNDVEAWRDRYKYHPDSPRRLAAAVK QAWEDGICGISSVSRMENIMWRSVEGELNAILEENGVQLTVVVGSVK NPMWRGPQRLPVPVNELPHGWKAWGKSYFVRAAKTNNSFVVDGDTL KECPLKHRAWNSFLVEDHGFGVFHTSVWLKVREDYSLECDPAVIGTA VKGKEAVHSDLGYWIESEKNDTWRLKRAHLIEMKTCEWPKSHTLWT DGIEESDLIIPKSLAGPLSHHNTREGYRTQMKGPWHSEELEIRFEECPGT KVHVEETCGTRGPSLRSTTASGRVIEEWCCRECTMPPLSFRAKDGCWY GMEIRPRKEPESNLVRSMVTAG

[0257]

374	寨卡病毒-寨卡病毒多蛋白 JEV 信号+prM+E+K643-S644	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGATRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPT TLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTS TWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTK HLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIR CIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVLEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTT VSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQGEAYLDKQSDTQYVCKRTL VDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSIQPENLEYRIMLSV HGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGFGSLGLDCE PRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWN NKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGR LSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQ YAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLTPVGRLITANPVITESTENSKMMLEL DPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGD TAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIFGAAFKSLFGGMSWFSQILIGTLLMW LGLNAKNGSISLMCLALGGVLIFLSTAVSA
375	寨卡病毒-基因产物	GKRSAGSIMWLASLAVVIACAGATRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPT TLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMSYECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTS TWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVTLPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTK HLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAWLLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIR CIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVLEHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTT VSNMAEVRSYCYEASISDMASDSRCPTQGEAYLDKQSDTQYVCKRTL VDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAKFACSKKMTGKSIQPENLEYRIMLSV HGSQHSGMIVNDTGHETDENRAKVEITPNSPRAEATLGGFGSLGLDCE PRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVHKEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWN NKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGSQEGAVHTALAGALEAEMDGAKGR LSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYSLCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQ YAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLTPVGRLITANPVITESTENSKMMLEL DPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHRSGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGD TAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIFGAAFK
376	寨卡病毒-prMsE	TRRGSAYYMYLDRNDAGEAISFPTTLGMNKCYIQIMDLGHTCDATMS YECPMLDEGVEPDDVDCWCNTTSTWVVYGTCHHKKGEARRSRRAVI LPSHSTRKLQTRSQTWLESREYTKHLIRVENWIFRNPGFALAAAAIAW LLGSSTSQKVIYLVMILLIAPAYSIRCIGVSNRDFVEGMSGGTWVDVVL EHGGCVTVMAQDKPTVDIELVTTTVSNMAEVRSYCYEASISDMASDS RCPTQGEAYLDKQSDTQYVCKRTLVDRGWGNGCGLFGKGSLVTCAK FACSKKMTGKSIQPENLEYRIMLSVHGSQHSGMIVNDTGHETDENRAK VEITPNSPRAEATLGGFGSLGLDCEPRTGLDFSDLYYLTMNNKHWLVH KEWFHDIPLPWHAGADTGTPHWNNKEALVEFKDAHAKRQTVVVLGS QEGAVHTALAGALEAEMDGAKGRLSSGHLKCRLKMDKLRLKGVSYS LCTAAFTFTKIPAETLHGTVTVEVQYAGTDGPCKVPAQMAVDMQTLT PVGRLITANPVITESTENSKMMLELDPPFGDSYIVIGVGEKKITHHWHR SGSTIGKAFEATVRGAKRMAVLGDTAWDFGSVGGALNSLGKGIHQIF GAAFK

[0258]

377	SARS-CoV2 全长 S 蛋白	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKS NIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHK NNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVF KNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALH RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCA LDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFN ATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLC FTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFN CYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVK NKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLE ILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPT WRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMT KTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLAD AGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQF NSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSV LNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQE KNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTF VSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDIS GINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWL GFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT
378	SARS-CoV2 全长 S 蛋白-K417T、E484K 和 N501Y	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKS NIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHK NNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVF KNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALH RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCA LDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFN ATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLC FTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGTIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVKGFN CYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVK NKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLE ILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPT WRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMT KTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLAD AGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQF NSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSV LNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQE KNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTF VSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDIS GINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWL GFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT

[0259]

379	SARS-CoV2 全长 S 蛋白-Δ 变体	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSN IIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKN NKSWMESGVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNI DGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSY LTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDP LSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNAT RFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT NVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNL DSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNK CVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILD ITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWR VYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRR ARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKT SVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAG FIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGT ITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNS AIGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLN DILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAAT KMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEK NFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFV SGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISG INASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLG FIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV KLHYT
380	SARS-CoV2 全长 S 蛋白-Δ 变体 plus	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHFSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNI IRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKNN KSWMESGVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNID GYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSVLEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYL TPGDSSSGLTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLS ETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRF ASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNV YADSFVIRGDEVRQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDS KVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPCNGVEGFNCYFP LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKC VNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDI TPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRV YSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRRA RSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTS VDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFA QVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTIT SGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSA IGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLND ILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATK MSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNF TTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSG NCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGIN ASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFI AGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVK LHYT

[0260]

381	SARS-CoV2 全长 S 蛋白-通过 2 个脯氨酸置换稳定的	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKS NIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHK NNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVF KNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALH RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCA LDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFN ATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLC FTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFN CYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVK NKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLE ILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPT WRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMT KTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLAD AGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQF NSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSV LNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAA TKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEK NFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFV SGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISG INASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLG FIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV KLHYT
382	SARS-CoV2 全长稳定 S 蛋白-S417T、E484K 和 N501Y	FVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKS NIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHK NNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVF KNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALH RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCA LDPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFN ATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLC FTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGTIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSN NLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVKGFN CYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVK NKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLE ILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPT WRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMT KTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLAD AGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLA GTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQF NSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSV LNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAA TKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEK NFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFV SGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISG INASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLG FIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGV KLHYT

[0261]

383	SARS-CoV2 全长稳定 S 蛋白 Δ 变体	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSN IIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKN NKSWMESGVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNI DGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSY LTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDP LSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNAT RFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFT NVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNL DSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPCNGVEGFNCY FPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNK CVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILD ITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWR VYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRR ARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKT SVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAG FIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGT ITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNS AIGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLN DILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATK MSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNF TTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSG NCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGIN ASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFI AGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVK LHYT
384	SARS-CoV2 全长稳定 S 蛋白 Δ 变体，plus	FVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS TQDLFLPFFSNVTWFHAIHFSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNI IRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLDVYYHKNN KSWMESGVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNID GYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSVLEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYL TPGDSSSGLTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLS ETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRF ASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNV YADSFVIRGDEVRQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDS KVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSKPCNGVEGFNCYFP LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKC VNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDI TPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHADQLTPTWRV YSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSRRRA RSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTS VDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFA QVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFI KQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTIT SGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSA IGKIQDSLSSTASALGKLQNVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLND ILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKM SECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFT TAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGN CDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINA SVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIA GLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKL HYT
385	SARS-CoV2 E 蛋白氨基酸序列	YSFVSEETGTLIVNSVLLFLAFVVFLLVTLAILTALRLCAYCCNIVNVSL VKPSFYVYSRVKNLNSSRVPDLLV
386	SARS-CoV2 M 蛋白氨基酸序列	ADSNGTITVEELKKLLEQWNLVIGFLFLTWICLLQFAYANRNRFLYIIK LIFLWLLWPVTLACFVLAAVYRINWITGGIAIAMACLVGLMWLSYFIA SFRLFARTRSMWSFNPETNILLNVPLHGTILTRPLLESELVIGAVILRGH LRIAGHHLGRCDIKDLPKEITVATSRTLSYYKLGASQRVAGDSGFAAY SRYRIGNYKLNTDHSSSSDNIALLVQ

[0262]

387	SARS-CoV2 PP1ab 多蛋白氨基酸序列	ESLVPGFNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEVLSEARQHLKDG TCGLVEVEKGVLPQLEQPYVFIKRSDARTAPHGHVMVELVAELEGIQY GRSGETLGVLVPHVGEIPVAYRKVLLRKNGNKGAGGHSYGADLKSFD LGDELGTDPYEDFQENWNTKHSSGVTRELMRELNGGAYTRYVDNNF CGPDGYPLECIKDLLARAGKASCTLSEQLDFIDTKRGVYCCREHEHEIA WYTERSEKSYELQTPFEIKLAKKFDTFNGECPNFVFPLNSIIKTIQPRVE KKKLDGFMGRIRSVYPVASPNECNQMCLSTLMKCDHCGETSWQTGDF VKATCEFCGTENLTKEGATTCGYLPQNAVVKIYCPACHNSEVGPEHSL AEYHNESGLKTILRKGGRTIAFGGCVFSYVGCHNKCAYWVPRASANIG CNHTGVVGEGSEGLNDNLLEILQKEKVNINIVGDFKLNEEIAIILASFSA STSAFVETVKGLDYKAFKQIVESCGNFKVTKGKAKKGAWNIGEQKSIL SPLYAFASEAARVVRSIFSRTLETAQNSVRVLQKAAITILDGISQYSLRLI DAMMFTSDLATNNLVVMAYITGGVVQLTSQWLTNIFGTVYEKLKPVL DWLEEKFKEGVEFLRDGWEIVKFISTCACEIVGGQIVTCAKEIKESVQT FFKLVNKFLALCADSIIIGGAKLKALNLGETFVTHSKGLYRKCVKSREE TGLLMPLKAPKEIIFLEGETLPTEVLTEEVVLKTGDLQPLEQPTSEAVEA PLVGTPVCINGLMLLEIKDTEKYCALAPNMMVTNNTFTLKGGAPTKV TFGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERIDKVLNEKCSAYTVELGTEVNEFA CVVADAVIKTLQPVSELLTPLGIDLDEWSMATYYLFDESGEFKLASHM YCSFYPPDEDEEEGDCEEEEFEPSTQYEYGTEDDYQGKPLEFGATSAAL QPEEEQEEDWLDDDSQQTVGQQDGSEDNQTTTIQTIVEVQPQLEMELT PVVQTIEVNSFSGYLKLTDNVYIKNADIVEEAKKVKPTVVVNAANVYL KHGGGVAGALNKATNNAMQVESDDYIATNGPLKVGGSCVLSGHNLA KHCLHVVGPNVNKGEDIQLLKSAYENFNQHEVLLAPLLSAGIFGADPI HSLRVCVDTVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEKQVEQKIAEIP KEEVKPFITESKPSVEQRKQDDKKIKACVEEVTTTLEETKFLTENLLLYI DINGNLHPDSATLVSDIDITFLKKDAPYIVGDVVQEGVLTAVVIPTKKA GGTTEMLAKALRKVPTDNYITTYPGQGLNGYTVEEAKTVLKKCKSAF YILPSIISNEKQEILGTVSWNLREMLAHAEETRKLMPVCVETKAIVSTIQ RKYKGIKIQEGVVDYGARFYFYTSKTTVASLINTLNDLNETLVTMPLG YVTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAVTAYNGYLTSSSKTPEE HFIETISLAGSYKDWSYSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYTSNPTTFHLDG EVITFDNLKTLLSLREVRTIKVFTTVDNINLHTQVVDMSMTYGQQFGP TYLDGADVTKIKPHNSHEGKTFYVLPNDDTLRVEAFEYYHTTDPSFLG RYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWADNNCYLATALLTLQQIELKFN PPALQDAYYRARAGEAANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMSYLFQH

[0263]

		ANLDSCKRVLNVVCKTCGQQQTTLKGVEAVMYMGTLSYEQFKKGVQ IPCTCGKQATKYLVQQESPFVMMSAPPAQYELKHGTFTCASEYTGNY QCGHYKHITSKETLYCIDGALLTKSSEYKGPITDVFYKENSYTTTIKPVT YKLDGVVCTEIDPKLDNYYKKDNSYFTEQPIDLVPNQPYPNASFDNFK FVCDNIKFADDLNQLTGYKKPASRELKVTFFPDLNGDVVAIDYKHYTP SFKKGAKLLHKPIVWHVNNATNKATYKPNTWCIRCLWSTKPVETSNS FDVLKSEDAQGMDNLACEDLKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKTTEV VGDIILKPANNSLKITEEVGHTDLMAAYVDNSSLTIKKPNELSRVLGLK TLATHGLAAVNSVPWDTIANYAKPFLNKVVSTTTNIVTRCLNRVCTNY MPYFFTLLLQLCTFTRSTNSRIKASMPTTIAKNTVKSVGKFCLEASFNY LKSPNFSKLINIIIWFLLLSVCLGSLIYSTAALGVLMSNLGMPSYCTGYR EGYLNSTNVTIATYCTGSIPCSVCLSGLDSLDTYPSLETIQITISSFKWDL TAFGLVAEWFLAYILFTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLMW LIINLVQMAPISAMVRMYIFFASFYYVWKSYVHVVDGCNSSTCMMCY KRNRATRVECTTIVNGVRRSFYVYANGGKGFCKLHNWNCVNCDTFC AGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVDSVTVKNGSIHLYFDKAG QKTYERHSLSHFVNLDNLRANNTKGSLPINVIVFDGKSKCEESSAKSAS VYYSQLMCQPILLLDQALVSDVGDSAEVAVKMFDAYVNTFSSTFNVP MEKLKTLVATAEAELAKNVSLDNVLSTFISAARQGFVDSDVETKDVV ECLKLSHQSDIEVTGDSCNNYMLTYNKVENMTPRDLGACIDCSARHIN AQVAKSHNIALIWNVKDFMSLSEQLRKQIRSAAKKNNLPFKLTCATTR QVVNVVTTKIALKGGKIVNNWLKQLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVM SKHTDFSSEIIGYKAIDGGVTRDIASTDTCFANKHADFDTWFSQRGGSY TNDKACPLIAAVITREVGFVVPGLPGTILRTTNGDFLHFLPRVFSAVGNI CYTPSKLIEYTDFATSACVLAAECTIFKDASGKPVPYCYDTNVLEGSVA YESLRPDTRYVLMDGSIIQFPNTYLEGSVRVVTTFDSEYCRHGTCERSE AGVCVSTSGRWVLNNDYYRSLPGVFCGVDAVNLLTNMFTPLIQPIGAL DISASIVAGGIVAIVVTCLAYYFMRFRRAFGEYSHVVAFNTLLFLMSFT VLCLTPVYSFLPGVYSVIYLYLTFYLTNDVSFLAHIQWMVMFTPLVPF WITIAYIICISTKHFYWFFSNYLKRRVVFNGVSFSTFEEAALCTFLLNKE MYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNKYKYFSGAMDTTSYREAACCHL AKALNDFSNSGSDVLYQPPQTSITSAVLQSGFRKMAFPSGKVEGCMVQ VTCGTTTLNGLWLDDVVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIRKSNHNFL VQAGNVQLRVIGHSMQNCVLKLKVDTANPKTPKYKFVRIQPGQTFSV LACYNGSPSGVYQCAMRPNFTIKGSFLNGSCGSVGFNIDYDCVSFCYM HHMELPTGVHAGTDLEGNFYGPFVDRQTAQAAGTDTTITVNVLAWL YAAVINGDRWFLNRFTTTLNDFNLVAMKYNYEPLTQDHVDILGPLSA QTGIAVLDMCASLKELLQNGMNGRTILGSALLEDEFTPFDVVRQCSGV TFQSAVKRTIKGTHHWLLLTILTSLLVLVQSTQWSLFFFLYENAFLPFA MGIIAMSAFAMMFVKHKHAFLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPASWVM RIMTWLDMVDTSLSGFKLKDCVMYASAVVLLILMTARTVYDDGARR VWTLMNVLTLVYKVYYGNALDQAISMWALIISVTSNYSGVVTTVMFL ARGIVFMCVEYCPIFFITGNTLQCIMLVYCFLGYFCTCYFGLFCLLNRY FRLTLGVYDYLVSTQEFRYMNSQGLLPPKNSIDAFKLNIKLLGVGGKP CIKVATVQSKMSDVKCTSVVLLSVLQQLRVESSSKLWAQCVQLHNDI LLAKDTTEAFEKMVSLLSVLLSMQGAVDINKLCEEMLDNRATLQAIAS EFSSLPSYAAFATAQEAYEQAVANGDSEVVLKKLKKSLNVAKSEFDR DAAMQRKLEKMADQAMTQMYKQARSEDKRAKVTSAMQTMLFTML RKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTTAAKLMVVIPDYNTYKNTCD GTTFTYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEISMDNSPNLAWPLIVTALRA NSAVKLQNNELSPVALRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYYNTTKGGR FVLALLSDLQDLKWARFPKSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPKVKY LYFIKGLNNLNRGMVLGSLAATVRLQAGNATEVPANSTVLSFCAFAV DAAKAYKDYLASGGQPITNCVKMLCTHTGTGQAITVTPEANMDQESF GGASCCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKGKYVQIPTTCANDPVGFTLKNTV

[0264]

		CTVCGMWKGYGCSCDQLREPMLQSADAQSFLNRVCGVSAARLTPCG TGTSTDVVYRAFDIYNDKVAGFAKFLKTNCCRFQEKDEDDNLIDSYFV VKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCPAVAKHDFFKFRIDGDMVPHISRQRL TKYTMADLVYALRHFDEGNCDTLKEILVTYNCCDDDYFNKKDWYDF VENPDILRVYANLGERVRQALLKTVQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDL NGNWYDFGDFIQTTPGSGVPVVDSYYSLLMPILTLTRALTAESHVDTD LTKPYIKWDLLKYDFTEERLKLFDRYFKYWDQTYHPNCVNCLDDRCI LHCANFNVLFSTVFPPTSFGPLVRKIFVDGVPFVVSTGYHFRELGVVHN QDVNLHSSRLSFKELLVYAADPAMHAASGNLLLDKRTTCFSVAALTN NVAFQTVKPGNFNKDFYDFAVSKGFFKEGSSVELKHFFFAQDGNAAIS DYDYYRYNLPTMCDIRQLLFVVEVVDKYFDCYDGGCINANQVIVNNL DKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYEDQDALFAYTKRNVIPTITQMNLK YAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQFHQKLLKSIAATRGATVVIGTSKF YGGWHNMLKTVYSDVENPHLMGWDYPKCDRAMPNMLRIMASLVLA RKHTTCCSLSHRFYRLANECAQVLSEMVMCGGSLYVKPGGTSSGDAT TAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIADKYVRNLQHRLYECLYR NRDVDTDFVNEFYAYLRKHFSMMILSDDAVVCFNSTYASQGLVASIK NFKSVLYYQNNVFMSEAKCWTETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDDY VYLPYPDPSRILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQ EYADVFHLYLQYIRKLHDELTGHMLDMYSVMLTNDNTSRYWEPEFY EAMYTPHTVLQAVGACVLCNSQTSLRCGACIRRPFLCCKCCYDHVIST SHKLVLSVNPYVCNAPGCDVTDVTQLYLGGMSYYCKSHKPPISFPLCA NGQVFGLYKNTCVGSDNVTDFNAIATCDWTNAGDYILANTCTERLKL FAAETLKATEETFKLSYGIATVREVLSDRELHLSWEVGKPRPPLNRNY VFTGYRVTKNSKVQIGEYTFEKGDYGDAVVYRGTTTYKLNVGDYFVL TSHTVMPLSAPTLVPQEHYVRITGLYPTLNISDEFSSNVANYQKVGMQ KYSTLQGPPGTGKSHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVDALCEKALK YLPIDKCSRIIPARARVECFDKFKVNSTLEQYVFCTVNALPETTADIVVF DEISMATNYDLSVVNARLRAKHYVYIGDPAQLPAPRTLLTKGTLEPEY FNSVCRLMKTIGPDMFLGTCRRCPAEIVDTVSALVYDNKLKAHKDKS AQCFKMFYKGVITHDVSSAINRPQIGVVREFLTRNPAWRKAVFISPYNS QNAVASKILGLPTQTVDSSQGSEYDYVIFTQTTETAHSCNVNRFNVAIT RAKVGILCIMSDRDLYDKLQFTSLEIPRRNVATLQAENVTGLFKDCSK VITGLHPTQAPTHLSVDTKFKTEGLCVDIPGIPKDMTYRRLISMMGFK MNYQVNGYPNMFITREEAIRHVRAWIGFDVEGCHATREAVGTNLPLQ LGFSTGVNLVAVPTGYVDTPNNTDFSRVSAKPPPGDQFKHLIPLMYKG LPWNVVRIKIVQMLSDTLKNLSDRVVFVLWAHGFELTSMKYFVKIGPE RTCCLCDRRATCFSTASDTYACWHHSIGFDYVYNPFMIDVQQWGFTG NLQSNHDLYCQVHGNAHVASCDAIMTRCLAVHECFVKRVDWTIEYPII GDELKINAACRKVQHMVVKAALLADKFPVLHDIGNPKAIKCVPQADV EWKFYDAQPCSDKAYKIEELFYSYATHSDKFTDGVCLFWNCNVDRYP ANSIVCRFDTRVLSNLNLPGCDGGSLYVNKHAFHTPAFDKSAFVNLKQ LPFFYYSDSPCESHGKQVVSDIDYVPLKSATCITRCNLGGAVCRHHAN EYRLYLDAYNMMISAGFSLWVYKQFDTYNLWNTFTRLQSLENVAFN VVNKGHFDGQQGEVPVSIINNTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAF ELWAKRNIKPVPEVKILNNLGVDIAANTVIWDYKRDAPAHISTIGVCS MTDIAKKPTETICAPLTVFFDGRVDGQVDLFRNARNGVLITEGSVKGL QPSVGPKQASLNGVTLIGEAVKTQFNYYKKVDGVVQQLPETYFTQSR NLQEFKPRSQMEIDFLELAMDEFIERYKLEGYAFEHIVYGDFSHSQLGG LHLLIGLAKRFKESPFELEDFIPMDSTVKNYFITDAQTGSSKCVCSVIDL LLDDFVEIIKSQDLSVVSKVVKVTIDYTEISFMLWCKDGHVETFYPKLQ SSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKCDLQNYGDSATLPKGIMMNVA KYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHFGAGSDKGVAPGTAVLRQWLPTG TLLVDSDLNDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDMYDPKTKNVT KENDSKEGFFTYICGFIQQKLALGGSVAIKITEHSWNADLYKLMGHFA WWTAFVTNVNASSSEAFLIGCNYLGKPREQIDGYVMHANYIFWRNTN PIQLSSYSLFDMSKFPLKLRGTAVMSLKEGQINDMILSLLSKGRLIIREN NRVVISSDVLVNN

[0265]

388	SARS-CoV2 PP1a 多蛋白氨基酸序列	ESLVPGFNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEVLSEARQHLKDG TCGLVEVEKGVLPQLEQPYVFIKRSDARTAPHGHVMVELVAELEGIQY GRSGETLGVLVPHVGEIPVAYRKVLLRKNGNKGAGGHSYGADLKSFD LGDELGTDPYEDFQENWNTKHSSGVTRELMRELNGGAYTRYVDNNF CGPDGYPLECIKDLLARAGKASCTLSEQLDFIDTKRGVYCCREHEHEIA WYTERSEKSYELQTPFEIKLAKKFDTFNGECPNFVFPLNSIIKTIQPRVE KKKLDGFMGRIRSVYPVASPNECNQMCLSTLMKCDHCGETSWQTGDF VKATCEFCGTENLTKEGATTCGYLPQNAVVKIYCPACHNSEVGPEHSL AEYHNESGLKTILRKGGRTIAFGGCVFSYVGCHNKCAYWVPRASANIG CNHTGVVGEGSEGLNDNLLEILQKEKVNINIVGDFKLNEEIAIILASFSA STSAFVETVKGLDYKAFKQIVESCGNFKVTKGKAKKGAWNIGEQKSIL SPLYAFASEAARVVRSIFSRTLETAQNSVRVLQKAAITILDGISQYSLRLI DAMMFTSDLATNNLVVMAYITGGVVQLTSQWLTNIFGTVYEKLKPVL DWLEEKFKEGVEFLRDGWEIVKFISTCACEIVGGQIVTCAKEIKESVQT FFKLVNKFLALCADSIIIGGAKLKALNLGETFVTHSKGLYRKCVKSREE TGLLMPLKAPKEIIFLEGETLPTEVLTEEVVLKTGDLQPLEQPTSEAVEA PLVGTPVCINGLMLLEIKDTEKYCALAPNMMVTNNTFTLKGGAPTKV TFGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERIDKVLNEKCSAYTVELGTEVNEFA CVVADAVIKTLQPVSELLTPLGIDLDEWSMATYYLFDESGEFKLASHM YCSFYPPDEDEEEGDCEEEEFEPSTQYEYGTEDDYQGKPLEFGATSAAL QPEEEQEEDWLDDDSQQTVGQQDGSEDNQTTTIQTIVEVQPQLEMELT PVVQTIEVNSFSGYLKLTDNVYIKNADIVEEAKKVKPTVVVNAANVYL KHGGGVAGALNKATNNAMQVESDDYIATNGPLKVGGSCVLSGHNLA KHCLHVVGPNVNKGEDIQLLKSAYENFNQHEVLLAPLLSAGIFGADPI HSLRVCVDTVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEKQVEQKIAEIP KEEVKPFITESKPSVEQRKQDDKKIKACVEEVTTTLEETKFLTENLLLYI DINGNLHPDSATLVSDIDITFLKKDAPYIVGDVVQEGVLTAVVIPTKKA GGTTEMLAKALRKVPTDNYITTYPGQGLNGYTVEEAKTVLKKCKSAF YILPSIISNEKQEILGTVSWNLREMLAHAEETRKLMPVCVETKAIVSTIQ RKYKGIKIQEGVVDYGARFYFYTSKTTVASLINTLNDLNETLVTMPLG YVTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAVTAYNGYLTSSSKTPEE HFIETISLAGSYKDWSYSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYTSNPTTFHLDG EVITFDNLKTLLSLREVRTIKVFTTVDNINLHTQVVDMSMTYGQQFGP TYLDGADVTKIKPHNSHEGKTFYVLPNDDTLRVEAFEYYHTTDPSFLG RYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWADNNCYLATALLTLQQIELKFN PPALQDAYYRARAGEAANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMSYLFQH ANLDSCKRVLNVVCKTCGQQQTTLKGVEAVMYMGTLSYEQFKKGVQ IPCTCGKQATKYLVQQESPFVMMSAPPAQYELKHGTFTCASEYTGNY QCGHYKHITSKETLYCIDGALLTKSSEYKGPITDVFYKENSYTTTIKPVT YKLDGVVCTEIDPKLDNYYKKDNSYFTEQPIDLVPNQPYPNASFDNFK FVCDNIKFADDLNQLTGYKKPASRELKVTFFPDLNGDVVAIDYKHYTP SFKKGAKLLHKPIVWHVNNATNKATYKPNTWCIRCLWSTKPVETSNS FDVLKSEDAQGMDNLACEDLKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKTTEV VGDIILKPANNSLKITEEVGHTDLMAAYVDNSSLTIKKPNELSRVLGLK TLATHGLAAVNSVPWDTIANYAKPFLNKVVSTTTNIVTRCLNRVCTNY MPYFFTLLLQLCTFTRSTNSRIKASMPTTIAKNTVKSVGKFCLEASFNY LKSPNFSKLINIIIWFLLLSVCLGSLIYSTAALGVLMSNLGMPSYCTGYR EGYLNSTNVTIATYCTGSIPCSVCLSGLDSLDTYPSLETIQITISSFKWDL TAFGLVAEWFLAYILFTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLMW LIINLVQMAPISAMVRMYIFFASFYYVWKSYVHVVDGCNSSTCMMCY

[0266]

		KRNRATRVECTTIVNGVRRSFYVYANGGKGFCKLHNWNCVNCDTFC AGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVDSVTVKNGSIHLYFDKAG QKTYERHSLSHFVNLDNLRANNTKGSLPINVIVFDGKSKCEESSAKSAS VYYSQLMCQPILLLDQALVSDVGDSAEVAVKMFDAYVNTFSSTFNVP MEKLKTLVATAEAELAKNVSLDNVLSTFISAARQGFVDSDVETKDVV ECLKLSHQSDIEVTGDSCNNYMLTYNKVENMTPRDLGACIDCSARHIN AQVAKSHNIALIWNVKDFMSLSEQLRKQIRSAAKKNNLPFKLTCATTR QVVNVVTTKIALKGGKIVNNWLKQLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVM SKHTDFSSEIIGYKAIDGGVTRDIASTDTCFANKHADFDTWFSQRGGSY TNDKACPLIAAVITREVGFVVPGLPGTILRTTNGDFLHFLPRVFSAVGNI CYTPSKLIEYTDFATSACVLAAECTIFKDASGKPVPYCYDTNVLEGSVA YESLRPDTRYVLMDGSIIQFPNTYLEGSVRVVTTFDSEYCRHGTCERSE AGVCVSTSGRWVLNNDYYRSLPGVFCGVDAVNLLTNMFTPLIQPIGAL DISASIVAGGIVAIVVTCLAYYFMRFRRAFGEYSHVVAFNTLLFLMSFT VLCLTPVYSFLPGVYSVIYLYLTFYLTNDVSFLAHIQWMVMFTPLVPF WITIAYIICISTKHFYWFFSNYLKRRVVFNGVSFSTFEEAALCTFLLNKE MYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNKYKYFSGAMDTTSYREAACCHL AKALNDFSNSGSDVLYQPPQTSITSAVLQSGFRKMAFPSGKVEGCMVQ VTCGTTTLNGLWLDDVVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIRKSNHNFL VQAGNVQLRVIGHSMQNCVLKLKVDTANPKTPKYKFVRIQPGQTFSV LACYNGSPSGVYQCAMRPNFTIKGSFLNGSCGSVGFNIDYDCVSFCYM HHMELPTGVHAGTDLEGNFYGPFVDRQTAQAAGTDTTITVNVLAWL YAAVINGDRWFLNRFTTTLNDFNLVAMKYNYEPLTQDHVDILGPLSA QTGIAVLDMCASLKELLQNGMNGRTILGSALLEDEFTPFDVVRQCSGV TFQSAVKRTIKGTHHWLLLTILTSLLVLVQSTQWSLFFFLYENAFLPFA MGIIAMSAFAMMFVKHKHAFLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPASWVM RIMTWLDMVDTSLSGFKLKDCVMYASAVVLLILMTARTVYDDGARR VWTLMNVLTLVYKVYYGNALDQAISMWALIISVTSNYSGVVTTVMFL ARGIVFMCVEYCPIFFITGNTLQCIMLVYCFLGYFCTCYFGLFCLLNRY FRLTLGVYDYLVSTQEFRYMNSQGLLPPKNSIDAFKLNIKLLGVGGKP CIKVATVQSKMSDVKCTSVVLLSVLQQLRVESSSKLWAQCVQLHNDI LLAKDTTEAFEKMVSLLSVLLSMQGAVDINKLCEEMLDNRATLQAIAS EFSSLPSYAAFATAQEAYEQAVANGDSEVVLKKLKKSLNVAKSEFDR DAAMQRKLEKMADQAMTQMYKQARSEDKRAKVTSAMQTMLFTML RKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTTAAKLMVVIPDYNTYKNTCD GTTFTYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEISMDNSPNLAWPLIVTALRA NSAVKLQNNELSPVALRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYYNTTKGGR FVLALLSDLQDLWARFPKSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPKVKYL YFIKGLNNLNRGMVLGSLAATVRLQAGNATEVPANSTVLSFCAFAVD AAKAYKDYLASGGQPITNCVKMLCTHTGTGQAITVTPEANMDQESFG GASCCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKGKYVQIPTTCANDPVGFTLKNTVC TVCGMWKGYGCSCDQLREPMLQSADAQSFLNGFAV

[0267]

389	SARS-CoV2 NSP1-3 氨基酸序列	ESLVPGFNEKTHVQLSLPVLQVRDVLVRGFGDSVEEVLSEARQHLKDG TCGLVEVEKGVLPQLEQPYVFIKRSDARTAPHGHVMVELVAELEGIQY GRSGETLGVLVPHVGEIPVAYRKVLLRKNGNKGAGGHSYGADLKSFD LGDELGTDPYEDFQENWNTKHSSGVTRELMRELNGGAYTRYVDNNF CGPDGYPLECIKDLLARAGKASCTLSEQLDFIDTKRGVYCCREHEHEIA WYTERSEKSYELQTPFEIKLAKKFDTFNGECPNFVFPLNSIIKTIQPRVE KKKLDGFMGRIRSVYPVASPNECNQMCLSTLMKCDHCGETSWQTGDF VKATCEFCGTENLTKEGATTCGYLPQNAVVKIYCPACHNSEVGPEHSL AEYHNESGLKTILRKGGRTIAFGGCVFSYVGCHNKCAYWVPRASANIG CNHTGVVGEGSEGLNDNLLEILQKEKVNINIVGDFKLNEEIAIILASFSA STSAFVETVKGLDYKAFKQIVESCGNFKVTKGKAKKGAWNIGEQKSIL SPLYAFASEAARVVRSIFSRTLETAQNSVRVLQKAAITILDGISQYSLRLI DAMMFTSDLATNNLVVMAYITGGVVQLTSQWLTNIFGTVYEKLKPVL DWLEEKFKEGVEFLRDGWEIVKFISTCACEIVGGQIVTCAKEIKESVQT FFKLVNKFLALCADSIIIGGAKLKALNLGETFVTHSKGLYRKCVKSREE TGLLMPLKAPKEIIFLEGETLPTEVLTEEVVLKTGDLQPLEQPTSEAVEA PLVGTPVCINGLMLLEIKDTEKYCALAPNMMVTNNTFTLKGGAPTKV TFGDDTVIEVQGYKSVNITFELDERIDKVLNEKCSAYTVELGTEVNEFA CVVADAVIKTLQPVSELLTPLGIDLDEWSMATYYLFDESGEFKLASHM YCSFYPPDEDEEEGDCEEEEFEPSTQYEYGTEDDYQGKPLEFGATSAAL QPEEEQEEDWLDDDSQQTVGQQDGSEDNQTTTIQTIVEVQPQLEMELT PVVQTIEVNSFSGYLKLTDNVYIKNADIVEEAKKVKPTVVVNAANVYL KHGGGVAGALNKATNNAMQVESDDYIATNGPLKVGGSCVLSGHNLA KHCLHVVGPNVNKGEDIQLLKSAYENFNQHEVLLAPLLSAGIFGADPI HSLRVCVDTVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEKQVEQKIAEIP KEEVKPFITESKPSVEQRKQDDKKIKACVEEVTTTLEETKFLTENLLLYI DINGNLHPDSATLVSDIDITFLKKDAPYIVGDVVQEGVLTAVVIPTKKA GGTTEMLAKALRKVPTDNYITTYPGQGLNGYTVEEAKTVLKKCKSAF YILPSIISNEKQEILGTVSWNLREMLAHAEETRKLMPVCVETKAIVSTIQ RKYKGIKIQEGVVDYGARFYFYTSKTTVASLINTLNDLNETLVTMPLG YVTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAVTAYNGYLTSSSKTPEE HFIETISLAGSYKDWSYSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYTSNPTTFHLDG EVITFDNLKTLLSLREVRTIKVFTTVDNINLHTQVVDMSMTYGQQFGP TYLDGADVTKIKPHNSHEGKTFYVLPNDDTLRVEAFEYYHTTDPSFLG RYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWADNNCYLATALLTLQQIELKFN PPALQDAYYRARAGEAANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMSYLFQH ANLDSCKRVLNVVCKTCGQQQTTLKGVEAVMYMGTLSYEQFKKGVQ IPCTCGKQATKYLVQQESPFVMMSAPPAQYELKHGTFTCASEYTGNY QCGHYKHITSKETLYCIDGALLTKSSEYKGPITDVFYKENSYTTTIKPVT YKLDGVVCTEIDPKLDNYYKKDNSYFTEQPIDLVPNQPYPNASFDNFK FVCDNIKFADDLNQLTGYKKPASRELKVTFFPDLNGDVVAIDYKHYTP SFKKGAKLLHKPIVWHVNNATNKATYKPNTWCIRCLWSTKPVETSNS FDVLKSEDAQGMDNLACEDLKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKTTEV VGDIILKPANNSLKITEEVGHTDLMAAYVDNSSLTIKKPNELSRVLGLK TLATHGLAAVNSVPWDTIANYAKPFLNKVVSTTTNIVTRCLNRVCTNY MPYFFTLLLQLCTFTRSTNSRIKASMPTTIAKNTVKSVGKFCLEASFNY LKSPNFSKLINIIIWFLLLSVCLGSLIYSTAALGVLMSNLGMPSYCTGYR EGYLNSTNVTIATYCTGSIPCSVCLSGLDSLDTYPSLETIQITISSFKWDL TAFGLVAEWFLAYILFTRFFYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLMW LIINLVQMAPISAMVRMYIFFASFYYVWKSYVHVVDGCNSSTCMMCY KRNRATRVECTTIVNGVRRSFYVYANGGKGFCKLHNWNCVNCDTFC AGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVDSVTVKNGSIHLYFDKAG QKTYERHSLSHFVNLDNLRANNTKGSLPINVIVFDGKSKCEESSAKSAS VYYSQLMCQPILLLDQALVSDVGDSAEVAVKMFDAYVNTFSSTFNVP MEKLKTLVATAEAELAKNVSLDNVLSTFISAARQGFVDSDVETKDVV ECLKLSHQSDIEVTGDSCNNYMLTYNKVENMTPRDLGACIDCSARHIN AQVAKSHNIALIWNVKDFMSLSEQLRKQIRSAAKKNNLPFKLTCATTR QVVNVVTTKIALKGG

[0268]

390	SARS-CoV2 NSP4-11 氨基酸序列	KIVNNWLKQLIKVTLVFLFVAAIFYLITPVHVMSKHTDFSSEIIGYKAID GGVTRDIASTDTCFANKHADFDTWFSQRGGSYTNDKACPLIAAVITRE VGFVVPGLPGTILRTTNGDFLHFLPRVFSAVGNICYTPSKLIEYTDFATS ACVLAAECTIFKDASGKPVPYCYDTNVLEGSVAYESLRPDTRYVLMD GSIIQFPNTYLEGSVRVVTTFDSEYCRHGTCERSEAGVCVSTSGRWVLN NDYYRSLPGVFCGVDAVNLLTNMFTPLIQPIGALDISASIVAGGIVAIVV TCLAYYFMRFRRAFGEYSHVVAFNTLLFLMSFTVLCLTPVYSFLPGVY SVIYLYLTFYLTNDVSFLAHIQWMVMFTPLVPFWITIAYIICISTKHFYW FFSNYLKRRVVFNGVSFSTFEEAALCTFLLNKEMYLKLRSDVLLPLTQ YNRYLALYNKYKYFSGAMDTTSYREAACCHLAKALNDFSNSGSDVL YQPPQTSITSAVLQSGFRKMAFPSGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLD DVVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIRKSNHNFLVQAGNVQLRVIGHS MQNCVLKLKVDTANPKTPKYKFVRIQPGQTFSVLACYNGSPSGVYQC AMRPNFTIKGSFLNGSCGSVGFNIDYDCVSFCYMHHMELPTGVHAGT DLEGNFYGPFVDRQTAQAAGTDTTITVNVLAWLYAAVINGDRWFLNR FTTTLNDFNLVAMKYNYEPLTQDHVDILGPLSAQTGIAVLDMCASLKE LLQNGMNGRTILGSALLEDEFTPFDVVRQCSGVTFQSAVKRTIKGTHH WLLLTILTSLLVLVQSTQWSLFFFLYENAFLPFAMGIIAMSAFAMMFV KHKHAFLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPASWVMRIMTWLDMVDTSLS GFKLKDCVMYASAVVLLILMTARTVYDDGARRVWTLMNVLTLVYK VYYGNALDQAISMWALIISVTSNYSGVVTTVMFLARGIVFMCVEYCPI FFITGNTLQCIMLVYCFLGYFCTCYFGLFCLLNRYFRLTLGVYDYLVST QEFRYMNSQGLLPPKNSIDAFKLNIKLLGVGGKPCIKVATVQSKMSDV KCTSVVLLSVLQQLRVESSSKLWAQCVQLHNDILLAKDTTEAFEKMV SLLSVLLSMQGAVDINKLCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPSYAAFATAQ EAYEQAVANGDSEVVLKKLKKSLNVAKSEFDRDAAMQRKLEKMAD QAMTQMYKQARSEDKRAKVTSAMQTMLFTMLRKLDNDALNNIINNA RDGCVPLNIIPLTTAAKLMVVIPDYNTYKNTCDGTTFTYASALWEIQQ VVDADSKIVQLSEISMDNSPNLAWPLIVTALRANSAVKLQNNELSPVA LRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYYNTTKGGRFVLALLSDLQDLKWA RFPKSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPKVKYLYFIKGLNNLNRGMVL GSLAATVRLQAGNATEVPANSTVLSFCAFAVDAAKAYKDYLASGGQP ITNCVKMLCTHTGTGQAITVTPEANMDQESFGGASCCLYCRCHIDHPN PKGFCDLKGKYVQIPTTCANDPVGFTLKNTVCTVCGMWKGYGCSCD QLREPMLQSADAQSFLNGFAV
391	SARS-CoV2 ORF1b 多蛋白 NSP12-16 氨基酸序列	SADAQSFLNRVCGVSAARLTPCGTGTSTDVVYRAFDIYNDKVAGFAK FLKTNCCRFQEKDEDDNLIDSYFVVKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCPA VAKHDFFKFRIDGDMVPHISRQRLTKYTMADLVYALRHFDEGNCDTL KEILVTYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDILRVYANLGERVRQALLKT VQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDLNGNWYDFGDFIQTTPGSGVPVVDS YYSLLMPILTLTRALTAESHVDTDLTKPYIKWDLLKYDFTEERLKLFDR YFKYWDQTYHPNCVNCLDDRCILHCANFNVLFSTVFPPTSFGPLVRKIF VDGVPFVVSTGYHFRELGVVHNQDVNLHSSRLSFKELLVYAADPAMH AASGNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFNKDFYDFAVSKGF FKEGSSVELKHFFFAQDGNAAISDYDYYRYNLPTMCDIRQLLFVVEVV DKYFDCYDGGCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYE DQDALFAYTKRNVIPTITQMNLKYAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQ FHQKLLKSIAATRGATVVIGTSKFYGGWHNMLKTVYSDVENPHLMG WDYPKCDRAMPNMLRIMASLVLARKHTTCCSLSHRFYRLANECAQV LSEMVMCGGSLYVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLS TDGNKIADKYVRNLQHRLYECLYRNRDVDTDFVNEFYAYLRKHFSM MILSDDAVVCFNSTYASQGLVASIKNFKSVLYYQNNVFMSEAKCWTE TDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDDYVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIVKT DGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLQYIRKLHDELTGH MLDMYSVMLTNDNTSRYWEPEFYEAMYTPHTVLQAVGACVLCNSQT SLRCGACIRRPFLCCKCCYDHVISTSHKLVLSVNPYVCNAPGCDVTDV TQLYLGGMSYYCKSHKPPISFPLCANGQVFGLYKNTCVGSDNVTDFN AIATCDWTNAGDYILANTCTERLKLFAAETLKATEETFKLSYGIATVRE VLSDRELHLSWEVGKPRPPLNRNYVFTGYRVTKNSKVQIGEYTFEKGD

[0269]

		YGDAVVYRGTTTYKLNVGDYFVLTSHTVMPLSAPTLVPQEHYVRITG LYPTLNISDEFSSNVANYQKVGMQKYSTLQGPPGTGKSHFAIGLALYY PSARIVYTACSHAAVDALCEKALKYLPIDKCSRIIPARARVECFDKFKV NSTLEQYVFCTVNALPETTADIVVFDEISMATNYDLSVVNARLRAKHY VYIGDPAQLPAPRTLLTKGTLEPEYFNSVCRLMKTIGPDMFLGTCRRCP AEIVDTVSALVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYKGVITHDVSSAINRPQI GVVREFLTRNPAWRKAVFISPYNSQNAVASKILGLPTQTVDSSQGSEY DYVIFTQTTETAHSCNVNRFNVAITRAKVGILCIMSDRDLYDKLQFTSL EIPRRNVATLQAENVTGLFKDCSKVITGLHPTQAPTHLSVDTKFKTEGL CVDIPGIPKDMTYRRLISMMGFKMNYQVNGYPNMFITREEAIRHVRA WIGFDVEGCHATREAVGTNLPLQLGFSTGVNLVAVPTGYVDTPNNTD FSRVSAKPPPGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVRIKIVQMLSDTLKNLSDR VVFVLWAHGFELTSMKYFVKIGPERTCCLCDRRATCFSTASDTYACW HHSIGFDYVYNPFMIDVQQWGFTGNLQSNHDLYCQVHGNAHVASCD AIMTRCLAVHECFVKRVDWTIEYPIIGDELKINAACRKVQHMVVKAAL LADKFPVLHDIGNPKAIKCVPQADVEWKFYDAQPCSDKAYKIEELFYS YATHSDKFTDGVCLFWNCNVDRYPANSIVCRFDTRVLSNLNLPGCDG GSLYVNKHAFHTPAFDKSAFVNLKQLPFFYYSDSPCESHGKQVVSDID YVPLKSATCITRCNLGGAVCRHHANEYRLYLDAYNMMISAGFSLWVY KQFDTYNLWNTFTRLQSLENVAFNVVNKGHFDGQQGEVPVSIINNTV YTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFELWAKRNIKPVPEVKILNNLGVDI AANTVIWDYKRDAPAHISTIGVCSMTDIAKKPTETICAPLTVFFDGRVD GQVDLFRNARNGVLITEGSVKGLQPSVGPKQASLNGVTLIGEAVKTQF NYYKKVDGVVQQLPETYFTQSRNLQEFKPRSQMEIDFLELAMDEFIER YKLEGYAFEHIVYGDFSHSQLGGLHLLIGLAKRFKESPFELEDFIPMDS TVKNYFITDAQTGSSKCVCSVIDLLLDDFVEIIKSQDLSVVSKVVKVTID YTEISFMLWCKDGHVETFYPKLQSSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLE KCDLQNYGDSATLPKGIMMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHF GAGSDKGVAPGTAVLRQWLPTGTLLVDSDLNDFVSDADSTLIGDCAT VHTANKWDLIISDMYDPKTKNVTKENDSKEGFFTYICGFIQQKLALGG SVAIKITEHSWNADLYKLMGHFAWWTAFVTNVNASSSEAFLIGCNYL GKPREQIDGYVMHANYIFWRNTNPIQLSSYSLFDMSKFPLKLRGTAVM SLKEGQINDMILSLLSKGRLIIRENNRVVISSDVLVNN
392	SARS-CoV2 NSP12 氨基酸序列	SADAQSFLNRVCGVSAARLTPCGTGTSTDVVYRAFDIYNDKVAGFAK FLKTNCCRFQEKDEDDNLIDSYFVVKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCPA VAKHDFFKFRIDGDMVPHISRQRLTKYTMADLVYALRHFDEGNCDTL KEILVTYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDILRVYANLGERVRQALLKT VQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDLNGNWYDFGDFIQTTPGSGVPVVDS YYSLLMPILTLTRALTAESHVDTDLTKPYIKWDLLKYDFTEERLKLFDR YFKYWDQTYHPNCVNCLDDRCILHCANFNVLFSTVFPPTSFGPLVRKIF VDGVPFVVSTGYHFRELGVVHNQDVNLHSSRLSFKELLVYAADPAMH AASGNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFNKDFYDFAVSKGF FKEGSSVELKHFFFAQDGNAAISDYDYYRYNLPTMCDIRQLLFVVEVV DKYFDCYDGGCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYE DQDALFAYTKRNVIPTITQMNLKYAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQ FHQKLLKSIAATRGATVVIGTSKFYGGWHNMLKTVYSDVENPHLMG WDYPKCDRAMPNMLRIMASLVLARKHTTCCSLSHRFYRLANECAQV LSEMVMCGGSLYVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLS TDGNKIADKYVRNLQHRLYECLYRNRDVDTDFVNEFYAYLRKHFSM MILSDDAVVCFNSTYASQGLVASIKNFKSVLYYQNNVFMSEAKCWTE TDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDDYVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIVKT DGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLQYIRKLHDELTGH MLDMYSVMLTNDNTSRYWEPEFYEAMYTPHTVLQ

[0270]

393	SARS-CoV2 NSP13-14 氨基酸序列	AVGACVLCNSQTSLRCGACIRRPFLCCKCCYDHVISTSHKLVLSVNPY VCNAPGCDVTDVTQLYLGGMSYYCKSHKPPISFPLCANGQVFGLYKN TCVGSDNVTDFNAIATCDWTNAGDYILANTCTERLKLFAAETLKATEE TFKLSYGIATVREVLSDRELHLSWEVGKPRPPLNRNYVFTGYRVTKNS KVQIGEYTFEKGDYGDAVVYRGTTTYKLNVGDYFVLTSHTVMPLSAP TLVPQEHYVRITGLYPTLNISDEFSSNVANYQKVGMQKYSTLQGPPGT GKSHFAIGLALYYPSARIVYTACSHAAVDALCEKALKYLPIDKCSRIIP ARARVECFDKFKVNSTLEQYVFCTVNALPETTADIVVFDEISMATNYD LSVVNARLRAKHYVYIGDPAQLPAPRTLLTKGTLEPEYFNSVCRLMKT IGPDMFLGTCRRCPAEIVDTVSALVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYKG VITHDVSSAINRPQIGVVREFLTRNPAWRKAVFISPYNSQNAVASKILG LPTQTVDSSQGSEYDYVIFTQTTETAHSCNVNRFNVAITRAKVGILCIM SDRDLYDKLQFTSLEIPRRNVATLQAENVTGLFKDCSKVITGLHPTQAP THLSVDTKFKTEGLCVDIPGIPKDMTYRRLISMMGFKMNYQVNGYPN MFITREEAIRHVRAWIGFDVEGCHATREAVGTNLPLQLGFSTGVNLVA VPTGYVDTPNNTDFSRVSAKPPPGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVRIKIV QMLSDTLKNLSDRVVFVLWAHGFELTSMKYFVKIGPERTCCLCDRRA TCFSTASDTYACWHHSIGFDYVYNPFMIDVQQWGFTGNLQSNHDLYC QVHGNAHVASCDAIMTRCLAVHECFVKRVDWTIEYPIIGDELKINAAC RKVQHMVVKAALLADKFPVLHDIGNPKAIKCVPQADVEWKFYDAQP CSDKAYKIEELFYSYATHSDKFTDGVCLFWNCNVDRYPANSIVCRFDT RVLSNLNLPGCDGGSLYVNKHAFHTPAFDKSAFVNLKQLPFFYYSDSP CESHGKQVVSDIDYVPLKSATCITRCNLGGAVCRHHANEYRLYLDAY NMMISAGFSLWVYKQFDTYNLWNTFTRLQ
394	SARS-CoV2 NsP15-16 氨基酸序列	SLENVAFNVVNKGHFDGQQGEVPVSIINNTVYTKVDGVDVELFENKT TLPVNVAFELWAKRNIKPVPEVKILNNLGVDIAANTVIWDYKRDAPAH ISTIGVCSMTDIAKKPTETICAPLTVFFDGRVDGQVDLFRNARNGVLITE GSVKGLQPSVGPKQASLNGVTLIGEAVKTQFNYYKKVDGVVQQLPET YFTQSRNLQEFKPRSQMEIDFLELAMDEFIERYKLEGYAFEHIVYGDFS HSQLGGLHLLIGLAKRFKESPFELEDFIPMDSTVKNYFITDAQTGSSKC VCSVIDLLLDDFVEIIKSQDLSVVSKVVKVTIDYTEISFMLWCKDGHVE TFYPKLQSSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKCDLQNYGDSATLPKG IMMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHFGAGSDKGVAPGTAVL RQWLPTGTLLVDSDLNDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDMY DPKTKNVTKENDSKEGFFTYICGFIQQKLALGGSVAIKITEHSWNADLY KLMGHFAWWTAFVTNVNASSSEAFLIGCNYLGKPREQIDGYVMHAN YIFWRNTNPIQLSSYSLFDMSKFPLKLRGTAVMSLKEGQINDMILSLLS KGRLIIRENNRVVISSDVLVNN

[0271] 在一些实施方案中,任何上述SEQ ID NO:349-395或401进一步包括作为第一氨基酸残基的氨基酸残基甲硫氨酸(M)。

[0272] 在一些实施方案中,抗原插入物源自肿瘤相关抗原。在一些实施方案中,抗原插入物源自人粘蛋白-1,或其片段。在一些实施方案中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:349、358-364或403的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0273] 在一些实施方案中,抗原插入物源自人细胞周期蛋白B1蛋白,或其片段。在一些实施方案中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:350的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0274] 在一些实施方案中,抗原插入物源自乙型肝炎病毒蛋白,或其片段。在一些实施方案中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:351-354的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0275] 在一些实施方案中,抗原插入物源自疟原虫蛋白质,或其片段。在一些实施方案中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:355-357的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0276] 在一些实施方案中,抗原插入物源自拉沙病毒蛋白或其片段。在一些实施方案中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:365-366的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0277] 在一些实施方案中,抗原插入物源自埃博拉病毒蛋白或其片段。在一些实施方案

中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:367-368的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0278] 在一些实施方案中,抗原插入物源自塞卡病毒蛋白,或其片段。在一些实施方案中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:369-376的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0279] 在一些实施方案中,抗原插入物源自一种或多种SARS-CoV-2蛋白或多肽,例如,源自刺突(NCBI参考序列YP_009724390)、膜(M)(NCBI参考序列YP_009724393)、包膜(E)(NCBI参考序列YP_009724392)、核苷(N)(NCBI参考序列YP_009724397)、ORF1AB(NCBI参考序列YP_009724389)、ORF3a(NCBI参考序列YP_009724391)、ORF6(NCBI参考序列YP_009724394)、ORF7a(NCBI参考序列YP_009724395)、ORF7b(NCBI参考序列YP_009725318)、ORF8(NCBI参考序列YP_009724396)或ORF10(NCBI参考序列YP_009725255)中的一种或或多种。在某些实施方案中,抗原插入物源自SARS-CoV2 S蛋白,或其变体。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白并且与NCBI参考序列YP_009724390相比含有一个或多个氨基酸置换。在一些实施方案中,S蛋白源自SEQ ID NO:377的氨基酸序列,或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有一个或多个选自SEQ ID NO:377的K417T、E484K或N501Y的置换。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下置换:SEQ ID NO:377的K417T、E484K和N501Y。在一些实施方案中,rMVA含有编码S蛋白的核酸序列,该S蛋白进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、T478K或P681R或其组合的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、T478K和P681R的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的N440K、S443A、G476S、E484R和/或G502P或其组合的置换S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的T19R、G142D、R158G、K417N、L452R、T478K、E484Q、D614G、P681R、D950N、E156del、F157del、N501Y、刺突缺失69-70del、刺突缺失144del、A570D、T716I、S982A、D1118H、P681H、L18F、D80A、D215G、242-244del、R246I、K471N、E484K、A701V、N440K、S443A、G476S、E484R和G502P或其任何组合的一个或多个处的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的T19R、T95I、G142D、E156del、F157del、R158G、L452R、T478K、D614G、P681R和D950N的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,置换为K417N。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的T19R、V70F、T95I、G142D、E156del、F157del、R158G、A222V、W258L、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R和D950N的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的N501Y、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K、N501Y、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的K417N、E484K、N501Y、D614G和A701V的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的K417T、E484K、N501Y、D614G和H655Y的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、T478K、D614G和P681R的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K、D614G和Q677H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K、N501Y、D614G

和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、E484Q、D614G和P681R的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的S477N、E484K、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的R346K、E484K、N501Y、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452Q、F490S和D614G的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、E484Q、D614G和P681R的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的Q414K、N450K、ins214TDR和D614G的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的V367F、E484K和Q613H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、N501Y、A653V和H655Y的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K、N501T和H655Y的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R和D614G的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的P384L、K417N、E484K、N501Y、D614G和A701V的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的K417N、E484K、N501Y、E516Q、D614G和A701V的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、N501Y、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的S494P、N501Y、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、D614G和Q677H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K、D614G、N679K和ins679GIAL的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K、D614G和A701V的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R和D614G的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的S477N和D614G的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的E484K和D614G的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的T478K和D614G的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的N439K、E484K、D614G和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的D614G、E484K、H655Y、K417T、N501Y和P681H的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的L452R、T478K、D614G、P681R和K417N的置换的S蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,rMVA含有编码进一步包含SEQ ID NO:377的D614G、E484K、H655Y、N501Y、N679K和Y449H的置换的S蛋白的核酸序列。

[0280] 在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且具有SEQ ID NO:377的一个或多个刺突蛋白氨基酸H69、V70或Y144或其组合的缺失。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有选自SEQ ID NO:377的D614G、A570D、P681H、T716I、S982A、D1118H、K417N或K417T、D215G、A701V、L18F、R246I、Y453F、I692V、M1229I、N439K、A222V、S477N或A376T或其

组合的一个或多个置换。在一些实施方案中,变异株是在SEQ ID NO:377的氨基酸242-244处具有刺突蛋白缺失的SARS-CoV2病毒。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下缺失和置换:氨基酸69-70的缺失、氨基酸Y144的缺失、氨基酸置换N501Y、氨基酸置换A570D、氨基酸置换D614G、氨基酸置换P681H、氨基酸置换T716I、氨基酸置换S982A和氨基酸置换D1118H,或SEQ ID NO:377。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下缺失和置换:SEQ ID NO:377的N501Y、K417N或K417T、E484K、D80A、A701V、L18F,以及氨基酸242-244的氨基酸缺失。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有一个或多个以下置换:SEQ ID NO:377的D614G;D936Y;P1263L;L5F;N439K;R21I;D839Y;L54F;A879S;L18F;F1121L;R847K;L452R;T478I;A829T;Q675H;S477N;H49Y;T29I;G769V;G1124V;V1176F;K1073N;P479S;S1252P;Y145缺失;E583D;R214L;A1020V;Q1208H;D215G;H146Y;S98F;T95I;G1219C;A846V;I197V;R102I;V367F;T572I;A1078S;A831V;P1162L;T73I;A845S;G1219V;H245Y;L8V;Q675R;S254F;V483A;Q677H;D138H;D80Y;M1237T;D1146H;E654D;H655Y;S50L;S939F;S943P;G485R;Q613H;T76I;V341I;M153I;S221L;T859I;W258L;L242F;P681L;V289I;A520S;V1104L;V1228L;L176F;M1237I;T307I;T716I;L141;M1229I;A1087S;P26S;P330S;P384L;R765L;S940F;T323I;V826L;E1202Q;L1203F;L611F;V615I;A262S;A522V;A688V;A706V;A892S;E554D;Q836H;T1027I;T22I;A222V;A27S;A626V;C1247F;K1191N;M731I;P26L;S1147L;S1252F;S255F;V1264L;V308L;D80A;I670L;P251L;P631S;*1274Q;A344S;A771S;A879T;D1084Y;D253G;H1101Y;L1200F;Q14H;Q239K;A623V;D215Y;E1150D;G476S;K77M;M177I;P812S;S704L;T51I;T547I;T791I;V1122L;Y145H;D574Y;G142D;G181V;I834T;N370S;P812L;S12F;T791P;V90F;W152L;A292S;A570V;A647S;A845V;D1163Y;G181R;L84I;L938F;P1143L;P809S;R78M;T1160I;V1133F;V213L;V615F;A831V;D839Y;D839N;D839E;S943P;P1263L;S13I;或V622F;及其组合。

[0281] 在一些实施方案中,S蛋白选自SEQ ID NO:377-384或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0282] 在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为全长蛋白,并且含有一个或多个选自SEQ ID NO:381的K417T、E484K或N501Y的置换。在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下置换:SEQ ID NO:381的K417T、E484K和N501Y。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含在SEQ ID NO:381的L452R、T478K或P681R或其组合的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含在SEQ ID NO:381的L452R、T478K和P681R的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含在SEQ ID NO:381的N440K、S443A、G476S、E484R和/或G502P或其组合的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含在SEQ ID NO:381的T19R、G142D、R158G、K417N、L452R、T478K、E484Q、D614G、P681R、D950N、E156del、F157del、N501Y、刺突缺失69-70del、刺突缺失144del、A570D、T716I、S982A、D1118H、P681H、L18F、D80A、D215G、242-244del、R246I、K471N、E484K、A701V、N440K、S443A、G476S、E484R和G502P或其任何组合的一个或多个的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含在SEQ ID NO:381的T19R、T95I、G142D、E156del、F157del、R158G、L452R、T478K、D614G、P681R和D950N的置换。在一些实施方案中,置换为K417N。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含

SEQ ID NO:381的T19R、V70F、T95I、G142D、E156del、F157del、R158G、A222V、W258L、K417N、L452R、T478K、D614G、P681R和D950N的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的N501Y、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K、N501Y、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的K417N、E484K、N501Y、D614G和A701V的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的K417T、E484K、N501Y、D614G和H655Y的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452R、T478K、D614G和P681R的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K、D614G和Q677H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K、N501Y、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452R、E484Q、D614G和P681R的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的S477N、E484K、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的R346K、E484K、N501Y、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452Q、F490S和D614G的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:8的L452R、E484Q、D614G和P681R的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的Q414K、N450K、ins214TDR和D614G的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的V367F、E484K和Q613H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452R、N501Y、A653V和H655Y的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K、N501T和H655Y的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452R和D614G处的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的P384L、K417N、E484K、N501Y、D614G和A701V的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的K417N、E484K、N501Y、E516Q、D614G和A701V的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452R、N501Y、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的S494P、N501Y、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452R、D614G和Q677H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K、D614G、N679K和ins679GIAL的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K、D614G和A701V的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:8的L452R和D614G的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的S477N和D614G的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的

S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的E484K和D614G的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的T478K和614G的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的N439K、E484K、D614G和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含在SEQ ID NO:381的D614G、E484K、H655Y、K417T、N501Y和P681H的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的L452R、T478K、D614G、P681R和K417N的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的D614G、E484K、H655Y、N501Y、N679K和Y449H的置换。

[0283] 在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为全长蛋白,并且具有SEQ ID NO:381的一个或多个刺突蛋白氨基酸H69、V70或Y144或其组合的缺失。在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为全长蛋白,并且含有一个或多个选自SEQ ID NO:1的D614G、A570D、P681H、T716I、S982A、D1118H、K417N或K417T、D215G、A701V、L18F、R246I、Y453F、I692V、M1229I、N439K、A222V、S477N或A376T,或其组合的置换。在一些实施方案中,变体株是在SEQ ID NO:381的氨基酸242-244处具有刺突蛋白缺失的SARS-CoV2病毒。在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下缺失和置换:SEQ ID NO:381的氨基酸69-70的缺失、氨基酸Y144的缺失、氨基酸置换N501Y、氨基酸置换A570D、氨基酸置换D614G、氨基酸置换P681H、氨基酸置换T716I、氨基酸置换S982A和氨基酸置换D1118H。在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下缺失和置换:SEQ ID NO:381的N501Y、K417N或K417T、E484K、D80A、A701V、L18F和氨基酸242-244的氨基酸缺失。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且具有SEQ ID NO:381的一个或多个刺突蛋白氨基酸H69、V70或Y144或其组合的缺失。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有一个或多个选自SEQ ID NO:381的D614G、A570D、P681H、T716I、S982A、D1118H、K417N、K417T、D215G、A701V、L18F、R246I、Y453F、I692V、M1229I、N439K、A222V、S477N或A376T或其组合的置换。在一些实施方案中,刺突蛋白包括在SEQ ID NO:381的氨基酸242-244的缺失。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下缺失和置换:SEQ ID NO:381的氨基酸69-70的缺失、氨基酸Y144的缺失、氨基酸置换N501Y、氨基酸置换A570D、氨基酸置换D614G、氨基酸置换P681H、氨基酸置换T716I、氨基酸置换S982A,和氨基酸置换D1118H。在一些实施方案中,S蛋白表达为全长蛋白,并且含有以下缺失和置换:SEQ ID NO:381的N501Y、K417N或K417T、E484K、D80A、A701V、L18F,和氨基酸242-244的氨基酸缺失。编码进一步包含SEQ ID NO:381的L452R、T478K和P681R的置换的稳定的S蛋白。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含在SEQ ID NO:381的N440K、S443A、G476S、E484R和/或G502P,或其组合的置换。在一些实施方案中,rMVA含有编码稳定的S蛋白的核酸序列,其进一步包含SEQ ID NO:381的T19R、G142D、R158G、K417N、L452R、T478K、E484Q、D614G、P681R、D950N、E156del、F157del、N501Y、刺突缺失69-70del、刺突缺失144del、A570D、T716I、S982A、D1118H、P681H、L18F、D80A、D215G、242-244del、R246I、K471N、E484K、A701V、N440K、S443A、G476S、E484R和G502P或其任何组合的一个或多个的置换。

[0284] 在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为全长蛋白,并且含有一个或多个以下置

换:SEQ ID NO:381的D614G;D936Y;P1263L;L5F;N439K;R21I;D839Y;L54F;A879S;L18F;F1121L;R847K;L452R;T478I;A829T;Q675H;S477N;H49Y;T29I;G769V;G1124V;V1176F;K1073N;P479S;S1252P;Y145缺失;E583D;R214L;A1020V;Q1208H;D215G;H146Y;S98F;T95I;G1219C;A846V;I197V;R102I;V367F;T572I;A1078S;A831V;P1162L;T73I;A845S;G1219V;H245Y;L8V;Q675R;S254F;V483A;Q677H;D138H;D80Y;M1237T;D1146H;E654D;H655Y;S50L;S939F;S943P;G485R;Q613H;T76I;V341I;M153I;S221L;T859I;W258L;L242F;P681L;V289I;A520S;V1104L;V1228L;L176F;M1237I;T307I;T716I;L141;M1229I;A1087S;P26S;P330S;P384L;R765L;S940F;T323I;V826L;E1202Q;L1203F;L611F;V615I;A262S;A522V;A688V;A706V;A892S;E554D;Q836H;T1027I;T22I;A222V;A27S;A626V;C1247F;K1191N;M731I;P26L;S1147L;S1252F;S255F;V1264L;V308L;D80A;I670L;P251L;P631S;*1274Q;A344S;A771S;A879T;D1084Y;D253G;H1101Y;L1200F;Q14H;Q239K;A623V;D215Y;E1150D;G476S;K77M;M177I;P812S;S704L;T51I;T547I;T791I;V1122L;Y145H;D574Y;G142D;G181V;I834T;N370S;P812L;S12F;T791P;V90F;W152L;A292S;A570V;A647S;A845V;D1163Y;G181R;L84I;L938F;P1143L;P809S;R78M;T1160I;V1133F;V213L;V615F;A831V;D839Y;D839N;D839E;S943P;P1263L;S13I;或V622F;及其组合。

[0285] 在一些实施方案中,稳定的S蛋白表达为SEQ ID NO:378、379、380、381、382、383或384的全长蛋白,或与其80%、85%、90%、95%、98%或99%同源的氨基酸序列。

[0286] SARS-CoV-2是包膜的正义单链RNA病毒,其引起冠状病毒病2019(COVID-19)。病毒颗粒包括侵入宿主细胞所需的RNA遗传物质和结构蛋白。一旦在细胞内部,感染的RNA被用于编码组成病毒颗粒的结构蛋白、指导病毒组装、转录、复制和宿主控制的非结构蛋白和功能尚未确定的辅助蛋白。ORF1ab,最大的基因,含有编码多蛋白PP1ab和PP1a的重叠开放阅读框。多蛋白被裂解以产生16种非结构蛋白,NSP1-16。较长蛋白质(PP1ab)或较短蛋白质(PP1a)的产生取决于-1核糖体移码事件。基于与其他冠状病毒的相似性,蛋白质包括木瓜蛋白酶样蛋白酶(NSP3)、3C-样蛋白酶(NSP5)、RNA依赖性RNA聚合酶(NSP12,RdRp)、解旋酶(NSP13,HEL)、endoRNA酶(NSP15)、2'-O-核糖-甲基转移酶(NSP16)及其他非结构蛋白。ORF1ab编码的各种NSP的描述可见于,例如Arya等人,Structural insights into SARS-CoV-2proteins.JMol Biol.2021年6月22日;433(2):166725,通过引入并入本文。在本文提供的一些实施方案中,rMVA抗原插入物源自一种或多种选自SEQ ID NO:377-394的SARS-CoV-2蛋白或多肽。

[0287] 在一些实施方案中,抗原插入物源自马尔堡病毒蛋白或其片段。在一些实施方案中,抗原插入物源自选自SEQ ID NO:395-396、398或400或其片段的氨基酸序列,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0288] 在具体实施方案中,编码的多肽包含:在各种替代实施方案中,((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(抗原肽))、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽))、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_y$)、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽)),其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中M=甲硫氨酸,并且其中分泌信号肽选自具有选自SEQ ID NO:57-90的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID

NO:1-56的氨基酸序列的肽,可裂解肽选自具有选自SEQ ID NO:91-127的氨基酸序列的肽,并且抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素,或可替代地肿瘤相关抗原的肽。在一些实施方案中,分泌信号肽选自具有选自SEQ ID NO:65和66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID NO:1和5的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽选自具有选自SEQ ID NO:93、120和123的氨基酸序列的肽。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x=2-10。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽,和可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x≥4。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x=4、5或6。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x=2-10。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x≥4。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,其中x=4、5或6。在一些实施方案中,抗原肽选自SEQ ID NO:349-394。

[0289] 在一些实施方案中,由rMVA中的多顺反子核酸插入物编码的抗原肽包含在嵌合多肽中,其包括融合至抗原肽的N-末端的病毒糖蛋白信号序列和融合至抗原肽的C-末端的病毒糖蛋白跨膜结构域,并且rMVA进一步被构建为编码病毒基质蛋白,其中在含抗原的嵌合肽被翻译裂解时,病毒基质蛋白和抗原-病毒糖蛋白嵌合多肽能够形成非传染性病毒样颗粒(VLP)。在一些实施方案中,本文提供了包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物的rMVA病毒载体,其中多肽包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸(参见,例如,图5A和5B)。在一些实施方案中,抗原肽包含在含有融合至抗原肽的N-末端的病毒糖蛋白信号序列,和融合至抗原肽的C-末端的病毒糖蛋白跨膜结构域,和融合至病毒糖蛋白跨膜结构域的C-末端的可裂解肽的嵌合多肽中,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,融合至最后一个含抗原的嵌合多肽的C-末端的含抗原的嵌合多肽不包括可裂解序列,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且其中M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$,其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,可在多顺反子核酸插入物中定向以使得含抗原嵌合多肽的编码核酸位于含免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽的5'侧,例如((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑

制剂肽-可裂解肽)$_x$)或可选地((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在又一个实施方案中,rMVA的多顺反子核酸插入物进一步编码病毒基质蛋白,例如,((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)(病毒基质蛋白)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸(参见,例如,图6A和6B)。在替代实施方案中,含抗原的嵌合多肽和病毒基质蛋白两者的编码序列以一个或多个拷贝包含在多顺反子核酸中,例如,((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,最C-末端的病毒基质蛋白缺乏可裂解肽,例如((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_x$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。在一些实施方案中,((糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$),其中y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸),可以在多顺反子核酸插入物中定向以使得序列位于含免疫检查点抑制剂肽的嵌合多肽的5'侧,例如((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$)或可选地((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,y=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10,并且M=甲硫氨酸。

[0290] 在具体实施方案中,糖蛋白和基质蛋白源自马尔堡病毒(MARV)。在具体实施方案中,糖蛋白源自MARV GP蛋白(Genebank登记号AFV31202.1)。MARV GP蛋白的氨基酸序列在下表10中作为SEQ ID.No.395提供。在具体实施方案中,MARV GPS结构域包含糖蛋白的氨基酸2-19(WTTCFFISLILIQGIKTL)(SEQ ID.No.396,其可由例如SEQ ID.No.397的MVA优化的核酸序列编码)、GPTM结构域包含糖蛋白的氨基酸序列644-673(WWTSDWGVLTNLGILLLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG)(SEQ ID.No.398,其可由例如SEQ ID.No.399的MVA优化的核酸序列编码),或与其70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上相同的核酸序列。在一些实施方案中,MARV GPS信号进一步包含甲硫氨酸作为第一氨基酸。

[0291] MARV VP40氨基酸序列可在Genebank登记号JX458834处获得,并在下表10中作为SEQ ID.No.400提供,其可由例如SEQ ID.No.401的MVA优化的核酸序列编码,或与其70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上相同的核酸序列。在一些实施方案中,MARV VP40氨基酸序列进一步包含甲硫氨酸作为第一氨基酸。

[0292] 表10-MARV糖蛋白结构域和VP40蛋白

[0293]

SEQ ID NO:	序列
395-GP MARV 氨基酸序列	WTTCFFISLILIQGIKTLPILEIASNDQPQNVDSVCSGTLQKTEDVHLMGFTLSGQKV ADSPLEASKRWAFRTGVPPKNVEYTEGEEAKTCYNISVTDPSGKSLLLDPPTNVRD YPKCKTIHHIQGQNPHAQGIALHLWGAFFLYDRIASTTMYRGKVFTEGNIAAMIVN KTVHKMIFSRQGQGYRHMNLTSTNKYWTSSNGTQTNDTGCFGTLQEYNSTKNQT CAPSKTPPPPPTAHPEIKPTSTPTDATRLNTTNPNSDDEDLTTSGSGSGEQEPYTTSD AVTKQGLSSTMPPTLSPQPGTPQQGGNNTNHSQDAATELDNTNTTAQPPMPSHNT TTISTNNTSKHNLSTLSEPPQNTTNPNTQSMATENEKTSAPPKTTLPPTESPTTEKST NNTKSPTTMEPNTTNGHFTSPSSTPNSTTQHLIYFRRKRSILWREGDMFPFLDGLIN APIDFDPVPNTKTIFDESSSSGASAEEDQHASSNISLTLSYLPHTSENTAYSGENEND CDAELRIWSVQEDDLAAGLSWIPFFGPGIEGLYTAGLIKNQNNLVCRLRRLANQTA KSLELLLRVTTEERTFSLINRHAIDFLLTRWGGTCKVLGPDCCIGIEDLSRNISEQID QIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDWGVLTNLGILLLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG
396-GP MARV 的信号肽氨基酸序列	WTTCFFISLILIQGIKTL
397 - GP MARV 的信号肽核酸序列-优化的	TGGACGACCTGCTTCTTCATCTCCCTAATCCTAATCCAGGGAATCAAGACCCTA
398-GP MARV 的跨膜结构域氨基酸序列	WWTSDWGVLTNLGILLLLSIAVLIALSCICRIFTKYIG

[0294]

399- GP MARV 的跨膜结构域氨基酸序列-优化的	TGGTGGACATCTGACTGGGGAGTCCTAACGAACCTAGGAATCCTACTACTATT GTCGATCGCGGTCCTAATCGCGCTATCCTGTATCTGTAGAATCTTCACCAAGTA CATCGGA
400-MARVVP40 氨基酸序列	ASSSNYNTYMQYLNPPPYADHGANQLIPADQLSNQHGITPNYVGDLNLDDQFKGN VCHAFTLEAIIDISAYNERTVKGVPAWLPLGIMSNFEYPLAHTVAALLTGSYTITQF THNGQKFVRVNRLGTGIPAHPLRMLREGNQAFIQNMVIPRNFSTNQFTYNLTNLVL SVQKLPDDAWRPSKDKLIGNTMHPAISIHPNLPPIVLPTVKKQAYRQHKNPNNGPL LAISGILHQLRVEKVPEKTSLFRISLPADMFSVKEGMMKKRGESSPVVYFQAPENFP LNGFNNRQVVLAYANPTLSAI
401-MARVVP40 核酸序列-优化的	GCGTCTAGTTCTAATTATAATACTTATATGCAATATCTAAATCCACCACCATAT GCGGATCATGGTGCTAATCAACTAATTCCAGCGGATCAACTATCTAATCAACA TGGAATTACACCAAATTATGTTGGAGATCTAAATCTAGATGATCAGTTTAAAG GAAATGTTTGTCATGCGTTTACACTAGAAGCGATTATTGATATTTCTGCGTATA ATGAAAGAACAGTAAAAGGTGTACCAGCTTGGCTACCACTAGGAATTATGTCT AATTTTGAATATCCACTAGCGCATACAGTAGCGGCGCTATTGACAGGATCTTAT ACAATTACACAGTTTACACATAATGGACAAAAgTTTGTTAGAGTAAATAGACT AGGAACTGGAATACCAGCGCATCCACTAAGAATGCTAAGAGAAGGAAATCAA GCTTTTATTCAAAATATGGTTATTCCAAGAAATTTcTCTACAAATCAGTTTACTT ATAATCTAACTAATCTAGTACTATCTGTACAAAAGCTACCAGATGATGCTTGGA GACCATCTAAAGATAAACTAATTGGAAATACAATGCATCCAGCGATTTCTATT CATCCAAATCTACCACCAATAGTACTACCAACTGTAAAgAAACAAGCGTATAG ACAACATAAgAATCCAAATAATGGACCACTATTGGCGATTTCTGGAATTCTACA TCAACTAAGAGTAGAAAAgGTACCAGAAAAgACATCTTTGTTTAGAATTTCTCT ACCAGCGGATATGTTTTCTGTAAAAGAAGGAATGATGAAgAAAAGAGGAGAAT CTTCTCCAGTAGTATATTTTCAAGCGCCAGAAAATTTTCCATTGAATGGTTTTA ATAATAGACAAGTAGTACTAGCGTATGCGAATCCAACACTATCTGCGATATAA TAA

[0295] 在一些实施方案中,任何上述SEQ ID NO:395-396和400进一步包括作为第一氨基酸残基的氨基酸残基甲硫氨酸(M)。在一些实施方案中,任何上述SEQ ID NO:397ad 401进一步包括作为编码序列的第一密码子的核酸密码子ATG。在具体实施方案中,编码的多肽包含:在各种替代实施方案中,((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域))、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解

肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_x$)、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域))、((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$)、((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽))、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)(病毒基质蛋白))、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$)、((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_x$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白))、((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$)、((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制肽-可裂解肽)$_x$)或((M)(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜结构域-可裂解肽)$_y$(病毒基质蛋白-可裂解肽)$_y$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽))，其中x＝1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10，y＝1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或多于10，M＝甲硫氨酸，并且其中分泌信号肽选自具有选自SEQ ID NO:57-90的氨基酸序列的肽，免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID NO:1-56的氨基酸序列的肽，可裂解肽选自具有选自SEQ ID NO:91-127的氨基酸序列的肽，糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO.396的氨基酸序列的肽，糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽，病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽，并且抗原肽是源自感染剂，例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素，或替代地，肿瘤相关抗原的肽。在一些实施方案中，抗原肽选自SEQ ID NO:349-394。在一些实施方案中，分泌信号肽选自具有选自SEQ ID NO:65和66的氨基酸序列的肽，免疫检查点抑制剂肽选自具有选自SEQ ID NO:1和5的氨基酸序列的肽，可裂解肽选自具有选自SEQ ID NO:93、120和123的氨基酸序列的肽，糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO.396的氨基酸序列的肽，糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽，并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽，并且抗原肽是源自感染剂，例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素，或替代地，肿瘤相关抗原的肽，或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394。在一些实施方案中，分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽，免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽，可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽，糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO:396的氨基酸序列的肽，糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽，并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽，和抗原肽是源自感染剂，例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素，或替代地，肿瘤相关抗原的肽，或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394，并且其中x＝1-10。在一些实施方案中，分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽，免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽，并且可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽，糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO:396的氨基酸序列的肽，糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽，并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽，和抗原肽是源自感染剂，例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素，或替代地，肿瘤相关抗原的肽，或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394，

其中x≥4。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的肽,可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO.396的氨基酸序列的肽,糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽,并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽,和抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素,或替代地,肿瘤相关抗原的肽,或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394,并且其中x=4、5或6。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO:396的氨基酸序列的肽,糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽,并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽,并且抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素,或替代地,肿瘤相关抗原的肽,或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394,其中x=1-10。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO:396的氨基酸序列的肽,糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽,并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽,和抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素或替代地肿瘤相关抗原的肽,抗原肽选自SEQ ID NO:349-394,其中x≥4。在一些实施方案中,分泌信号肽是具有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的肽,免疫检查点抑制剂肽是具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的肽,可裂解肽是具有SEQ ID NO:123的氨基酸序列的肽,糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO.396的氨基酸序列的肽,糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽,并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽,并且抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素或替代地肿瘤相关抗原的肽,或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394,其中x=4、5或6。在一些实施方案中,编码的多肽包含SEQ ID NO.325或333,糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO.396的氨基酸序列的肽,糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽,并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽,并且抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素或替代地肿瘤相关抗原的肽,或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394。在一些实施方案中,编码的多肽包含SEQ ID NO.329或337,糖蛋白信号肽是具有SEQ ID NO.396的氨基酸序列的肽,糖蛋白跨膜结构域是具有SEQ ID NO.398的氨基酸序列的肽,并且病毒基质蛋白(当存在时)是具有SEQ ID NO:400的氨基酸序列的肽,并且抗原肽是源自感染剂,例如病毒、细菌、寄生虫、真菌或类毒素或替代地肿瘤相关抗原的肽,或抗原肽选自SEQ ID NO:349-394。

[0296] 在替代的实施方案中,本发明的rMVA病毒载体,除了能够表达多个免疫检查点抑制剂之外,还可进一步构建为编码和表达一种或多种在一个或多个单独的核酸插入物上编码的抗原肽。在一些实施方案中,编码本文所述的多个免疫检查点抑制剂肽的核酸序列插入到rMVA的一个基因座中,并且编码抗原肽的一个或多个异源核酸序列插入到rMVA的单独基因座中。一种或多种抗原肽可源自抗原靶章节中所述的任何靶标,出于所有目的以其整体并入本节中。在一些实施方案中,抗原肽源自选自SEQ ID NO:349-396、398或400的任何氨基酸序列,或由其衍生的片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同

的氨基酸序列。如果作为单独的核酸插入物插入,编码氨基酸残基甲硫氨酸(M)的起始密码子可被包括作为源自选自SEQ ID NO:349-396、398或400或由其衍生的片段的任何氨基酸序列,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列的抗原肽的第一残基。

[0297] 在某些实施方案中,除了编码本文所述免疫检查点抑制剂多肽的多顺反子核酸之外,rMVA进一步编码包含抗原肽的嵌合肽,其包含抗原的胞外结构域和病毒糖蛋白的跨膜结构域,并且进一步编码病毒基质蛋白,其中嵌合肽和病毒基质蛋白(在表达时)能够在体内形成病毒样颗粒(VLP)。在一些实施方案中,病毒糖蛋白的跨膜结构域源自SEQ ID NO:398的氨基酸或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,病毒基质蛋白源自马尔堡病毒VP40蛋白,例如,如在SEQ ID NO:404或其片段,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列中提供的。在一些实施方案中,rMVA编码SEQ ID NO:329或其片段的氨基酸序列,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,SEQ ID NO:402或其片段的氨基酸序列,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,以及SEQ ID NO:404或其片段的氨基酸序列,或与其至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0298] 表11-MUC-插入物序列

[0299]

SEQ ID NO: 402 -MUC-1-MARV GPTM-优化核酸序列	ATGACACCTGGAACACAATCTCCATTCTTCCTACTACTACTATTGACAGTACTAACA GTAGTAACAGGATCTGGACATGCGTCTAGTACACCAGGTGGAGAGAAGGAAACAT CTGCGACTCAAAGATCTTCTGTACCATCTTCTACAGAGAAGAATGCGGTATCTATG ACATCTAGTGTACTATCTTCTCATTCTCCTGGATCTGGATCTTCTACTACACAAGGA CAAGATGTAACACTAGCGCCAGCTACAGAACCAGCTTCTGGATCTGCTGCTACTTG GGGTCAAGATGTTACTTCTGTTCCAGTAACAAGACCAGCGCTAGGATCTACAACAC CACCAGCGCATGATGTAACAAGTGCGCCAGATAATAAGCCAGCGCCTGGTTCTACT GCTCCACCAGCTCATGGTGTTACTTCAGCGCCTGATACAAGACCCGCACCCGGATC TACCGCTCCGCCTGCACACGGCGTCACATCTGCTCCCGACACTCGTCCAGCTCCTGG TAGCACAGCACCTCCAGCGCATGGAGTAACCAGTGCACCAGATACCCGACCTGCGC CGGGCAGTACTGCCCCACCGGCCCACGGGGTGACGAGCGCCCCGGACACGCGCCC AGCTCCAGGGTCAACGGCGCCCCCTGCTCATGGTGTTACAAGTGCACCTGATAATA GACCTGCGTTGGGATCTACTGCGCCTCCAGTTCATAATGTAACATCAGCGTCTGGA AGTGCGTCTGGTTCTGCGTCTACATTGGTTCATAATGGTACATCTGCGAGAGCGAC AACAACTCCAGCGTCTAAGTCTACACCATTCTCTATTCCATCTCATCATTCTGATAC ACCAACAACATTGGCGAGTCATTCTACAAAGACAGATGCGAGTTCTACACATCATT CTACTGTACCACCACTAACATCTTCTAATCATAGTACATCTCCACAACTATCTACTG GTGTATCTTTCTTCTTCCTATCCTTTCATATTTCTAATCTACAGTTCAATTCTAGTTT GGAAGATCCATCTACAGATTATTATCAAGAACTACAAAGAGATATTTCTGAAATGT TTCTACAAATATATAAACAAGGAGGATTTCTAGGACTATCTAATATTAAGTTTAGA CCAGGATCTGTAGTAGTTCAACTAACTCTAGCGTTTAGAGAAGGTACTATTAATGT ACATGATGTTGAAACACAGTTTAATCAATATAAGACAGAAGCGGCGTCTAGATATA ATCTAACAATTTCTGATGTATCTGTATCTGATGTTCCATTTCCATTCTCTGCGCAATC TGGTGCTGGTGTATGGTGGACATCTGATTGGGGAGTACTAACTAATCTAGGAATTC TACTATTGCTATCTATTGCGGTACTAATTGCGCTATCTTGTATATGTAGAAGAAAGA ATTATGGACAACTAGATATTTTCCCAGCGAGAGATACTTATCATCCAATGTCTGAA TATCCAACATATCATACACATGGAAGATATGTACCACCTTCTTCAACAGATAGATC TCCATATGAGAAGGTATCTGCGGGAAATGGTGGTTCTTCTCTATCTTATACAAATCC AGCGGTAGCGGCGACTTCTGCGAATCTATAA
SEQ ID NO: 403-MUC-1-MARV GPTM-氨基酸序列	MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNAVSMTSSV LSSHSPGSGSSTTQGQDVTLAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPALGSTTPPAHDVT SAPDNKPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGV TSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDNRPALGSTAPPVHN VTSASGSASGSASTLVHNGTSARATTTPASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTH HSTVPPLTSSNHSTSPQLSTGVSFFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFLQI YKQGGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDV SVSDVPFPFSAQSGAGVWWTSDWGVLTNLGILLLLSIAVLIALSCICRRKNYGQLDIFPA RDTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSSLSYTNPAVAATSANL
SEQ ID NO: 404-马尔堡病毒 VP40 核酸序列	ATGGCGTCTAGTTCTAATTATAATACTTATATGCAATATCTAAATCCACCACCATAT GCGGATCATGGTGCTAATCAACTAATTCCAGCGGATCAACTATCTAATCAACATGG AATTACACCAAATTATGTTGGAGATCTAAATCTAGATGATCAGTTTAAAGGAAATG TTTGTCATGCGTTTACACTAGAAGCGATTATTGATATTTCTGCGTATAATGAAAGAA CAGTAAAAGGTGTACCAGCTTGGCTACCACTAGGAATTATGTCTAATTTTGAATAT CCACTAGCGCATACAGTAGCGGCGCTATTGACAGGATCTTATACAATTACACAGTT TACACATAATGGACAAAAGTTTGTTAGAGTAAATAGACTAGGAACTGGAATACCA GCGCATCCACTAAGAATGCTAAGAGAAGGAAATCAAGCTTTTATTCAAAATATGGT TATTCCAAGAAATTTCTCTACAAATCAGTTTACTTATAATCTAACTAATCTAGTACT ATCTGTACAAAAGCTACCAGATGATGCTTGGAGACCATCTAAAGATAAACTAATTG GAAATACAATGCATCCAGCGATTTCTATTCATCCAAATCTACCACCAATAGTACTA CCAACTGTAAAGAAACAAGCGTATAGACAACATAAGAATCCAAATAATGGACCAC TATTGGCGATTTCTGGAATTCTACATCAACTAAGAGTAGAAAAGGTACCAGAAAAG ACATCTTTGTTTAGAATTTCTCTACCAGCGGATATGTTTTCTGTAAAAGAAGGAATG ATGAAGAAAAGAGGAGAATCTTCTCCAGTAGTATATTTTCAAGCGCCAGAAAATTT TCCATTGAATGGTTTTAATAATAGACAAGTAGTACTAGCGTATGCGAATCCAACAC TATCTGCGATATAA
SEQ ID NO: 405-马尔堡病毒 VP40 氨基酸序列	MASSSNYNTYMQYLNPPPYADHGANQLIPADQLSNQHGITPNYVGDLNLDDQFKGNV CHAFTLEAIIDISAYNERTVKGVPAWLPLGIMSNFEYPLAHTVAALLTGSYTITQFTHNG QKFVRVNRLGTGIPAHPLRMLREGNQAFIQNMVIPRNFSTNQFTYNLTNLVLSVQKLPD DAWRPSKDKLIGNTMHPAISIHPNLPPIVLPTVKKQAYRQHKNPNNGPLLAISGILHQLR VEKVPEKTSLFRISLPADMFSVKEGMMKKRGESSPVVYFQAPENFPLNGFNNRQVVLA YANPTLSAI

[0300] 序列优化

[0301] 构成本文提供的rMVA多顺反子核酸插入物的一个或多个核酸序列可被优化用于MVA载体。优化包括密码子优化,其采用沉默突变将选定的密码子从天然序列改变为由宿主-载体系统最优表达的同义密码子。其他类型的优化包括使用沉默突变来中断同聚物延伸或转录终止子基序。这些优化策略中的每一种均可提高基因的稳定性,改善转录物的稳定性,或改善序列的蛋白质表达的水平。在示例性实施方案中,异源DNA插入序列中同聚物延伸的数量将减少以稳定构建体。可以为类似牛痘终止信号的任何信号提供沉默突变。

[0302] 在示例性实施方案中,序列经密码子优化以在MVA表达;具有>5个脱氧鸟苷、>5个

脱氧胞苷、>5个脱氧腺苷和>5个脱氧胸苷的延伸的序列被沉默突变中断,以最小化由于移码突变引起的表达损失。

[0303] 特别地,用于插入的核酸可以通过对原始DNA序列进行密码子优化来优化。例如,“Invitrogen GeneArt Gene Software”可用于对DNA序列进行密码子优化。为了充分优化基因序列,同聚物序列(富含G/C或T/A的区域)通过沉默突变被中断。就核酸插入序列存在的程度而言,MVA转录终止子(T5NT(UUUUUNU))通过沉默突变中断。进一步的优化可包括,例如,添加Kozak序列(GCCACC/ATG)、添加第二终止密码子和添加牛痘病毒转录终止子,特别是“TTTTTAT”或其变体和/或组合。

[0304] 药物组合物

[0305] 本发明的重组MVA病毒载体易于单独或组合配制成兽用或人用药物组合物。药物组合物可包含药学上可接受的稀释剂、赋形剂、载体或佐剂,或在替代实施方案中,包含一种或多种抗原剂,例如源自传染病的抗原,或在替代实施方案中,肿瘤相关抗原。

[0306] 在一个实施方案中,rMVA用作有效增强对感染剂的免疫原性的佐剂,以预防和/或治疗感染,该rMVA包含编码至少两种或更多种本文所述免疫检查点抑制剂肽的多顺反子核酸插入物。在替代实施方案中,rMVA用作有效增强对感染剂的免疫原性的疫苗,以预防和/或治疗感染,该rMVA包含编码本文所述至少两种或更多种免疫检查点抑制剂肽和一种或多种抗原肽的多顺反子核酸插入物。

[0307] 如本文所用,短语“药学上可接受的载体”涵盖任何标准药用载体,例如适用于胃肠外施用的那些载体,例如肌内、关节内(在关节中)、静脉内、皮内、腹膜内和皮下途径。此类制剂的实例包括水性和非水性、等渗无菌注射液,其含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使制剂与预期接受者的血液等渗的溶质,以及水性和非水性无菌混悬剂,其可包括助悬剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。一种示例性的药学上可接受的载体是生理盐水。载体包括赋形剂和稀释剂,并且必须具有足够高的纯度和足够低的毒性以使其适合于对正在治疗的患者施用。载体可以是惰性的,或其自身可以具有药物益处。与化合物结合使用的载体的量足以提供每单位剂量的化合物的实际施用物质的量。

[0308] 其他生理上可接受的稀释剂、赋形剂、载体或另外的佐剂及其制剂是本领域技术人员已知的。

[0309] 在一些实施方案中,另外的佐剂被用作进一步的免疫应答增强剂。在各种实施方案中,另外的免疫应答增强剂选自基于明矾的佐剂、油基佐剂、Specol、RIBI、TiterMax、Montanide ISA50或Montanide ISA 720、GM-CSF、非离子嵌段共聚物基佐剂、基于二甲基二-十八烷基溴化铵(DDA)的佐剂AS-1、AS-2、基于Ribi佐剂系统的佐剂、QS21、Quil A、SAF(微流化形式的Syntex佐剂(SAF-m))、二甲基-二-十八烷基溴化铵(DDA))、基于人补体的佐剂母牛分枝杆菌菌苗、ISCOMS、MF-59、SBAS-2、SBAS-4、Enhanzyn®、RC-529、AGPs、MPL-SE、QS7、七叶皂苷;洋地黄皂苷;满天星;和藜麦皂苷。

[0310] 本文所述方法中使用的组合物可通过选自例如胃肠外、肌内、动脉内、血管内、静脉内、腹膜内、皮下、真皮、经皮、眼内、吸入、含服、舌下、舌周、鼻内、局部施用和口服施用的途径施用。优选的施用方法可根据各种因素(例如,所施用的组合物的组分和所治疗病症的严重程度)而有所不同。适用于口服施用的制剂可由液体溶液组成,例如有效量的溶解在稀释剂(例如,水、盐水或PEG-400)中的组合物、胶囊、小袋或片剂,各自含有预定量的疫苗。药

物组合物也可以是用于吸入,例如吸入到支气管通道的气雾制剂。气雾制剂可与加压的、药学上可接受的推进剂(例如,二氯二氟甲烷、丙烷或氮气)混合。

[0311] 为了本发明的目的,适用于递送治疗或生物活性剂的药物组合物可包括例如,片剂、胶囊锭、胶囊、丸剂、粉末、颗粒、混悬剂、乳剂、溶液、凝胶、水凝胶、口服凝胶、糊剂、滴眼剂、软膏剂、乳膏剂、糊剂、灌肠剂、递送装置、栓剂、灌肠剂、注射剂、植入剂、喷雾剂或气雾剂。任何此类制剂均可通过本领域众所周知和接受的方法制备。参见,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy(第21版),A.R.Gennaro,Lippincott Williams& Wilkins,2005,和Encyclopedia of Pharmaceutical Technology,J.Swarbrick编辑,Informa Healthcare,2006,各自通过引用并入本文。

[0312] 适用于口服施用的制剂可由以下组成:(a)液体溶液,例如有效量的溶解在稀释剂,例如水、盐水或聚乙二醇400中的疫苗;(b)胶囊、小袋或片剂,各自含有预定量的疫苗,如液体、固体、颗粒或明胶;(c)在适当液体中的混悬剂;(d)合适的乳液;和(e)多糖聚合物,例如几丁质。疫苗,单独或与其他合适的组分组合,也可制成气溶胶制剂,其通过吸入施用,例如,施用至支气管通道。气溶胶制剂可被置于可接受的加压推进剂中,例如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气等。

[0313] 用于直肠施用的合适制剂包括,例如,由疫苗和栓剂基质组成的栓剂。合适的栓剂基质包括天然或合成的甘油三酯或链烷烃。此外,也可以使用由疫苗和基质(包括例如液体甘油三酯、聚乙二醇和链烷烃)的组合组成的明胶直肠胶囊。本发明的疫苗也可与细胞因子共同施用以进一步增强免疫原性。细胞因子可通过本领域技术人员已知的方法施用,例如作为质粒形式的核酸分子或作为蛋白质或融合蛋白施用。

[0314] 除了活性化合物之外,药物制剂可含有其他添加剂,例如pH调节添加剂。特别地,有用的pH调节剂包括酸如盐酸、碱或缓冲剂,例如乳酸钠、乙酸钠、磷酸钠、柠檬酸钠、硼酸钠或葡萄糖酸钠。此外,制剂可含有抗微生物防腐剂。有用的抗微生物防腐剂包括对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯和苯甲醇。当制剂被放置在设计用于多剂量使用的小瓶中时,通常采用抗微生物防腐剂。本文所述的药物制剂可使用本领域众所周知的技术进行冻干。

[0315] 当需要水性混悬剂和/或酏剂用于口服施用时,本公开主题的组合物可与各种甜味剂、调味剂、着色剂、乳化剂和/或助悬剂以及如水、乙醇、丙二醇、甘油的稀释剂及其各种类似组合相组合。

[0316] 在又一个实施方案中,药物组合物以包含本文所述的rMVA的可注射、稳定、无菌制剂的形式,以单位计量形式在密封容器中提供。rMVA可以冻干物的形式提供,其能够用合适的药学上可接受的载体重构以形成适用于将其注射至宿主的液体制剂。

[0317] 载体的种类包括但不限于粘合剂、缓冲剂、着色剂、稀释剂、崩解剂、乳化剂、调味剂、助流剂、润滑剂、防腐剂、稳定剂、表面活性剂、压片剂和湿润剂。一些载体可以被列为多于一个类别,例如,植物油可以在一些制剂中用作润滑剂,而在其他制剂中用作稀释剂。药学上可接受的载体是以相应药物组合物中使用的量给药时不会在人体内引起任何严重不良反应的载体。示例性的药学上可接受的载体包括糖、淀粉、纤维素、黄蓍胶粉末、麦芽、明胶;滑石和植物油。药物组合物中可包含任选的活性剂,其基本上不干扰本发明的形态或药物组合物的活性。

[0318] 适用于肺部施用的制剂可通过多种被动呼吸驱动和主动动力驱动的单/多剂量干

粉吸入器(DPI)递送。最常用于呼吸系统递送的装置包括雾化器、定量吸入器和干粉吸入器。有多种类型的雾化器可用,包括喷射雾化器、超声波雾化器和振动网式雾化器。根据参数(如药物的性质及其制剂、作用位点和肺部的病理生理学)选择合适的肺部递送装置。

[0319] 在某些实施方案中,包含本文所述的rMVA的药物组合物作为包含来自《药用赋形剂手册》第9版(或更早版本)中的一种或多种赋形剂的药物组合物施用。

[0320] 药学上可接受的赋形剂的另外非限制性实例包括植物油、动物油、鱼油或矿物油。例如选自以下的油:中链脂肪酸甘油三酯、苋菜油、杏油、苹果油、摩洛哥坚果油、朝鲜蓟油、牛油果油、杏仁油、巴西莓提取物、花生油、布法罗南瓜油、琉璃苣籽油、琉璃苣油、巴巴苏油、椰子油、玉米油、棉子油(棉籽油)、腰果油、角豆树油、芫荽油、山茶油(茶花油)、花菜油、角栗树油、黑醋栗油、鹿油、月见草油、葡萄浆油(木槿油)、葡萄籽油、葫芦油、榛子油、大麻油、木棉油、磷虾油、亚麻籽油、澳洲坚果油、蒙古油、辣木油、马鲁拉油、白芒花油、芥末油、黑芝麻油、橄榄油、秋葵油(芙蓉油)、棕榈油、棕榈仁油、花生油、山核桃油、松油、开心果油、南瓜油、木瓜油、紫苏子油(紫苏油)、罂粟籽油、西梅油、锯棕榈油、藜麦油、菜籽油、米胚油、米糠油、稻米油、rarelman cheer油、红花油(红花籽油)、大豆油、芝麻油、葵花籽油、蓟油、西红柿油、麦胚油、胡桃油、西瓜油、二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)、维生素A油、维生素D油、维生素E油、维生素K油及其衍生物;和甘油磷脂,例如卵磷脂,及其任何组合。

[0321] 在某些实施方案中,本发明中的赋形剂在室温下可以是液体(例如脂肪油)或固体(脂肪等)。

[0322] 使用方法

[0323] 本发明的组合物可用作增强免疫应答的佐剂或诱导免疫应答的疫苗。

[0324] 在示例性实施方案中,本发明提供了用于在有需要的受试者(例如,未暴露的受试者)中预防感染的方法中使用的佐剂,所述方法包括将本发明的组合物与有效量的抗原剂组合向受试者施用。替代地,本发明提供了用于在有需要的受试者(例如,未暴露的受试者)中预防感染的方法中使用的疫苗,所述方法包括向受试者施用本发明的组合物。方法的结果是针对感染对受试者进行部分或完全的免疫。

[0325] 在其他示例性实施方案中,本发明提供了用于在有需要的受试者中治疗如癌症的病症的方法中使用的佐剂,所述方法包括向受试者施用本发明的组合物与有效量肿瘤相关抗原剂的组合。替代地,本发明提供了用于在有治疗有需要的受试者中治疗如癌症的病症的方法中使用的疫苗,所述方法包括向受试者施用本发明的组合物。

[0326] 在示例性实施方案中,本发明提供了用于治疗感染剂的方法中的佐剂(例如,暴露的受试者,诸如最近暴露但尚未出现症状的受试者,或最近暴露但仅出现轻微症状的受试者),所述方法包括向受试者施用本发明的组合物与治疗有效量的靶向感染剂的抗原剂的组合。在示例性实施方案中,本发明提供了用于治疗感染剂的方法中的疫苗(例如,暴露的受试者,诸如最近暴露但尚未出现症状的受试者,或最近暴露但仅出现轻微症状的受试者),所述方法包括向受试者施用本发明的组合物。治疗的结果是受试者具有改善的治疗概况。结果是改善的治疗概况。在某些情况下,与同等的未经治疗的对照相比,治疗可以改善病症或其症状,如通过任何标准技术测量的,例如5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或100%。在一些情况下,治疗可导致感染剂复制的抑制、感染剂滴度

或负荷的降低、感染剂的根除或清除。在其他实施方案中,治疗可导致感染的一种或多种症状的改善,包括上述任何症状。根据该实施方案,可以通过检测症状的改善或不存在来评估治疗的确认。

[0327] 根据所述方法进行治疗的受试者可以是已被执业医师诊断为患有此类病症的受试者。诊断可通过任何合适的方式进行。正在预防感染发展的受试者可能接收或未接受此类诊断。本领域技术人员将理解,根据本发明待治疗的受试者可能已使用标准测试确认,或由于存在一种或多种风险因素(例如,暴露于2019-nCoV等)而鉴定为高风险受试者(未经检查)。

[0328] 在其他实施方案中,治疗可导致受试者将感染传播至另一未受感染受试者的能力降低或消除。根据该实施方案的治疗的确认通常使用用于确定病况改善的相同方法进行评估,但是预防传播所需的病毒滴度或病毒负荷的降低可能不同于改善疾病所需的病毒滴度或病毒负荷的降低。

[0329] 在一个实施方案中,本发明是通过向受试者施用本文所述的编码两种或更多种免疫检查点抑制剂肽的重组MVA病毒载体与抗原剂的组合在受试者(例如,人)中诱导免疫应答的方法。免疫应答可以是细胞免疫应答或体液免疫应答或其组合。

[0330] 组合物可通过例如注射(例如,肌内、动脉内、血管内、静脉内、腹膜内或皮下)施用。

[0331] 应当理解,可以同时或依次采用一种以上的本发明的疫苗的施用途径(例如,增强)。此外,本发明的佐剂或疫苗可与传统的免疫方法组合使用,例如使用蛋白抗原、牛痘病毒和灭活病毒作为疫苗。因此,在一个实施方案中,将本发明的疫苗向受试者施用(用本发明的疫苗“初免”受试者),并且然后施用传统疫苗(用传统疫苗“增强”受试者)。在另一个实施方案中,首先向受试者施用传统疫苗,然后施用本发明的佐剂或疫苗。在又一个实施方案中,传统疫苗和本发明的佐剂或疫苗共同施用。

[0332] 虽然不受任何特定机制的限制,据信,在用本文所述的药物组合物接种后,宿主的免疫系统通过产生对于感染剂或肿瘤相关抗原特异性的抗体(分泌性和血清)对与抗原剂或疫苗组合的佐剂作出反应;以及通过产生对于靶向的试剂的细胞介导的免疫应答。作为疫苗接种的结果,宿主对靶向的感染至少部分或完全免疫,或对由靶向感染引起的中度或重度疾病具有抗性。

[0333] 在一些实施方案中,施用是一次。在一些实施方案中,重复施用至少两次、至少三次、至少四次、至少五次、至少六次、至少七次、至少八次或多于八次。

[0334] 在一个实施方案中,重复施用两次。

[0335] 在一个实施方案中,提供了约2-8次、约4-8次或约6-8次施用。

[0336] 在一个实施方案中,在施用之间提供约1-4周、2-4周、3-4周、1周、2周、3周、4周或多于4周的间隔。

[0337] 在一个具体实施方案中,两次施用之间使用4周的间隔。

[0338] 剂量

[0339] 佐剂与抗原剂或疫苗组合以与剂量制剂相容的方式施用,并以治疗有效、免疫原性和保护性的量施用。待施用的量取决于待治疗的受试者,包括例如个体的免疫系统合成抗体的能力,并且,如果需要,产生细胞介导的免疫应答的能力。需要施用的活性成分的精

确量取决于执业医师的判断,并且可以根据具体的患者进行监测。然而,合适的剂量范围由本领域技术人员容易地确定,并且通常范围为约$5.0\chi10^{6}TCID_{50}$至约$5.0\chi10^{9}TCID_{50}$。剂量还可取决于(但不限于)施用途径、患者的健康状态和体重以及制剂的性质。

[0340] 本发明的药物组合物以对增强靶向抗原的免疫原性的的治疗有效的量施用。施用的剂量取决于待治疗的受试者(例如,施用方式以及所治疗的受试者的年龄、体重、免疫系统能力和总体健康状况)。组合物以提供增强或引发免疫应答,而不产生不适当的不利生理作用的充分表达水平的量施用。优选地,本发明的组合物以例如在$1.0\chi10^{4}$至$9.9\chi10^{12}TCID_{50}$之间,优选地在$1.0\chi10^{5}TCID_{50}$至$1.0\chi10^{11}TCID_{50}$ pfu之间,更优选地在$1.0\chi10^{6}$至$1.0\chi10^{10}TCID_{50}$ pfu之间,或最优选地在$5.0\chi10^{6}$至$5.0\chi10^{9}TCID_{50}$之间的病毒载体的剂量施用。组合物可以包括例如至少$5.0\chi10^{6}TCID_{50}$的病毒载体(例如,$1.0\chi10^{8}TCID_{50}$的病毒载体)。医师或研究人员可以决定适当的量和剂量方案。

[0341] 该方法的组合物可包括例如在$1.0\chi10^{4}$至$9.9\chi10^{12}TCID_{50}$的病毒载体,优选地在$1.0\chi10^{5}TCID_{50}$至$1.0\chi10^{11}TCID_{50}$ pfu之间,更优选地在$1.0\chi10^{6}$至$1.0\chi10^{10}TCID_{50}$ pfu之间,或最优选地$5.0\chi10^{6}$至$5.0\chi10^{9}TCID_{50}$之间。组合物可包括例如至少$5.0\chi10^{6}TCID_{50}$的病毒载体(例如$1.0\chi10^{8}TCID_{50}$的病毒载体)。方法可包括例如向受试者施用组合物两次或更多次。

[0342] 术语“有效量”意旨以临床相关方式为改善、抑制或改进受试者的病症或障碍的症状(例如,改善、抑制或改进沙雷病毒的感染或提供对感染的有效免疫应答)而施用的组合物的量。受试者的任何改善均被视为足以实现治疗。优选地,足以治疗的量是预防靶向的感染或癌症的发生或一种或多种症状的量,或降低受试者遭受靶向的感染或癌症的一种或多种症状的严重程度或持续时间长度的量(例如,相对于未用本发明的组合物治疗的对照受试者,降低至少10%、20%或30%,更优选地降低至少50%、60%或70%,并且最优选地降低至少80%、90%、95%、99%或更多)。

[0343] 在一些情况下,可期望将本发明的rMVA病毒与免疫原性组合物组合,其诱导对一种以上感染剂(尤其是其他病毒)的保护性反应。例如,本发明的佐剂组合物可以与其他基因免疫疫苗同时、单独或依序施用,例如用于流感(Ulmer,J.B.等人,Science 259:1745-1749(1993);Raz,E.等人,PNAS(USA)91:9519-9523(1994))、疟疾(Doolan,D.L.等人,J.Exp.Med.183:1739-1746(1996);Sedegah,M.等人,PNAS(USA)91:9866-9870(1994))和结核(Tascon,R.C.等人,Nat.Med.2:888-892(1996))的那些疫苗。

[0344] 施用

[0345] 如本文所用,术语“施用”是指向受试者给予一定剂量的本发明的药物组合物的方法。本文所述方法中使用的组合物可通过选自例如胃肠外、经皮、透皮、眼、吸入、含服、舌下、舌周、鼻、直肠、局部施用和口服施用的途径施用。胃肠外施用包括静脉内、腹膜内、皮下、动脉内、血管内和肌内施用。优选的施用方法可根据各种因素(例如,所施用的组合物的组分和所治疗病症的严重程度)而变化。

[0346] 本发明的药物组合物(例如,佐剂或疫苗)的施用可以通过本领域技术人员已知的任何途径进行。施用可以通过例如肌内注射进行。本文所述方法中使用的组合物还可以通过选自例如胃肠外、真皮、经皮、眼、吸入、含服、舌下、舌周、鼻、直肠、局部施用和口服施用的途径施用。胃肠外施用包括静脉内、腹膜内、皮下和肌内施用。优选的施用方法可以根据各种因素而变化,例如所施用的组合物的组分和所治疗疾病的严重程度。

[0347] 此外,可以向受试者给予本发明组合物的单次或多次施用。例如,对靶向的抗原剂易感的受试者可能需要多次治疗以建立和/或维持对于病毒的保护。本文所述药物组合物提供的诱导免疫水平可通过例如测量中和的分泌和血清抗体的量来监测。然后剂量可根据需要调整或重复,以维持对病毒感染的所需保护水平。

[0348] 实施方案

[0349] 本文提供至少以下实施方案:

[0350] 1.一种包含异源多顺反子核酸的重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其中该多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_X$,其中x=2-10,并且M为甲硫氨酸。

[0351] 2.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中该多顺反子核酸编码((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)),其中x=1-10,M为甲硫氨酸。

[0352] 3.根据实施方案1或2的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1-56的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0353] 4.根据实施方案1-3的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO:1-15的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0354] 5.根据实施方案1-4的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO:1或5的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0355] 6.根据实施方案1-5的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0356] 7.根据实施方案1-5的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0357] 8.根据实施方案1-7的rMVA,其中该分泌信号肽包含选自SEQ ID NO:57-90的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0358] 9.根据实施方案1-8的rMVA,其中该分泌信号肽包含选自SEQ ID NO:65的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0359] 10.根据实施方案1-8的rMVA,其中该分泌信号肽包含选自SEQ ID NO:66的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0360] 11.根据实施方案1-10的rMVA,其中该可裂解肽包含选自SEQ ID NO:91-127的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0361] 12.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽包含选自SEQ ID NO:93、120和123的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0362] 13.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X=任何氨基酸(SEQ ID NO:91)。

[0363] 14.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X=R、K或H(SEQ ID NO:92)。

[0364] 15.根据实施方案1-12的rMVA,其中该可裂解肽为RAKR(SEQ ID NO:93)。

[0365] 16.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽为RRRR(SEQ ID NO:94)。

[0366] 17.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽为RKRR(SEQ ID NO:95)。

[0367] 18.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽为RRKR(SEQ ID NO:96)。

[0368] 19.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽为RKKR(SEQ ID NO:97)。

[0369] 20.根据实施方案1-11的rMVA,其中该可裂解肽为SEQ ID NO:123-127的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0370] 21.根据实施方案1-12的rMVA,其中该可裂解肽为SEQ ID NO:123的氨基酸,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0371] 22.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:309-324的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0372] 23.根据实施方案1-22的rMVA,其中x≥4。

[0373] 24.根据实施方案1-22的rMVA,其中x=3、4或5。

[0374] 25.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:325-340的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0375] 26.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:341-344的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0376] 27.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码选自SEQ ID NO:345-348的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0377] 28.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码SEQ ID NO:325的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0378] 29.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码SEQ ID NO:329的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0379] 30.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码SEQ ID NO:333的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0380] 31.根据实施方案1-2的rMVA,其中该多顺反子核酸编码SEQ ID NO:337的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0381] 32.根据实施方案1-31的rMVA,其中该多顺反子核酸进一步编码抗原肽。

[0382] 33.根据实施方案32的rMVA,其中该抗原肽源自感染剂和肿瘤相关抗原。

[0383] 34.根据实施方案33的rMVA,其中该感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

[0384] 35.根据实施方案34的rMVA,其中该病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA逆转录病毒;双链DNA逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

[0385] 36.根据实施方案32的rMVA,其中该抗原肽源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫属寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV

SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

[0386] 37.根据实施方案32的rMVA,其中该抗原肽源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;SARS-CoV2NSP15-16氨基酸序列;MUC-1MARV GPTM氨基酸序列;马尔堡病毒VP40氨基酸序列;和MUC-1-ECD-MARVTM-ICD序列;或其片段。

[0387] 38.根据实施方案33的rMVA,其中该肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过度表达/累积的肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

[0388] 39.根据实施方案33的rMVA,其中该肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII,或其片段。

[0389] 40.根据实施方案32的rMVA,其中该抗原肽源自粘蛋白1或其片段。

[0390] 41.根据实施方案40的rMVA,其中该粘蛋白1由SEQ ID NO:402的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列编码。

[0391] 42.根据实施方案40的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:349的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0392] 43.根据实施方案40的rMVA,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0393] 44.根据实施方案40的rMVA,其中该粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞外结构域片段。

[0394] 45.根据实施方案44的rMVA,其中该人粘蛋白1的胞外结构域片段选自SEQ ID NO:358-361的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0395] 46.根据实施方案40的rMVA,其中该粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞内结构域片段。

[0396] 47.根据实施方案46的rMVA,其中该人粘蛋白1的胞内结构域片段包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0397] 48.根据实施方案40的方法,其中该粘蛋白1选自SEQ ID NO:363-364的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0398] 49.根据实施方案48的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:363的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0399] 50.根据实施方案48的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:364的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0400] 51.根据实施方案32的rMVA,其中该抗原肽源自选自SEQ ID NO:349-357的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0401] 52.根据实施方案32的rMVA,其中该抗原肽源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0402] 53.根据实施方案51-52的rMVA,其中该抗原肽源自选自SEQ ID NO:350、354、356、365、366、367、368、369、377、379的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0403] 54.根据实施方案32-53的rMVA,其中该抗原肽包括分泌信号。

[0404] 55.根据实施方案54的rMVA,其中该分泌信号融合至该抗原肽的N-末端。

[0405] 56.根据实施方案55的rMVA,其中该分泌信号选自SEQ ID NO:57-90的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0406] 57.根据实施方案56的rMVA,其中该分泌信号包含SEQ ID NO.65的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0407] 58.根据实施方案56的rMVA,其中该分泌信号包含SEQ ID NO.66的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0408] 59.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸插入两个必需且高度保守的MVA基因之间。

[0409] 60.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸插入天然缺失位点中。

[0410] 61.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入MVA中。

[0411] 62.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间的位点插入rMVA中。

[0412] 63.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间的位点插入rMVA中。

[0413] 64.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自MVA基因A5和A6L之间的位点插入rMVA中。

[0414] 65.根据实施方案32-64的rMVA,其中该编码抗原肽氨基酸序列的核酸位于甲硫氨酸(M)起始密码子下游的开放阅读框中。

[0415] 66.一种增加患者中对靶抗原的免疫应答的方法,其包括向患者施用有效量的实施方案1-65的rMVA病毒载体,其中该患者已经或正在施用有效量的靶抗原。

[0416] 67.根据实施方案66的方法,其中该rMVA病毒载体与靶抗原同时施用或之后施用。

[0417] 68.根据实施方案66-67的方法,其中该靶抗原选自感染剂和肿瘤相关抗原。

[0418] 69.根据实施方案68的方法,其中该感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

[0419] 70.根据实施方案69的方法,其中该病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA逆转录病毒;双链DNA逆转录病毒;黄

病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

[0420] 71.根据实施方案66-67的方法,其中该靶抗原源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫属寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

[0421] 72.根据实施方案66-67的方法,其中该靶抗原源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;或其片段。

[0422] 73.根据实施方案68的方法,其中该肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过度表达/累积的肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

[0423] 74.根据实施方案68的方法,其中该肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII,或其片段。

[0424] 75.根据实施方案66-67的方法,其中该靶抗原源自粘蛋白1或其片段。

[0425] 76.根据实施方案75的方法,其中该粘蛋白1由SEQ ID NO:402的核酸序列或与其至少95%相同的核酸序列编码。

[0426] 77.根据实施方案75的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:349的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0427] 78.根据实施方案75的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0428] 79.根据实施方案75的方法,其中该粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞外结构域片段。

[0429] 80.根据实施方案79的方法,其中人粘蛋白1的胞外结构域片段选自SEQ ID NO:358-361,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0430] 81.根据实施方案75的方法,其中该粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞内结构域片段。

[0431] 82.根据实施方案81的方法,其中该人粘蛋白1的胞内结构域片段包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0432] 83.根据实施方案75的方法,其中该粘蛋白1选自SEQ ID NO:363-364,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0433] 84.根据实施方案83的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:363的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0434] 85.根据实施方案83的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:364的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0435] 86.根据实施方案66-67的方法,其中该靶抗原源自选自SEQ ID NO:349-357的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0436] 87.根据实施方案66-67的方法,其中该靶抗原源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0437] 88.根据实施方案66-67的方法,其中该靶抗原源自选自SEQ ID NO:350、354、356、365、366、367、368、369、377、379的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0438] 89.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中该多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(分泌信号肽-抗原肽),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

[0439] 90.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中该多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜肽),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

[0440] 91.一种包含异源多顺反子核酸的rMVA病毒载体,其中该多顺反子核酸编码(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(糖蛋白信号肽-抗原肽-糖蛋白跨膜肽-可裂解肽)(病毒基质蛋白),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

[0441] 92.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含编码多肽的异源多顺反子核酸插入物,其中该多肽包含((M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-可裂解肽)$_x$(抗原肽)),其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸。

[0442] 93.根据实施方案89-92的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1-56的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0443] 94.根据实施方案89-93的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1-15的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0444] 95.根据实施方案89-94的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含选自SEQ ID NO.1或5的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0445] 96.根据实施方案89-95的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO.1的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0446] 97.根据实施方案89-95的rMVA,其中该免疫检查点抑制剂肽包含SEQ ID NO.5的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0447] 98.根据实施方案89-97的rMVA,其中该分泌信号肽包含选自SEQ ID NO.57-90的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0448] 99.根据实施方案89-98的rMVA,其中该分泌信号肽包含SEQ ID NO.65的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0449] 100.根据实施方案89-98的rMVA,其中该分泌信号肽包含SEQ ID NO.66的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0450] 101.根据实施方案89-100的rMVA,其中该可裂解肽包含选自SEQ ID NO.91-126的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0451] 102.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽包含选自SEQ ID NO.93、120和123的氨基酸序列。

[0452] 103.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X＝任何氨基酸(SEQ ID NO:91)。

[0453] 104.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽包含氨基酸序列RX(R/K)R,其中X＝R、K或H(SEQ ID NO:92)。

[0454] 105.根据实施方案89-102的rMVA,其中该可裂解肽为RAKR(SEQ ID NO:93)。

[0455] 106.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽为RRRR(SEQ ID NO:94)。

[0456] 107.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽为RKRR(SEQ ID NO:95)。

[0457] 108.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽为RRKR(SEQ ID NO:96)。

[0458] 109.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽为RKKR(SEQ ID NO:97)。

[0459] 110.根据实施方案89-101的rMVA,其中该可裂解肽包含选自SEQ ID NO.123-127的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0460] 111.根据实施方案89-102的rMVA,其中该可裂解肽包含SEQ ID NO.123的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0461] 112.根据实施方案89-111中的rMVA,其中该抗原肽源自感染剂和肿瘤相关抗原。

[0462] 113.根据实施方案112的rMVA,其中该感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

[0463] 114.根据实施方案113的rMVA病毒,其中该病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA逆转录病毒;双链DNA逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

[0464] 115.根据实施方案89-111的rMVA,其中该抗原肽源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

[0465] 116.根据实施方案89-111的rMVA,其中该抗原肽源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S

蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;或其片段。

[0466] 117.根据实施方案112的rMVA,其中该肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过度表达/累积肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

[0467] 118.根据实施方案112的rMVA,其中该肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII,或其片段。

[0468] 119.根据实施方案89-111的rMVA,其中该抗原肽源自粘蛋白1或其片段。

[0469] 120.根据实施方案119的rMVA,其中该粘蛋白1由SEQ ID NO:402的核酸序列或与其至少95%相同的核酸序列编码。

[0470] 121.根据实施方案119的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:349的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0471] 122.根据实施方案119的rMVA,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0472] 123.根据实施方案119的rMVA,其中该粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞外结构域片段。

[0473] 124.根据实施方案123的rMVA,其中该人粘蛋白1的胞外结构域片段选自SEQ ID NO:358-361,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0474] 125.根据实施方案119的rMVA,其中该粘蛋白1包含人粘蛋白1的胞内结构域片段。

[0475] 126.根据实施方案125的rMVA,其中该人粘蛋白1的胞内结构域片段包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0476] 127.根据实施方案119的方法,其中该粘蛋白1选自SEQ ID NO:363-364,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0477] 128.根据实施方案127的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:363的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0478] 129.根据实施方案127的方法,其中该粘蛋白1包含SEQ ID NO:364的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0479] 130.根据实施方案89-111的rMVA,其中该抗原肽源自选自SEQ ID NO:349-357的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0480] 131.根据实施方案89-111的rMVA,其中该抗原肽源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0481] 132.根据实施方案89-111的rMVA,其中该抗原肽源自选自SEQ ID NO:403的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0482] 133.根据实施方案89-132的rMVA,其中该糖蛋白信号肽源自丝状病毒科。

[0483] 134.根据实施方案89-133的rMVA,其中该糖蛋白信号肽包含SEQ ID NO.396的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0484] 135.根据实施方案89-133的rMVA,其中该糖蛋白跨膜肽包含SEQ ID NO.398的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0485] 136.根据实施方案89-135的rMVA,其中该病毒基质蛋白包含SEQ ID NO.400的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0486] 137.根据实施方案89-136的rMVA,其中x≥4。

[0487] 138.根据实施方案89-136的rMVA,其中x是3、4或5。

[0488] 139.根据实施方案89-138的rMVA,其中该多顺反子核酸插入两个必需且高度保守的MVA基因之间。

[0489] 140.根据实施方案89-138的rMVA,其中该多顺反子核酸插入天然缺失位点中。

[0490] 141.根据实施方案89-138的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A5OR和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入MVA中。

[0491] 142.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自MVA基因I8R和GIL之间的位点插入rMVA中。

[0492] 143.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A5OR和B1R之间的位点插入rMVA中。

[0493] 144.根据实施方案1-58的rMVA,其中该多顺反子核酸在选自MVA基因A5和A6L之间的位点插入rMVA中。

[0494] 145.根据实施方案89-144的rMVA,其中该编码抗原肽氨基酸序列的核酸位于甲硫氨酸(M)起始密码子下游的开放阅读框中。

[0495] 146.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

[0496] a)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第一核酸序列,其中x＝1-10,并且M为甲硫氨酸;和b)编码抗原肽的第二核酸序列;

[0497] 其中该免疫检查点抑制剂肽选自具有SEQ ID NO:1-57的序列的氨基酸;并且

[0498] 其中第一核酸序列和第二核酸序列处于一个或多个牛痘病毒启动子的控制下。

[0499] 147.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

[0500] a)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第一核酸序列,其中x＝1-10,并且M为甲硫氨酸;和b)编码抗原肽的第二核酸序列;

[0501] 其中该免疫检查点抑制剂肽为SEQ ID NO:1,并且该第一核酸序列和该第二核酸序列处于一个或多个牛痘病毒启动子的控制下。

[0502] 148.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

[0503] a)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第一核酸序列,其中x＝1-10,并且M为甲硫氨酸;和b)编码抗原肽的第二核酸序列;

[0504] 其中该免疫检查点抑制剂肽为SEQ ID NO:5,并且该第一核酸序列和该第二核酸序列在一个或多个牛痘病毒启动子的控制上。

[0505] 149.根据实施方案146-148的rMVA,其中该分泌信号肽包含选自SEQ ID NO.57-90的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0506] 150.根据实施方案146-149的rMVA,其中该分泌信号肽包含SEQ ID NO.65的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0507] 151.根据实施方案146-149的rMVA,其中该分泌信号肽包含SEQ ID NO.66的氨基酸序列,或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0508] 152.根据实施方案146-151的rMVA,其中该牛痘病毒启动子选自SEQ ID NO:128-308的核酸序列。

[0509] 153.根据实施方案152的rMVA,其中该抗原肽源自感染剂和肿瘤相关抗原。

[0510] 154.根据实施方案153的rMVA,其中该感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

[0511] 155.根据实施方案154的rMVA,其中该病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA逆转录病毒;双链DNA逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

[0512] 156.根据实施方案152的rMVA,其中该抗原肽源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定抗原;人免疫缺陷病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

[0513] 157.根据实施方案152的rMVA,其中该抗原肽源自SARS-CoV2;SARS-CoV2全长S蛋白、具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2S蛋白;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长S蛋白δ变体plus;由2个脯氨酸置换稳定的SARS-CoV2全长S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;具有K417T、E484K和N501Y置换的SARS-CoV2全长稳定的S蛋白;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体;SARS-CoV2全长稳定的S蛋白δ变体plus;SARS-CoV2 E蛋白;SARS-CoV2 M蛋白;SARS-CoV2 PP1ab多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2 PP1a多蛋白氨基酸序列;SARS-CoV2NSP1-3氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP4-11氨基酸序列;SARS-CoV2 ORF1b多蛋白NSP12-16氨基酸序列;SARS-CoV2 NSP12氨基酸序列;SARS-CoV2NSP13-14氨基酸序列;

SARS-CoV2 NSP15-16氨基酸序列;或其片段。

[0514] 158.根据实施方案152的rMVA,其中该抗原肽源自选自SEQ ID NO:358-394的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0515] 159.根据实施方案146-158的rMVA,其中该第一核酸序列和第二核酸序列在必需的MVA基因之间插入MVA中。

[0516] 160.根据实施方案146-158的rMVA,其中该第一核酸序列在必需的MVA基因之间插入MVA中。

[0517] 161.根据实施方案146-160的rMVA,其中该第二核酸序列在必需的MVA基因之间插入MVA中。

[0518] 162.根据实施方案146-158的rMVA,其中该第一核酸序列和第二核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入MVA中。

[0519] 163.根据实施方案146-158的rMVA,其中该第一核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入MVA中。

[0520] 164.根据实施方案146-158的rMVA,其中该第二核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入MVA中。

[0521] 165.根据实施方案146-164的rMVA,其中该牛痘病毒启动子为SEQ ID NO:128-130的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列。

[0522] 166.根据实施方案146-165的rMVA,其中该牛痘病毒启动子为SEQ ID NO:130,或与其至少95%相同的核酸序列。

[0523] 167.根据实施方案146-166的rMVA,其中该编码抗原肽氨基酸序列的核酸位于甲硫氨酸(M)起始密码子下游的开放阅读框中。

[0524] 168.根据实施方案146-167的rMVA,其中x≥4。

[0525] 169.根据实施方案146-167的rMVA,其中x是3、4或5。

[0526] 170.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

[0527] i)编码包含(粘蛋白1胞外片段肽-糖蛋白跨膜肽-粘蛋白1胞内片段肽)的氨基酸序列的第一核酸序列;和

[0528] ii)编码包含马尔堡病毒(MARV)VP40蛋白的氨基酸序列的第二核酸序列;和

[0529] iii)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第三核酸序列,其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸;

[0530] 其中该第一核酸序列、该第二核酸序列和该第三核酸序列处于牛痘病毒启动子的控制之下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起形成病毒样颗粒(VLP)。

[0531] 171.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

[0532] i)包含编码嵌合氨基酸序列的SEQ ID NO:402的核酸序列的第一核酸序列;

[0533] ii)包含SEQ ID NO:404的核酸序列的第二核酸序列;

[0534] iii)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免

疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第三核酸序列,其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸;

[0535] 其中该第一核酸序列、该第二核酸序列和该第三核酸序列处于牛痘病毒启动子的控制之下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起形成病毒样颗粒(VLP)。

[0536] 172.一种重组修饰的安卡拉牛痘(rMVA)病毒载体,其包含:

[0537] i)编码包含SEQ ID NO:403的氨基酸序列的嵌合氨基酸序列的第一核酸序列;和

[0538] ii)编码包含SEQ ID NO:405的氨基酸序列的MARV VP40基质蛋白的第二核酸序列;和

[0539] iii)编码包含(M)(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽-裂解肽)$_x$(分泌信号肽-免疫检查点抑制剂肽)的氨基酸序列的第三核酸序列,其中x=1-10,并且M为甲硫氨酸;

[0540] 其中该第一核酸序列、该第二核酸序列和该第三核酸序列处于牛痘病毒启动子的控制之下;并且其中在表达后,嵌合氨基酸序列和VP40基质蛋白能够组装在一起以形成病毒样颗粒(VLP)。

[0541] 173.根据实施方案170-172的rMVA,其中该第三核酸序列包含SEQ ID NO:408的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列。

[0542] 174.根据实施方案170-172的rMVA,其中该第三核酸序列包含SEQ ID NO:409的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列。

[0543] 175.根据实施方案170-172的rMVA,其中该第三核酸序列是选自SEQ ID NO:1、5或309-348的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸。

[0544] 176.根据实施方案175的rMVA,其中该第三核酸序列编码包含SEQ ID NO:325的氨基酸序列的免疫检查点抑制剂肽,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0545] 177.根据实施方案175的rMVA,其中该第三核酸序列编码包含SEQ ID NO:329的氨基酸序列的免疫检查点抑制剂肽,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0546] 178.根据实施方案175的rMVA,其中该第三核酸序列编码包含SEQ ID NO:333的氨基酸序列的免疫检查点抑制剂肽,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0547] 179.根据实施方案175的rMVA,其中该第三核酸序列编码包含SEQ ID NO:337的氨基酸序列的免疫检查点抑制剂肽,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0548] 180.根据实施方案170-179的rMVA,其中该第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列插入在两个必需且高度保守的MVA基因之间。

[0549] 181.根据实施方案170-179的rMVA,其中该第一核酸序列、第二核酸序列和第三核酸序列在选自MVA基因I8R和GIL之间、改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间或MVA基因A5和A6L之间的位点插入MVA中。

[0550] 182.根据实施方案170-179的rMVA,其中该第一核酸序列插入MVA基因I8R和GIL之间。

[0551] 183.根据实施方案170-179的rMVA,其中该第二核酸序列在改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间插入。

[0552] 184.根据实施方案170-179的rMVA,其中该第三核酸序列在两个必需的MVA基因A5R和A6L之间插入。

[0553] 185.根据实施方案170-179的rMVA,其中该第一核酸序列在MVA基因I8R和GIL之间

插入,该第二核酸序列在改组和修饰的缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间插入,且第三核酸序列在两个必需的MVA基因A5R和A6L之间插入。

[0554] 186.根据实施方案170-185的rMVA,其中该牛痘病毒启动子是选自SEQ ID NO:128-308的核酸序列。

[0555] 187.根据实施方案170-186的rMVA,其中该牛痘病毒启动子为SEQ ID NO:130的核酸序列,或与其至少95%相同的核酸序列。

[0556] 188.一种药物组合物,其包含实施方案89-187中的至少一种rMVA和药学上可接受的载体。

[0557] 189.一种在有需要的患者中预防、治疗或诱导对于靶抗原的免疫应答的方法,所述方法包括施用有效量的实施方案188的药物组合物,其中该药物组合物增强针对靶抗原的免疫。

[0558] 190.根据实施方案189的方法,其中该靶抗原选自肿瘤相关抗原和感染剂。

[0559] 191.根据实施方案190的方法,其中该肿瘤相关抗原源自癌胚胎肿瘤相关抗原、肿瘤病毒肿瘤相关抗原、过度表达/累积肿瘤相关抗原、癌症-睾丸相关抗原、谱系限制性肿瘤相关抗原、突变肿瘤相关抗原或独特型肿瘤相关抗原,或其片段。

[0560] 192.根据实施方案190的方法,其中该肿瘤相关抗原源自b黑色素瘤抗原(BAGE)家族、癌症相关基因(CAGE)家族、G抗原(GAGE)家族、黑色素瘤抗原(MAGE)家族、肉瘤抗原(SAGE)家族和X抗原(XAGE)家族、CT9、CT10、NY-ESO-1、L抗原(LAGE)1、肿瘤中优先表达的黑色素瘤抗原(PRAME)和滑膜肉瘤X(SSX)2、T细胞识别的黑色素瘤抗原-1/2(Melan-A/MART-1/2)、Gp100/pmel17、酪氨酸相关蛋白(TRP)1和2、P.多肽、黑皮质素1受体(MC1R)和前列腺特异性抗原、β-连环蛋白、乳腺癌抗原(BRCA)1/2、细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)4、慢性髓性白血病抗原(CML)66、纤连蛋白、p53、Ras或TGF-βRII,或其片段。

[0561] 193.根据实施方案189-192的方法,其中该患者是患有癌症的人。

[0562] 194.根据实施方案193的方法,其中该癌症选自肠癌、卵巢癌、乳腺癌、恶性黑色素瘤、肝细胞癌、睾丸癌、前列腺癌、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、结肠直肠癌、胆管癌、胰腺癌、肺癌、黑色素瘤、软组织肉瘤或结肠癌。

[0563] 195.根据实施方案190的方法,其中该感染剂为病毒、细菌、真菌、寄生虫或阿米巴虫。

[0564] 196.根据实施方案195的方法,其中该病毒选自腺病毒;疱疹病毒;痘病毒;单链DNA;细小病毒;双链RNA病毒;呼肠孤病毒;正义单链RNA病毒;冠状病毒;小核糖核酸病毒;披膜病毒;反义单链RNA病毒;正粘病毒;弹状病毒;单链RNA逆转录病毒;双链DNA逆转录病毒;黄病毒科病毒;甲病毒属病毒、丝状病毒科病毒;副粘病毒科病毒;弹状病毒科病毒;尼亚米病毒科病毒;沙粒病毒科病毒;布尼亚病毒科病毒;或蛇形病毒科病毒;和正粘病毒科病毒。

[0565] 197.根据实施方案190的方法,其中该感染剂源自埃博拉病毒、埃博拉病毒的包膜糖蛋白、埃博拉病毒的基质蛋白VP40;拉沙病毒,拉沙病毒蛋白Z;寨卡病毒,寨卡病毒非结构蛋白1(NSP-1);马尔堡病毒;马尔堡病毒糖蛋白;马尔堡VP40基质蛋白;疟原虫寄生虫;恶性疟原虫;疟原虫环子孢子蛋白(CSP);疟原虫雄配子体表面蛋白P230p(Pfs230抗原);细胞穿越必需的疟原虫子孢子微线蛋白(SPECT2);疟原虫GTP结合蛋白;推定抗原;人免疫缺陷

病毒;HIV Env蛋白;HIV gp41;HIV gp120;HIV gp160;HIV Gag蛋白;HIV MA;HIV CA;HIV SP1;HIV NC;HIV SP2;HIV P6;HIV Pol蛋白;HIV RT;HIV RNase H;HIV IN;和HIV PR;或其片段。

[0566] 198.根据实施方案195-197的方法,其中该患者是暴露于感染剂的人。

[0567] 199.根据实施方案198的方法,其中该暴露的人是有症状的。

[0568] 200.根据实施方案198的方法,其中该暴露的人是无症状的。

[0569] 201.根据实施方案195-197的方法,其中该患者是未暴露于感染剂的人。

[0570] 202.根据实施方案188-201的方法,其中该rMVA施用选自肌内、动脉内、血管内、静脉内、腹膜内或皮下注射。

[0571] 203.根据实施方案188-202的方法,其中该rMVA包括用于增强免疫应答的佐剂。

[0572] 204.根据实施方案188-202的方法,其中所述rMVA包括用于诱导免疫应答的疫苗。

[0573] 205.根据实施方案192-204的方法,其中药物组合物至少2次或更多次向患者施用。

[0574] 206.根据实施方案205的方法,其中该施用间隔至少4周。

[0575] 207.一种增强患者的免疫应答的方法,其包括向患者施用有效量的根据实施方案89-187的rMVA。

[0576] 208.一种在患者中诱导对于MUC1抗原的免疫应答的方法,其包括向患者施用有效量的根据实施方案119-145或170-187的rMVA。

[0577] 209.根据实施方案207-208的方法,其中该患者是人。

[0578] 实施例

[0579] 通过以下非限制性实施例并参考附图进一步描述所要求保护的发明。鉴于以上内容和以下以说明而非限制的方式包括的实验性示例,本发明的其他方面和实施方案对于本领域普通技术人员而言将是显而易见的。

[0580] 实施例1.小鼠

[0581] 所有动物实验均严格按照美国公共卫生服务部门的《实验动物人文关怀和使用政策》进行。该方案获得了洛克菲勒大学动物护理和使用委员会(IACUC)的批准。使用CO_2对小鼠进行安乐死,并尽一切努力最小化痛苦。通过非营利合作伙伴(Advanced Bioscience Resources,Alameda,CA)获得人胎肝样本。由于没有获得可识别样本来源的受试者的信息,因此不需要机构审查委员会批准其使用。(参见,Huang J.等人,“An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human CD8+T cells in mice”,PLoS One,2014年2月6日,9(2),e88205.doi:10.1371/joumal.pone.0088205.eCollection 2014.PMID:24516613)

[0582] 六至八周龄的雌性BALB/c小鼠购自Jackson Laboratory(Bar Harbor,ME)。表现出严重联合免疫缺陷突变和白细胞介素(IL)-2受体γ链缺陷两种特征的NOD.CgtmlUnc Prkdcscid I12rgtmlWjl/SzJ(NSG)小鼠也购自Jackson Laboratories,并在洛克菲勒大学比较生物科学中心的动物设施中维持在特定的无病原体条件下。所有小鼠均在洛克菲勒大学实验动物研究中心的标准条件下饲养,该方案获得了洛克菲勒大学动物护理和使用委员会的批准(保证号A3081-01)。

[0583] 实施例2.HIS-CD8小鼠的产生

[0584] 构建了编码人IL-3、IL-15、GM-CSF和HLA-A*0201的重组AAV9(rAAV9)载体。(参见,Huang J.等人,“An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human CD8+T cells in mice”,PLoS One,2014年2月6日,9(2),e88205.doi:10.1371/joumal.pone.0088205.eCollection 2014.PMID:24516613)

[0585] 四周龄的NSG小鼠通过胸廓注射用编码HLA-A*0201的rAAV9和通过IV注射用编码人IL-3、IL-15和GM-CSF的rAAV9进行转导。(参见,Huang J.等人,“An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human CD8+T cells in mice”,PLoS One,2014年2月6日,9(2),e88205.doi:10.1371/joumal.pone.0088205.eCollection 2014.PMID:24516613)

[0586] 两周后,对小鼠进行150-Gy的全身亚致死剂量辐射用于骨细胞清除,几小时后,将每只经转导、辐射的小鼠静脉内植入1×10^5HLA-A*0201+匹配的$CD34^+$人造血干细胞(HSC)。使用人CD34阳性选择试剂盒分离源自HLA-A*0201+胎肝样品的淋巴细胞中的$CD34^+$HSC(Stem Cell Technologies Inc.Vancouver,BC,Canada;参见,Lepus CM等人,“Comparison of human fetal liver,umbilical cord blood,and adult blood hematopoietic stem cell engraftment in NOD-scid/gammac-/-,Balb/c-Ragl-/-gammac-/-,and C.B-17-scid/bg immunodeficient mice”,Hum Immunol.,20090ct,70(10),790-802.doi:10.1016/j.humimm.2009.06.005.Epub 2009Jun 12.PMID:19524633)。在HSC植入后14周,通过流式细胞分析测定HIS-CD8小鼠血液中人CD45+细胞的重建状态。(参见,Huang J.等人,“An AAV vector-mediated gene delivery approach facilitates reconstitution of functional human $CD8^+$T cells in mice”,PLoS One,2014年2月6日,9(2),e88205.doi:10.1371/joumal.pone.0088205.eCollection 2014.PMID:24516613)

[0587] 实施例3.AdPyCS和AdPfCS疫苗

[0588] 构建了表达约氏疟原虫环子孢子蛋白(PyCS)的重组5型腺病毒,AdPyCS。(参见Rodrigues EG等,“Single immunizing dose of recombinant adenovirus efficiently induces $CD8^+$T cell-mediated protective immunity against malaria”,J Immunol.,1997Feb 1,158(3),1268-74.PMID:9013969)。

[0589] 实施例4.ELISpot测定和流式细胞术测量抗原特异性$CD8^+$T细胞

[0590] 使用小鼠IFN-γELISpot试剂盒(Abeam,Cambridge,MA)和合成与免疫显性PyCS内的$CD8^+$T细胞表位对应的9-mer SYVPSAEQI(SEQ ID NO:406)(Peptide 2.0Inc.,Chantilly,VA),通过ELISpot测定确定AdPyCS免疫小鼠的脾PyCS特异性、IFN-γ分泌的$CD8^+$T细胞的相对数量。(参见,Li X等人,“Human $CD8^+$T cells mediate protective immunity induced by a human malaria vaccine in human immune system mice”,Vaccine,2016年08月31日,34(38),4501-4506.doi:10.1016/j.vaccine.2016.08.006.Epub 2016年08月05日;PMID:27502569)。在AdPyCS免疫后12天从小鼠收集脾细胞后,将5×10^5个脾细胞置于用IFN-γ抗体预涂覆的96-孔ELISpot板的每个孔上,并在CO_2温育箱中于37℃下与SYVPSAEQI(SEQ ID NO:406)肽以5μg/mL温育24小时。ELISpot板清洗后,在室温下与生物素化的抗小鼠IFN-γ抗体一起温育2-3小时,然后在室温下于黑暗中与辣根过氧化物酶缀合的亲和素温育45分钟。最后,在添加ELISpot底物(Abeam)后斑点显色。为了鉴别每个孔中分

泌IFN-γ的CD8$^+$T细胞的数量,将在存在肽的情况下与脾细胞一起温育的孔中计数的平均斑点数(对于重复)减去仅与脾细胞一起温育的孔中计数的平均斑点数(对于重复)。通过流式细胞术测定免疫小鼠的脾细胞中IFN-γ$^+$T细胞的百分比。在分离脾细胞后,将细胞洗涤两次,并使用补充了抗CD16/CD32(克隆93-BioLegend,San Diego,CA,USA)的灭活正常小鼠血清在冰上封闭5分钟。

[0591] 实施例5.用负载YLNKIQNSL肽的HLA-A/0201四聚体染色

[0592] 通过NIH四聚体核心设施提供了与PfCSP CD8$^+$T细胞表位相对应的、负载肽YLNKIQNSL(SEQ ID NO:407)的Allophyocyanin(APC)标记的人HLA-A*0201四聚体(参见,Blum-Tirouvanziam U等人,"Localization of HLA-A2.1-restricted T cell epitopes in the circumsporozoite protein of Plasmodium falciparum",J Immunol.,1995年4月15日,154(8),3922-31;PMID:7535817;43;Bonelo A等人,"Generation and characterization of malaria-specific human CD8$^+$lymphocyte clones:effect of natural polymorphism on T cell recognition and endogenous cognate antigen presentation by liver cells",Eur J Immunol.,2000年11月30日(11),3079-88;doi:10.1002/1521-4141(200011)30:11<3079::AID-IMMU3079>3.0.CO;2-7.PMID:11093122)(表12)。

[0593] 表12-合成9-mer肽序列

[0594]

SEQ ID NO:	肽序列
406	SYVPSAEQI
407	YLNKIQNSL

[0595] 在用AdPfCS免疫HIS-CD8小鼠后12天,从小鼠中收获脾,并用负载YLNKIQNSL(SEQ ID NO:407)APC标记的人HLA-A*0201四聚体和PE标记的抗人CD8抗体(BioLegend,San Diego,CA)对脾细胞进行染色。使用BD LSR II型流式细胞仪(Franklin Lakes,NJ)测定了总人CD8$^+$T细胞群中HLA-A*0201限制性、PfCSP特异性CD8$^+$T细胞的百分比。(参见,Li X等人,"Human CD8$^+$T cells mediate protective immunity induced by a human malaria vaccine in human immune system mice",Vaccine,2016Aug 31,34(38),4501-4506;doi:10.1016/j.vaccine.2016.08.006.Epub 2016Aug 5.PMID:27502569)

[0596] 实施例6.MVA构建、种子储备液制备、VLP形成和蛋白质表达

[0597] 构建两个重组MVA,MVA-5x.LD01和MVA-5x.LD10,其编码多顺反子形式的五个重复的LD01(SEQ ID NO:408)或LD10(SEQ ID NO:409)的优化核酸序列(表13)。在LD01或LD10之前添加信号序列(SEQ ID NO:66)以引导肽从细胞分泌,并在序列之后添加双重裂解位点(SEQ ID NO:123)以促进从多顺反子设计产生单体肽。所得LD01插入物编码SEQ ID NO:332的氨基酸序列。所得LD10插入物编码SEQ ID NO:337的氨基酸序列。用于重组病毒产生的起始材料为亲本MVA病毒,其于1974年在牛海绵状脑病/感染性海绵状脑病(BSE/TSE)出现前收获,并使用来自不含BSE来源的经认证试剂对噬斑进行3次纯化。使用穿梭载体通过同源重组方式将LD01或LD 10序列插入MVA的两个必需基因I8R/G1L之间。所选择的插入位点已被鉴定为支持高度表达和插入物稳定性。所有插入的序列均针对MVA进行密码子优化,如下所示:

[0598] 表13-序列优化

[0599]

SEQ ID NO:	标识符	核酸序列

[0600]

408	5xLD01	ATGGACGCCATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGTCCTACTACTATGCGGAG CGGTATTCGTATCTCCGTCGCAAGAAATTCACGCGAGATTCAGAAGAGG TGCCAGATGCAGAAGAACATCTACCGGACAGATCTCCACCTTGAGAGT AAATATCACAGCGCCGCTATCTCAGAGAGCCAAGAGAGGATCGGGAGC GACAAACTTCTCGCTATTGAAACAAGCGGGAGATGTCGAAGAGAACCC AGGACCAGATGCTATGAAGAGAGGACTTTGCTGCGTATTGCTATTGTGC GGAGCCGTCTTCGTCTCACCATCTCAAGAAATCCATGCCAGATTCAGAA GAGGTGCTAGATGTAGAAGAACCTCCACGGGACAAATCAGTACCCTAA GAGTTAACATCACCGCGCCGTTGAGTCAAAGAGCTAAGAGAGGTTCCG GAGCCACCAACTTCAGTTTGCTAAAGCAGGCGGGAGATGTGGAAGAGA ATCCTGGTCCTGACGCAATGAAGAGAGGACTTTGCTGCGTTCTATTGCT ATGCGGTGCCGTCTTTGTTTCTCCGAGTCAAGAGATACACGCTAGATTC AGAAGAGGTGCAAGATGTAGAAGAACCTCGACCGGTCAAATCTCGACG CTTAGAGTCAATATTACCGCGCCATTGTCGCAGAGAGCGAAGAGAGGA TCGGGAGCCACTAATTTCAGTCTACTTAAGCAAGCGGGAGATGTAGAG GAGAATCCTGGACCGGATGCCATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGTTCTGT TGCTTTGCGGAGCTGTGTTCGTCAGTCCTTCTCAAGAGATTCATGCAAG ATTCAGAAGAGGTGCAAGATGCAGAAGAACCAGTACGGGACAGATTTC GACATTAAGAGTGAACATTACTGCGCCTTTGTCTCAAAGAGCGAAGAG AGGTTCCGGAGCGACGAATTTCTCGTTGCTCAAGCAAGCGGGAGATGT AGAAGAGAACCCAGGACCTGATGCAATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGT ATTACTTCTTTGCGGTGCAGTGTTTGTCTCGCCGTCACAAGAGATCCAC GCAAGATTCAGAAGAGGTGCCAGATGTAGAAGAACTAGTACAGGACAA ATCTCCACGCTAAGAGTAAACATAACGGCACCACTATCTCAATAA
409	5xLD10	ATGGACGCCATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGTCCTACTACTATGCGGAG CGGTATTCGTATCTCCGTCGCAAGAAATTCACGCGAGATTCAGAAGAGG TGCCAGATCTACAGGACAGATCTCTACCCTAAGAGTCAATATCACAGCG CCGCTATCTCAGAGAGCGAAGAGAGGATCGGGAGCGACAAACTTCTCG CTATTGAAACAAGCGGGAGATGTCGAGGAGAACCCAGGACCAGATGCT ATGAAGAGAGGACTTTGCTGCGTATTGCTATTGTGCGGAGCCGTGTTCG TCTCGCCATCTCAAGAAATCCATGCCAGATTCAGAAGAGGTGCTAGAA GTACCGGACAAATCTCCACGTTGAGAGTAAACATTACCGCGCCGTTGTC GCAAAGAGCTAAGAGAGGTTCCGGAGCCACTAACTTCAGTTTGCTAAA GCAGGCGGGAGATGTGGAAGAGAATCCTGGTCCTGACGCAATGAAGAG AGGACTTTGCTGCGTTCTATTGCTATGCGGTGCCGTCTTTGTTTCTCCGA GTCAAGAGATACACGCTAGATTCAGAAGAGGTGCTAGATCCACGGGAC AAATCAGTACCCTTAGAGTGAACATCACGGCGCCACTTTCTCAAAGAGC CAAGAGAGGTTCCGGAGCGACCAATTTCTCGTTGCTAAAGCAAGCGGG AGATGTAGAAGAGAATCCCGGACCGGATGCCATGAAGAGAGGACTTTG TTGCGTGCTGTTGCTTTGCGGAGCTGTGTTCGTCAGTCCTTCTCAAGAGA TTCATGCAAGATTCAGAAGAGGTGCAAGATCGACCGGTCAAATTTCGA CGCTAAGAGTTAACATAACGGCGCCCTTGAGTCAGAGAGCCAAGAGAG GATCGGGAGCCACTAACTTCTCGTTGTTGAAGCAGGCGGGAGATGTAG AAGAGAATCCGGGTCCAGATGCAATGAAGAGAGGACTTTGTTGCGTAT TACTTCTTTGCGGTGCAGTGTTTGTCTCGCCGTCACAAGAGATCCACGC AAGATTCAGAAGAGGTGCCAGAAGTACGGGTCAAATTAGTACCTTGAG AGTCAATATTACGGCGCCTTTGTCACAGTAATGA

[0601] 引入沉默突变以中断均聚序列(>4G/C和>4A/T),其减少可能导致移码突变的RNA聚合酶错误。所有疫苗插入物均置于修饰的H5早期/晚期牛痘病毒启动子(SEQ ID NO:130)的控制下。载体、研究种子病毒(RSV)和研究储液(RS)均在专用室中使用不含BES/TSE的原材料制备,所有步骤可完全追溯并完整记录,并且因此可直接用于产生cGMP主种子病毒(MSV)。为了产生用于动物研究的RSV,将鸡胚成纤维细胞系DF-1细胞(ATCC,CRL-12203)接种到无菌组织培养瓶中,并用MVA-5x.LD0或MVA-5x.LD10以MOI 0.01感染。在感染后3天回收细胞,通过超声破碎,并通过低速离心澄清大量收获材料。澄清的病毒收获物使用蔗糖缓

冲超速离心纯化两次。通过在DF1细胞中限制稀释来滴定纯化的病毒,在无菌PBS+7％蔗糖中稀释至1x 10^8TCID50/mL,分配至无菌小瓶中,并在-80℃下储存。

[0602] 实施例7.抗LD01/LD10 mAb的产生

[0603] Sigma佐剂系统(目录号S6322)中配制的KLH缀合LD01肽用于肌内免疫SJL/J小鼠。在以2周间隔进行两次类似的肌内加强后,处死小鼠,并收集脾和淋巴结。分离脾细胞和淋巴细胞,并与HL-1小鼠骨髓瘤细胞融合,并温育13天。第13天,人工挑取菌落并转移至选择培养基。使用涂覆BSA缀合肽的板通过ELISA筛选培养物上清液的特异性。上清液针对BSA缀合的LD01肽和LD10进行筛选。基于与两种肽的高水平结合以及高浓度的上清液抗体,选择了两个克隆(3F11和7G10)。扩增这两个克隆的单克隆培养物,并使用上清液纯化抗体。将在2xT-75瓶中含有至少8.0×10^7个细胞的细胞悬浮液无菌转移至2x50 mL离心管中,并以1000rpm离心5分钟。将所得细胞沉淀重新混悬于25mL HyClone HYQSFMMAB培养基+5％ FBS中,并缓慢添加至含有225mL的HyClone HYQSFMMAB培养基+5％ FBS的250mL袋中。将袋放入设定为5％ CO_2、37℃的温育箱中10-14天。生长10-14天后,将250mL袋的内容物转移至250mL离心瓶,向其中添加10mL中和缓冲液(1M TRIS,1.5M NaCl,pH 8.5),并使用Sorvall GSA转子以8600rpm离心10分钟。使用0.45μm的瓶顶过滤器过滤上清液。将连接至FPLC纯化系统的5mL蛋白质A柱用25mL超纯水洗涤,随后用25mL的50mM TRIS、250mM NaCl、pH 8.0洗涤。过滤的上清液以7mL/分钟的流速装载到柱上。进一步用15mL的50mM TRIS、250mM NaCl、pH 8.0洗涤柱。在含有800μL中和缓冲液(1M TRIS碱,1.5M NaCl,pH 7.4)的15mL管中收集洗脱级分。用20mL 50mM甘氨酸、pH 3.0洗脱抗体,并在搅拌器上于4℃下对1-2L的1xPBS pH 7.4(取决于纯化Ab的体积)透析过夜。将透析的抗体无菌过滤并等分用于储存。

[0604] 实施例8.斑点印迹试验

[0605] 用亲本MVA,MVA-5X.LD01或MVA-5X.LD10以0.5的感染复数感染DF-1细胞,并且48小时后收集上清液。为了浓缩分泌的肽,将上清液通过Pierce C-18尖端(Thermofisher,目录号87782)。将二十微升的每个样品和125ng的合成LD01肽点样到PVDF膜上,使其在室温下干燥,然后用Intercept封闭缓冲液(Li-Cor,目录号927-70001)在室温下封闭30分钟。将膜在4℃下于封闭缓冲液中1:1000稀释的一级抗体(Leidos,克隆:7G10)中温育过夜。用PBST(具有0.05％吐温-20的PBS)洗涤三次,并用抗小鼠680RD(Invitrogen,目录号A-21058)(1:10,000)探测膜1小时。然后再次清洗膜,并使用Odyssey成像仪成像。

[0606] 实施例9.免疫细胞化学分析

[0607] 用亲本MVA,MVA-5X.LD01或MVA-5X.LD10以0.5的感染复数感染DF-1细胞48小时,随后将细胞在1:1甲醇:丙酮中固定,并用水洗涤。然后在室温下用小鼠抗LD01/LD10抗体(Leidos,克隆:3F11)探测细胞1小时。用水洗涤三次,细胞用1:1000稀释的抗小鼠HRP(VWR,目录号10150-400)染色1小时。然后再次洗涤细胞,并使用AEP底物试剂盒(Abeam目录号ab64252)显色。使用光学显微镜以20倍的放大倍数捕获染色细胞的图像。

[0608] 实施例10.数据分析

[0609] 使用GraphPad Prism(GraphPad Software,Inc.,La Jolla,CA)进行统计分析。使用双侧未配对t检验来确定两组之间的差异。数据以平均值±SEM表示,$P<0.05$被认为具有统计显著性。

[0610] 实施例11.MVA载体构建

[0611] 为了确定LD10是否可通过病毒载体表达,根据实施例6构建了以多顺反子形式编码LD10序列的五个重复的重组MVA病毒(MVA-5x.LD10)(图7),以及表达LD01序列的五个重复的类似重组MVA病毒(MVA-5x.LD01)(图7)。为了促进肽的分泌,在LD01或LD10之前添加信号序列,并在序列之后添加双重裂解位点,以促进从多顺反子设计产生单体LD01或LD10。

[0612] 使用与LD01和LD10交叉反应性的mAb对感染细胞进行免疫组织化学分析;以初步确定重组MVA载体是否表达LD01或LD10。将细胞固定并用50:50甲醇/丙酮透化。

[0613] 实施例12.通过MVA感染的细胞产生LD01和LD10

[0614] 在感染的细胞上清液上进行斑点印迹,以确定重组MVA载体正在分泌LD01或LD10。亲本MVA载体显示可忽略的信号,如图8B所示。细胞上清液的液相色谱串联质谱鉴定LD01和LD10片段,证实了斑点印迹结果。

[0615] 用亲本MVA载体感染的细胞未显示出特异性的染色,然而,用MVA-5X.LD01或MVA-5X.LD10载体感染的细胞显示出阳性染色,如图8A所示;表明肽的细胞内表达。MVA-5X.LD01和MVA-5X.LD10载体样品表明阳性染色,支持LD01和LD10的分泌。LD01和LD10由重组MVA载体表达和分泌。以上技术用于生成图8中的图像。

[0616] 实施例13.通过病毒载体递送LD01或LD10增强了疫苗诱导的抗原特异性$CD8^+$T细胞的扩增

[0617] 在确认LD01和LD10在被肽编码的MVA构建体感染的细胞中表达和分泌后(图8A和8B),评估了用MVA编码的LD01或LD10处理后的AdPyCS特异性$CD8^+$T细胞扩增。包括亲本MVA载体作为阴性对照,而合成LD01和LD10da用作阳性对照。如图9所示,相对于单独的AdPyCS,疫苗接种后立即用100μg的LD01或LD10da治疗显著增加了抗原特异性$CD8^+$T细胞数量。类似地,注射10^8TCID_{50}的MVA-5X.LD01或MVA-5X.LD10增强了抗原特异性$CD8^+$T细胞的扩增,这与亲本MVA载体的治疗形成对比(图9)。总的来说,这些体内结果表明,通过MVA载体递送LD01或LD10导致增加的免疫效应细胞的激活和免疫调节活性,这可能是由于其在体内的表达。因此,这些结果证实了基于肽的免疫调节剂可通过病毒载体成功递送并诱导显著增强的免疫应答。

[0618] 实施例14.MVA-VLP-MUC-1-LD10构建和插入物完整性的验证

[0619] 从亲本MVA病毒开始,使用穿梭载体通过同源重组插入在MVA基因I8R和GIL之间编码MUC-1-MARV GPTM氨基酸序列(SEQ ID NO:403)的优化的MUC-1和马尔堡病毒(MARV)跨膜糖蛋白(GP)跨膜结构域(TM)嵌合核酸序列(SEQ ID NO:402),在改组和修饰缺失位点III中的MVA基因A50R和B1R之间编码MARV VP40氨基酸序列(SEQ ID NO:405)的MARV VP40核酸序列(SEQ ID NO:404),以及在两个必需MVA基因A5R和A6L之间编码5xLD10氨基酸序列(SEQ ID NO:337)的5xLD10核酸序列(SEQ ID NO:409)。这些插入位点先前已被证明支持转基因的高表达和稳定性。引入沉默突变以中断同聚物序列(>4G/C和>4A/T),从而减少可能导致移码突变的RNA聚合酶错误。插入的序列经过密码子优化用于通过MVA病毒在修饰的H5早期/晚期牛痘病毒启动子(SEQ ID NO:130)的控制下表达。

[0620] 如前所述(实施例6),病毒载体、研究种子病毒(RSV)和研究储液(RS)使用能够产生cGMP主种子病毒(MSV)的不含BSE/TSE的原材料在专用室中制备,所有步骤均可完全追溯并完整记录。将鸡胚成纤维细胞系DF-1细胞(ATCC,CRL-12203)接种在无菌组织培养瓶中,并用MVA亲本或MVA-VLP-MUC-1-LD10重组病毒以感染复数0.01感染。使用每个插入物上游

和下游的特异性引物(表14),通过PCR分析从这些细胞中收获的病毒DNA样品以检查转基因插入物的完整性(图10)。MVA亲本病毒DNA用作阴性对照,且来自三种不同质粒的DNA(含有Mucl、VP40或LD10基因)用作阳性对照。鉴定的条带与预期尺寸匹配(图11)。

[0621] 表14-引物序列

[0622]

SEQ ID NO:	序列描述	核酸序列
410	p55 LD10 F	AGATCGGAGATGACTGCGATG
411	p54 LD10R/ GFP R	CGATGGATGGTCAGATTGTCC
412	p35 MUC-1 F	GAGAGGACGGGAGAATTAACTA
413	p36 MUC-1 R	TGGTAGGAATACCAGATACGAC
414	p44 VP40 F	GGAGCAGAGTTTACATCTTCCAA
415	p10 VP40 R	CTCCGTGAGAATATCCTTGCTC

[0624] 实施例15.MVA-VLP-MUC-1-LD10感染的DF-1细胞的重组蛋白产生的验证

[0625] 为了确定从重组的MVA-VLP-MUC-1-LD10病毒载体的MUC-1和VP40蛋白表达,将DF1细胞在6孔板中培养,并用亲本修饰安卡拉牛痘病毒(pMVA)或编码VLP-MUC-1-LD10的重组MVA病毒感染。收集细胞上清液和裂解物,并通过SDS-PAGE在Mini-Protean TGX凝胶上进行分析和转移至PVDF膜。然后用MUC1抗体(小鼠单克隆VU4H5,Santa Cruz#sc-7313,1:200)探测膜。MUC-1蛋白的预期尺寸为63kDa。仅在MVA-VLP-MUC-1-LD10裂解物中观察到MUC-1蛋白的稳健表达,而在用编码VLP-MUC-1-LD10的重组MVA病毒感染的细胞的上清液部分中未观察到该蛋白的稳定表达(图12)。在所有其他阴性对照样品中观察到可忽略的信号。

[0626] 转移的膜类似地用VP40抗体(兔多克隆抗体,IBT Bioservices#0303-001,1:1000)探测。重组VP40蛋白的预期尺寸为32kDa。在MVA-VLP-MUC-1-LD10细胞上清液和裂解物中观察到VP40蛋白的稳定表达,表明VP40在用编码VLP-MUC-1-LD10的重组MVA病毒感染的细胞中表达并分泌(图13)。

[0627] 为了确认LD10肽的表达,对感染的细胞裂解物进行斑点印迹。作为阳性对照,包含20ng Leidos LD10肽。用LD10抗体(小鼠,Leidos 014,7G10)探测膜。肽和MVA-VLP-MUC_1-LD10样品的标记证实了在MVA-VLP-MUC-1-LD10感染细胞中的LD10表达(图14)。

[0628] 实施例16.确认用MVA-VLP-MUC-1-LD10感染的DF-1细胞的MVA疫苗纯度

[0629] 在6孔板中,DF1细胞用30个斑形成单位(PFU)的病毒三次技术重复进行感染,并单独地用60PFU病毒三次技术重复进行感染。用MUC-1抗体(小鼠单克隆VU4H5,Santa Cruz#sc-7313,1:200)对所有孔进行探测,并计算斑数量(图15)。清洗孔,然后再次用MVA抗体探测,并对MVA阳性斑进行计数。计算MUC1斑与MVA斑的数量的百分比以观察疫苗的纯度。约95%或以上的MVA阳性斑在两种感染量下也对于MUC-1表达为阳性。

[0630] 在6孔板中,DF1细胞用30PFU病毒三次技术重复进行感染,并单独用60PFU病毒三

次技术重复进行感染。用VP40抗体(兔多克隆,IBT Bioservices#0303-001,1:1000)对所有孔进行探测,并计算斑数量(图16)。清洗孔,然后再次用MVA抗体探测,并对MVA阳性斑进行计数。计算VP40斑与MVA斑的数量的百分比以观察疫苗的纯度。约95%或以上的MVA阳性斑在两种感染量下也对于VP40表达为阳性。

序列表

<110> 吉奥瓦科斯公司
莱多斯公司
M·J·豪泽
A·多米
G·古铁雷斯
J·帕努奇
V·科特莱亚
T·法雷斯
P·布翁滕波
C·布劳恩

<120> 用于增强疫苗接种期间T细胞启动的病毒构建体

<130> 19101-014WO1

<150> 63/144,834
<151> 2021-02-02

<160> 415

[0001]

<170> PataentIn 3.5

<210> 1
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD01

<400> 1

Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile
1 5 10 15

Thr Ala Pro Leu Ser Gln
20

<210> 2
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD01r

<400> 2

Arg Thr Ser Thr Gly Asp Ile Thr Ser Leu Arg Val Ile Thr Ala
1 5 10 15

<210> 3
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD01 TQ19

<400> 3

Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
1 5 10 15

[0002] Leu Ser Gln

<210> 4
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD04

<400> 4

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Tyr Arg
1 5 10 15

Val Arg Ile Arg
20

<210> 5
<211> 18
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> LD10

<400> 5

Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu
1 5 10 15

Ser Gln

<210> 6
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD10 R9A

[0003] <400> 6

Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Ala Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu
1 5 10 15

Ser Gln

<210> 7
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD10 P15A

<400> 7

Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Ala Leu
1 5 10 15

Ser Gln

<210> 8
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD11

<400> 8

Cys His His Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile
1 5 10 15

Thr Ala Pro Leu Ser Gln
20

<210> 9
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

[0004]

<220>
<223> LD17m

<400> 9

Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Ala Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu
1 5 10 15

Ser Gln

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD40

<400> 10

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala
1 5 10

<210> 11
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> QP20

<400> 11

Gln Thr Arg Thr Val Pro Met Pro Lys Ile His His Pro Pro Trp Gln
1 5 10 15

Asn Val Val Pro
20

<210> 12
<211> 20
<212> PRT
[0005] <213> 人工序列

<220>
<223> HD20

<400> 12

His His His Gln Val Tyr Gln Val Arg Ser His Trp Thr Gly Met His
1 5 10 15

Ser Gly His Asp
20

<210> 13
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WQ20

<400> 13

Trp Asn Leu Pro Ala Ser Phe His Asn His His Ile Arg Pro His Glu
1 5 10 15

His Glu Trp Ile Gln
20

<210> 14
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SQ20

<400> 14

Ser Ser Tyr His His Phe Lys Met Pro Glu Leu His Phe Gly Lys Asn
1 5 10 15

Thr Phe His Gln
20

[0006]

<210> 15
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LD12

<400> 15

Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Ala Arg Val Asn Ile
1 5 10 15

Thr Ala Pro Leu Ser Gln
20

<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C1

<400> 16

Tyr Ser Ala Tyr Gln Cys Trp Cys Trp Arg Gln Gln Gly Thr Ser
1 5 10 15

<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C2

<400> 17

Tyr His Gln Tyr Ser Cys Trp Cys Trp Arg Pro Pro Gly Pro Tyr
1 5 10 15

[0007] <210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C3

<400> 18

Tyr Ala Ser Tyr His Cys Trp Cys Trp Arg Asp Pro Gly Arg Ser
1 5 10 15

<210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C4

<400> 19

Thr Ala Tyr Trp Asn Cys Trp Cys Trp Arg Glu Lys Ala Gly Gln
1 5 10 15

<210> 20
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C5

<400> 20

Thr Tyr Gly Tyr Ser Cys Trp Cys Trp Arg Gln His Pro Trp Thr
1 5 10 15

<210> 21
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

[0008]

<220>
<223> C6

<400> 21

Ser Thr Ala Tyr His Cys Trp Cys Trp Arg Glu Pro Tyr Gly Asn
1 5 10 15

<210> 22
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C7

<400> 22

Thr Thr Arg Tyr Ser Cys Trp Cys Trp Arg Asp Asp Ala Tyr Ala
1 5 10 15

<210> 23
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CLP001

<400> 23

His Tyr Pro Phe Arg Pro His Ala Asn Gln Ala Ser
1 5 10

<210> 24
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CLP002

<400> 24

[0009]

Trp His Arg Ser Tyr Tyr Thr Trp Asn Leu Asn Thr
1 5 10

<210> 25
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CLP003

<400> 25

Trp His Phe Ser Tyr Asn Trp Arg Trp Leu Pro Pro
1 5 10

<210> 26
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CLP004

<400> 26

Asp Tyr His Asp Pro Ser Leu Pro Thr Leu Arg Lys
1 5 10

<210> 27
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人 PD-L1 抑制剂 I

<400> 27

Phe Asn Trp Asp Tyr Ser Trp Lys Ser Glu Arg Leu Lys Glu Ala Tyr
1 5 10 15

Asp Leu

[0010] <210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人 PD-L1 抑制剂 II

<400> 28

Phe Asn Trp Asp Tyr Ser Leu Glu Glu Leu Arg Glu Lys Ala Lys Tyr
1 5 10 15

Lys

<210> 29
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人 PD-L1 抑制剂 III

<400> 29

Thr Glu Lys Asp Tyr Arg His Gly Asn Ile Arg Met Lys Leu Ala Tyr
1 5 10 15

Asp Leu

<210> 30
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人 PD-L1 抑制剂 IV

<400> 30

Gly Asn Trp Asp Tyr Asn Ser Gln Arg Ala Gln Leu Tyr Asn Gln
[0011] 1 5 10 15

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人 PD-L1 抑制剂 V

<400> 31

Leu Asp Tyr Val Asn Arg Arg Lys Met Tyr Gln
1 5 10

<210> 32
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PPA-1

<400> 32

Asn Tyr Ser Lys Pro Thr Asp Arg Gln Tyr His Phe
1 5 10

<210> 33
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PPA-2

<400> 33

Lys His Ala His His Thr His Asn Leu Arg Leu Pro
1 5 10

<210> 34
<211> 12
<212> PRT
[0012] <213> 人工序列

<220>
<223> PPA-3

<400> 34

Ala Ala Lys Met Asp Gly His Leu His Gly Gly Gln
1 5 10

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PPA-4

<400> 35

Met Arg Asn Arg Glu Arg Tyr Pro Lys Pro Tyr Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PPA-5

<400> 36

Thr Tyr Leu Gln Arg Pro Ser Thr Asn Leu Glu Arg
1 5 10

<210> 37
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P1

[0013]

<400> 37

Ser Cys Phe Pro Asn Trp Ser Leu Arg Pro Met Asn Gln Met
1 5 10

<210> 38
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P2

<400> 38

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

Cys Glu Lys Gly
20

<210> 39
<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TP

<400> 39

Ser Cys Phe Pro Asn Trp Ser Leu Arg Pro Met Asn Gln Met
1 5 10

<210> 40
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AP

<400> 40

[0014]
Met Asp Glu Lys Ala Gln Lys Gly Pro Ala Lys Leu Val Phe Phe Ala
1 5 10 15

Cys Glu Lys Gly
20

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD6478

<400> 41

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

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PL120131

<400> 42

Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val Asn
1 5 10

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C17

<400> 43

Cys Asn Met His Thr Pro Met Val Cys
1 5

[0015] <210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C19

<400> 44

Cys Asn Trp Met Ile Asn Lys Glu Cys
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> C25

<400> 45

Cys Val Pro Met Thr Tyr Arg Ala Cys
1 5

<210> 46
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P29

<400> 46

Ala Asp Phe Arg Val Met Ala Asp Met Ser Met Tyr
1 5 10

<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

[0016] <220>
<223> P1309

<400> 47

Ser His Thr Thr Thr Glu His Ala Lys Asp Lys Ile
1 5 10

<210> 48
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P26

<400> 48

Gly Leu Ile Pro Leu Thr Thr His Met His Ile Gly Lys
1 5 10

<210> 49

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P1310

<400> 49

Thr Phe Leu Asn Ser Val Pro Thr Tyr Ser Tyr Trp
1 5 10

<210> 50
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P1307

<400> 50

[0017]

Ser His Asp Thr Arg Ser Pro Phe Thr Trp Gly Arg
1 5 10

<210> 51
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P24

<400> 51

Gly Ser Trp Asn Thr Phe Arg Ala Gln Pro Thr Ile
1 5 10

<210> 52
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> P22

<400> 52

Ser Phe Ala Gly Val His Gln Phe Arg Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 53
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P1303

<400> 53

Ala Leu Trp Pro Ser Ser Ser Met Ser Ser Thr Ile
1 5 10

[0018]

<210> 54
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P1301

<400> 54

His Asp Ala Phe Pro Arg Pro His Leu Phe Arg Asn
1 5 10

<210> 55
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P20

<400> 55

Leu Thr Pro His Lys His His Lys His Leu His Ala

1 5 10

<210> 56
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GTX89379

<400> 56

Cys Lys Trp Tyr Ser His Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn
1 5 10

<210> 57
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0019] <223> 人 OSM

<400> 57

Gly Val Leu Leu Thr Gln Arg Thr Leu Leu Ser Leu Val Leu Ala Leu
1 5 10 15

Leu Phe Pro Ser Met Ala Ser Met
20

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VSV-G

<400> 58

Lys Cys Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Leu Phe Ile Gly Val Asn Cys
1 5 10 15

<210> 59
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 小鼠 Ig κ

<400> 59

Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly
1 5 10 15

Ser Thr Gly Asp
20

<210> 60
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

[0020]

<220>
<223> 人 IgG2 H

<400> 60

Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val
1 5 10 15

His Ser

<210> 61
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BM40

<400> 61

Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu Ala
1 5 10 15

<210> 62
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Secrecon

<400> 62

Trp Trp Arg Leu Trp Trp Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Trp Pro
1 5 10 15

Met Val Trp Ala
20

<210> 63
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

[0021] <220>
<223> 人 IgKVIII

<400> 63

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

Arg Gly Ala Arg Cys
20

<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD33

<400> 64

Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala

1 5 10 15

<210> 65
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 组织纤溶酶原激活剂(tPA)

<400> 65

Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala
1 5 10 15

Val Phe Val Ser Pro Ser
20

<210> 66
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

[0022]

<220>
<223> 组织纤溶酶原激活剂(tPA)

<400> 66

Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala
1 5 10 15

Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly
20 25 30

Ala Arg

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人胰凝乳蛋白酶原

<400> 67

Ala Phe Leu Trp Leu Leu Ser Cys Trp Ala Leu Leu Gly Thr Thr Phe
1 5 10 15

Gly

<210> 68
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人胰蛋白酶原-2

<400> 68

Asn Leu Leu Leu Ile Leu Thr Phe Val Ala Ala Ala Val Ala
1 5 10

[0023] <210> 69
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人 IL-2

<400> 69

Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu Val
1 5 10 15

Thr Asn Ser

<210> 70
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 高斯荧光素酶

<400> 70

Gly Val Lys Val Leu Phe Ala Leu Ile Cys Ile Ala Val Ala Glu Ala
1 5 10 15

<210> 71
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白蛋白(HSA)

<400> 71

Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Ser Ser Ala Tyr Ser
1 5 10 15

[0024]

<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 流感血凝素

<400> 72

Lys Thr Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Ile Phe Cys Leu Val Leu Gly
1 5 10 15

<210> 73
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人胰岛素

<400> 73

Ala Leu Trp Met Arg Leu Leu Pro Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu Trp

1 5 10 15

Gly Pro Asp Pro Ala Ala Ala
20

<210> 74
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 蚕丝蛋白 LC

<400> 74

Lys Pro Ile Phe Leu Val Leu Leu
1 5

<210> 75
<211> 21
<212> PRT
[0025] <213> 人工序列

<220>
<223> 碱性磷酸酶

<400> 75

Leu Gly Pro Cys Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu
1 5 10 15

Gln Leu Ser Leu Gly
20

<210> 76
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Secron 2

<400> 76

Arg Pro Thr Trp Ala Trp Trp Leu Phe Leu Val Leu Leu Leu Ala Leu
1 5 10 15

Trp Ala Pro Ala Arg Gly
20

<210> 77
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人胱抑素 s

<400> 77

Ala Gly Pro Leu Arg Ala Pro Leu Leu Leu Leu Ala Ile Leu Ala Val
1 5 10 15

Ala Leu Ala Val Ser Pro Ala Ala Gly Ser Ser
20 25

[0026]

<210> 78
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 乳转铁蛋白

<400> 78

His Lys Leu Val Phe Leu Val Leu Leu Phe Leu Gly Ala Leu Gly Leu
1 5 10 15

Cys Leu Ala

<210> 79
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 红细胞生成素

<400> 79

Gly Val His Glu Cys Pro Ala Trp Leu Trp Leu Leu Leu Ser Leu Leu
1 5 10 15

Ser Leu Pro Leu Gly Leu Pro Val Leu Gly
20 25

<210> 80
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人 a-1-抗糜蛋白酶

<400> 80

Glu Arg Met Leu Pro Leu Leu Ala Leu Gly Leu Leu Ala Ala Gly Phe
[0027] 1 5 10 15

Cys Pro Ala Val Leu Cys
20

<210> 81
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TNF 受体超家族 - 成员 6 亚型 4

<400> 81

His Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
1 5 10 15

<210> 82
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人催乳素

<400> 82

Asn Ile Lys Gly Ser Pro Trp Lys Gly Ser Leu Leu Leu Leu Leu Val
1 5 10 15

Ser Asn Leu Leu Leu Cys Gln Ser Val Ala Pro
20 25

<210> 83
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 骨桥蛋白

<400> 83

[0028]

Arg Leu Ala Val Val Cys Leu Cys Leu Phe Gly Leu Ala Ser Cys
1 5 10 15

<210> 84
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> ATC

<400> 84

Gly Arg Met Leu Pro Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ala Gly Phe
1 5 10 15

Cys Pro Ala Val Leu Ala
20

<210> 85
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有

<400> 85

Arg Ser Leu Ser Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Pro
1 5 10 15

Ala Ser Ala Ala
20

<210> 86
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有

<400> 86

[0029]
Lys Ser Leu Ser Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro
1 5 10 15

Gly Ala Leu Ala Ala
20

<210> 87
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有

<400> 87

Arg Gly Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15

Leu Ala Leu Ala Ala Pro Val Pro
20

<210> 88
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有

<400> 88

Arg Gly Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala
1 5 10 15

Gly Val Leu Ala Ala Pro
20

<210> 89
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

[0030]

<220>
<223> 共有

<400> 89

Arg Gly Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ser
1 5 10 15

Pro Ala Leu Ala
20

<210> 90
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有

<400> 90

Arg Ser Leu Ser Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Pro
1 5 10 15

Ala Ser Ala Ala
20

<210> 91
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解肽序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(3)
<223> Xaa 可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 91

Arg Xaa Xaa Arg
1

[0031] <210> 92
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解肽序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(3)
<223> Xaa 可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 92

Arg Xaa Xaa Arg
1

<210> 93
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解肽序列

<400> 93

Arg Ala Lys Arg
1

<210> 94
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解肽序列

<400> 94

Arg Arg Arg Arg
1

[0032] <210> 95
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解肽序列

<400> 95

Arg Lys Arg Arg
1

<210> 96
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解肽序列

<400> 96

Arg Arg Lys Arg
1

<210> 97
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可裂解肽序列

<400> 97

Arg Lys Lys Arg
1

<210> 98
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

[0033] <220>
<223> 顺式作用水解酶元件肽(CHYSEL)

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 可以是任何天然存在的氨基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa 可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 98

Asp Xaa Glu Xaa Asn Pro Gly Pro
1 5

<210> 99
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 顺式作用水解酶元件肽(CHYSEL)

<400> 99

Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
1 5

<210> 100
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 小核糖核酸病毒科口蹄疫病毒：口蹄疫病毒

<400> 100

Pro Ser Asp Ala Arg His Lys Gln Arg Ile Val Ala Pro Ala Lys Gln
1 5 10 15

[0034]

Leu Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 101
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 禽病毒属：禽病毒A型

<400> 101

Ala Arg Arg Thr Leu Glu Trp Ala Arg Arg Glu Val Gly Ala Ile Asp
1 5 10 15

Glu Thr Asp His Lys Asp Ile Leu Leu Gly Gly Asp Ile Glu Glu Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 102
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 禽肝病毒：鸭甲型肝炎病毒

<400> 102

Arg Leu Lys Thr Leu Ala Phe Glu Leu Asn Leu Glu Ile Glu Ser Asp
1 5 10 15

Gln Ile Arg Asn Lys Lys Asp Leu Thr Thr Glu Gly Val Glu Pro Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

[0035]

<210> 103
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 心脏病毒：脑心肌炎：病毒

<400> 103

Val Arg Glu Glu Asn Val Phe Gly Leu Tyr Arg Ile Phe Asn Ala His
1 5 10 15

Tyr Ala Gly Tyr Phe Ala Asp Leu Leu Ile His Asp Ile Glu Thr Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 104
<211> 35
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 冠状病毒：冠状病毒 A 型

<400> 104

Ile Met Ala Asp Ser Val Leu Pro Arg Pro Leu Thr Arg Ala Glu Arg
1 5 10 15

Asp Val Ala Arg Asp Leu Leu Leu Ile Ala Gly Asp Ile Glu Ser Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 105
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

[0036]

<220>
<223> 埃博病毒：马乙型鼻炎病毒

<400> 105

Ser Glu Pro Ile Pro Glu Ala Thr Leu Ser Thr Ile Leu Ser Glu Gly
1 5 10 15

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Leu Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 106
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 埃博病毒：塞内卡谷病毒

<400> 106

Arg Tyr Lys Asn Ala Arg Ala Trp Cys Pro Ser Met Leu Pro Phe Arg
1 5 10 15

Ser Tyr Lys Gln Lys Met Leu Met Gln Ser Gly Asp Ile Glu Thr Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 107
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人病毒：人病毒A型

<400> 107

Cys Pro Arg Pro Gly Met Ala Ile Asp Pro Pro Ala Gln Ser Ser Gly
1 5 10 15

[0037]

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Arg Leu Ala Gly Asp Val Glu Leu Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 108
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 昆萨吉病毒：昆萨吉病毒A型

<400> 108

Ser Pro Arg Ser Leu Leu His Phe Leu Ile Gly Arg Pro Arg Pro Arg
1 5 10 15

Val Pro Pro Ser Pro Ser Leu Leu Leu Ser Gly Asp Val Glu Pro Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 109
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 米奇病毒：米奇病毒 A 型

<400> 109

Asp Ser Tyr Pro Ala Ser Gly Glu Glu Glu Glu Asp Asp Phe His Asp
1 5 10 15

Met Glu Asp His Ser Asp Ile Leu Leu Gly Gly Asp Val Glu Glu Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

[0038]

<210> 110
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 莫萨病毒：莫萨病毒 A2 型

<400> 110

Thr Asn Ser Arg Ala Lys Leu Met Val Asp Glu Asp Tyr Val Ile Gln
1 5 10 15

Arg Ser Ala His Arg Ser Val Leu Leu Asp Gly Asp Val Glu Ser Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 111
<211> 35

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 帕西病毒属：帕西病毒属 A1 型

<400> 111

Asp Ile Pro Ser Phe Gln Arg Asp Phe Ile Asn Trp Leu Gly Ser Lys
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Asn Met Ile Leu Gln Cys Gly Asp Val Glu Gln Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 112
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

[0039]

<220>
<223> 睾丸病毒：猪睾丸病毒 1 型

<400> 112

Glu Gly Leu Ser Ser Ala Met Thr Val Met Ala Phe Gln Gly Pro Gly
1 5 10 15

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 113
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 黄病毒科：黄病毒：感染性弗拉切病毒

<400> 113

Asn Tyr Pro Leu Val Pro Ser Ile Gly Asn Val Ala Arg Thr Leu Thr
1 5 10 15

Arg Ala Glu Ile Glu Asp Glu Leu Ile Arg Ala Gly Ile Glu Ser Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 114
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 四体病毒科：贝塔四体病毒：明脉扁刺蛾β四体病毒

<400> 114

[0040]

Arg Ser Arg Arg Leu Arg Gly Pro Arg Pro Gln Asn Leu Gly Val Arg
1 5 10 15

Ala Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 115
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 双顺反子病毒科：克里帕病毒：蟋蟀麻痹病毒

<400> 115

Phe Gln Gln Trp Lys Leu Val Ser Ser Asn Asp Glu Cys Arg Ala Phe
1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 116
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 呼肠病毒科：轮状病毒：人轮状病毒 C 型

<400> 116

Leu Lys Lys His Asn Gly Ala Gly Tyr Pro Leu Ile Val Ala Asn Ser
1 5 10 15

Lys Phe Gln Ile Asp Lys Ile Leu Ile Ser Gly Asp Ile Glu Leu Asn
20 25 30

[0041]

Pro Gly Pro
35

<210> 117
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 环病毒：舞毒蛾：迪斯帕病毒 1 型

<400> 117

Thr Asp Phe Leu Ser Met Thr Ala Phe Asp Phe Gln Gln Ala Val Phe
1 5 10 15

Arg Ser Asn Tyr Asp Leu Leu Lys Leu Cys Gly Asp Val Glu Ser Asn
20 25 30

Pro Gly Pro
35

<210> 118

<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 来自口蹄疫病毒的 2A 裂解序列(FMDV)

<400> 118

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 119
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0042] <223> 2A 或 2A-样裂解序列

<400> 119

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 120
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2A 或 2A-样裂解序列

<400> 120

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 121
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 2A 或 2A-样裂解序列

<400> 121

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 122
<211> 25
<212> PRT
[0043] <213> 人工序列

<220>
<223> 2A 或 2A-样裂解序列

<400> 122

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 123
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杂合可裂解序列

<400> 123

Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 124
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杂合可裂解序列

<400> 124

Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
[0044] 20 25

<210> 125
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杂合可裂解序列

<400> 125

Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 126
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杂合可裂解序列

<400> 126

Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 127
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杂合可裂解序列

<400> 127

[0045] Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 128
<211> 67
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> pH5 启动子

<400> 128
aaaaaatgaa aataaataca aaggttcttg agggttgtgt taaattgaaa gcgagaaata 60

atcataa 67

<210> 129
<211> 70
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> pH5 启动子

<400> 129
aaaaaatgaa aataaataca aaggttcttg agggttgtgt taaattgaaa gcgagaaata 60

atcataaatt 70

<210> 130
<211> 67
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 修饰的 pH5 启动子(pmH5)

<400> 130
aaaaattgaa aataaataca aaggttcttg agggttgtgt taaattgaaa gcgagaaata 60

[0046] atcataa 67

<210> 131
<211> 70
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 修饰的 pH5 启动子(pmH5)

<400> 131
aaaaattgaa aataaataca aaggttcttg agggttgtgt taaattgaaa gcgagaaata 60

atcataaata 70

<210> 132
<211> 70
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 修饰的 pH5 启动子(pmH5)

<400> 132
aaaaaatgaa aataaataca aaggttcttg agggttgtgt taaattgaaa gcgagaaata 60

atcataaata 70

<210> 133
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C23L

<400> 133
aaagtagaaa atata 15

<210> 134
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0047]
<220>
<223> 假基因

<400> 134
tatccggaga cgtca 15

<210> 135
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C11R

<400> 135
attactgaat taata 15

<210> 136
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> C10L

<400> 136
gcaacgtaaa acaca 15

<210> 137
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 无直系同源物

<400> 137
aaaaaataaa aaaaa 15

<210> 138
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0048]
<220>
<223> 无直系同源物

<400> 138
agtaaagaaa aagaa 15

<210> 139
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 无直系同源物

<400> 139
aaaattgata aataa 15

<210> 140
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 无直系同源物

<400> 140
aaattagaca tttga 15

<210> 141
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C9L

<400> 141
ataactgaaa tgaaa 15

<210> 142
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0049]

<220>
<223> C7L

<400> 142
aaagatgaaa aagta 15

<210> 143
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C6L

<400> 143
attaatgaaa taata 15

<210> 144
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> C5L

<400> 144
aaaaatgaaa atgga 15

<210> 145
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C4L

<400> 145
aaaacataaa aatta 15

<210> 146
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0050]
<220>
<223> N2L

<400> 146
ataacataaa aataa 15

<210> 147
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> M2L

<400> 147
aagatagatt tccta 15

<210> 148
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> K1L

<400> 148
aaaaatgaaa aaata 15

<210> 149
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> K3L

<400> 149
gaaaaagaaa ttcct 15

<210> 150
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0051]

<220>
<223> K5L

<400> 150
aatggtgaaa aaatg 15

<210> 151
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> K6L

<400> 151
aaaacataaa aataa 15

<210> 152
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> K7R

<400> 152
ataattgtaa aaaca 15

<210> 153
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F7L

<400> 153
ataattgaaa atgga 15

<210> 154
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0052]
<220>
<223> F8L

<400> 154
aaaaatttaa ttaca 15

<210> 155
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F11L

<400> 155
aaaagtgaaa aacaa 15

<210> 156
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> F12L

<400> 156
aaaaaagaaa ataga 15

<210> 157
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F14L

<400> 157
gtagaagaaa ataat 15

<210> 158
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0053]
<220>
<223> F15L

<400> 158
aaaaatgaaa cgtaa 15

<210> 159
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F16L

<400> 159
aaaaaacaaa atgaa 15

<210> 160
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> E1L

<400> 160
gagacagtag tttta 15

<210> 161
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> E3L

<400> 161
aaaaatgata aaata 15

<210> 162
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0054]
<220>
<223> E4L

<400> 162
aataatgaaa aaata 15

<210> 163
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> E5R

<400> 163
acaaaagtga atata 15

<210> 164
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> E9L

<400> 164
ttaaatgaaa atata 15

<210> 165
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> OIL

<400> 165
aataatgaaa aaaca 15

<210> 166
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0055]
<220>
<223> I3L

<400> 166
taaagtgaaa atata 15

<210> 167
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> I4L

<400> 167
attaatgaaa agtta 15

<210> 168
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> G2R

<400> 168
ataacaaaaa taaaa 15

<210> 169
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> G5R

<400> 169
aaaaatgata agata 15

<210> 170
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0056]
<220>
<223> G5.5R

<400> 170
aaaactgtaa cacga 15

<210> 171
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> L2R

<400> 171
aaaactgaaa atata 15

<210> 172
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> J2R

<400> 172
taaagtgaac aataa 15

<210> 173
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> J6R

<400> 173
aaaagggaaa tttga 15

<210> 174
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0057]
<220>
<223> H3L

<400> 174
agaattgaaa acgaa 15

<210> 175
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> H5R

<400> 175
aaaaatgaaa ataaa 15

<210> 176
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> D1R

<400> 176
gtaaatgaaa aaaaa 15

<210> 177
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> D4R

<400> 177
gaaaatgaaa aggta 15

<210> 178
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0058]

<220>
<223> D7R

<400> 178
aaaactgatg aaata 15

<210> 179
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> D9R

<400> 179
aaaaatgaaa tgata 15

<210> 180
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> D12L

<400> 180
aataatgaaa acaaa 15

<210> 181
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A4L

<400> 181
aattctgaaa ctaga 15

<210> 182
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0059]
<220>
<223> A5R

<400> 182
aaaattgaat tgcga 15

<210> 183
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A8R

<400> 183
taaagtgaaa atcta 15

<210> 184
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A18R

<400> 184
gcaatagaaa agatg 15

<210> 185
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A20R

<400> 185
aagaatgaaa taaca 15

<210> 186
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0060]

<220>
<223> A23R

<400> 186
aaaaatgtaa taacg 15

<210> 187
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A29L

<400> 187
aaagtcgaaa aagaa 15

<210> 188
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A31R

<400> 188
aaaacataaa tataa 15

<210> 189
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A33R

<400> 189
aatatggaaa actaa 15

<210> 190
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0061]

<220>
<223> A35R

<400> 190
aaaaatgaat taata 15

<210> 191
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A37R

<400> 191
aaaattgaag taata 15

<210> 192
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A40R

<400> 192
aatacttaaa atgta 15

<210> 193
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A41L

<400> 193
aaaatataaa ataaa 15

<210> 194
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0062]

<220>
<223> 268

<400> 194
aaaaatgaac tctta 15

<210> 195
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A44L

<400> 195
aaaatagaat aagta 15

<210> 196
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A46R

<400> 196
ataaatgaaa agata 15

<210> 197
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A47L

<400> 197
aaaactgaaa ataaa 15

<210> 198
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0063]
<220>
<223> A48R

<400> 198
aaattgtaaa aaata 15

<210> 199
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A50R

<400> 199
aaatattaaa aaaaa 15

<210> 200
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A52R

<400> 200
gaaataaaaa acata 15

<210> 201
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A55R

<400> 201
aaaaataaaa atata 15

<210> 202
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0064]
<220>
<223> A56R

<400> 202
aattttgtaa aaata 15

<210> 203
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 牛痘病毒启动子

<400> 203
attacatatt atata 15

<210> 204
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> B1R

<400> 204
aaaacttaaa attta 15

<210> 205
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B2R

<400> 205
ataaaaatta aaaaa 15

<210> 206
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0065]

<220>
<223> B5R

<400> 206
atatctaaaa atctt 15

<210> 207
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B6R

<400> 207
aaaaataatg accaa 15

<210> 208
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> B8R

<400> 208
attattcaaa atatg 15

<210> 209
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B11R

<400> 209
gaaaatgaaa atata 15

<210> 210
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0066]

<220>
<223> B12R

<400> 210
aaaacataaa aaaca 15

<210> 211
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B13R

<400> 211
aagattgaaa ttata 15

<210> 212
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> B17L

<400> 212
aaatatgtaa atatg 15

<210> 213
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B19R

<400> 213
aaaactgata ttata 15

<210> 214
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

[0067]
<220>
<223> 假基因

<400> 214
ataaatgtag actct 15

<210> 215
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C12L

<400> 215
taaactgaag tttaa 15

<210> 216
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> K2L

<400> 216
attttatac cgaacataaa aataaggtta attattaata ccataaaatc 50

<210> 217
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> K4L

<400> 217
ggatttttaa tagagtgaag tgatatagga ttattctttt aacaaataaa 50

<210> 218
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0068]

<220>
<223> F13L

<400> 218
attctagaat cgttgataga acaggatgta taagttttta tgttaactaa 50

<210> 219
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> E11L

<400> 219
tttgtatcat ttgtccatca acgtcatttc aataatattg gatgatataa 50

<210> 220
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 02L

<400> 220
actaaagagt taaataagtc gagatagttt tatatcactt aaatattaaa 50

<210> 221
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 03L

<400> 221
gtgcctaata ttactatatc aagtaatgct gaataaaaat atttataaat 50

<210> 222
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0069]
<220>
<223> I1L

<400> 222
ttctactact attgatatat ttgtatttaa aagttgtttg gtgaacttaa 50

<210> 223
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> I5L

<400> 223
atacaactag gactttgtca catattcttt gatctaattt ttagatataa 50

<210> 224
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> I6L

<400> 224
tgtgatatgt gataaattaa ctacaaaatt aaatagaata gtaaacgacg 50

<210> 225
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> G4L

<400> 225
cagtgattta ttttccagca gtaacgattt taagtttttg atacccataa 50

<210> 226
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0070]

<220>
<223> H1L

<400> 226
aattacacgc gtttaccgat aaagtagttt tatccatttg tacgttataa 50

<210> 227
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> H3L

<400> 227
aaaatataac tcgtattaaa gagttgtata tgattaattt caataactaa 50

<210> 228
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> D8L

<400> 228
aattcccata ctaagagcta tttttaaaca gttatcattt cattttact 50

<210> 229
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> D11L

<400> 229
taaactactg ctgtgatttt taaaacatag ttattactta tcactcataa 50

<210> 230
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0071]

<220>
<223> D13L

<400> 230
gatatttctc tacggagttt attgtaagct ttttccattt taaatagaaa 50

<210> 231
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A1L

<400> 231
aggttttcta cttgctcatt agaagtataa aaaaatagtt ccgtaattaa 50

<210> 232
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A2L

<400> 232
aaaatgtttt tatataaaat attggacgac gagatacgta gagtgttaac 50

<210> 233
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A3L

<400> 233
agattggata ttaaaatcac gctttcgagt aaaaactacg aatataaata 50

<210> 234
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0072]

<220>
<223> A6L

<400> 234
aactctggaa gagcacaaat aaattaaaca actaaatctg taaataaata 50

<210> 235
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A12L

<400> 235
tataatctag ttaaatcttc tgtataaata aaaatatttt tagcttctaa 50

<210> 236
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A15L

<400> 236
ctattttata tctatttatt cgcgtcctaa aattaaaaca aatgatataa 50

<210> 237
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A16L

<400> 237
gatgttgata taccaacatt taacagttta aatactgacg attattaaga 50

<210> 238
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0073]
<220>
<223> A19L

<400> 238
ttgcacgatc gtgttatagg gcatattctg acttattttt tactacctaa 50

<210> 239
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 牛痘病毒启动子

<400> 239
aattcgaaag aaaaagaatc acagtcctaa aagctgaact tcggaaatct 50

<210> 240
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 牛痘病毒启动子

<400> 240

atctagaata tcagatcttg aaagacagtt gaacgactgt agacgtaata 50

<210> 241

<211> 50

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> A25L

<400> 241

ttataattac ccgattgtag ttaagttttg aataaaattt tttataataa 50

<210> 242

<211> 50

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> A27L

[0074]

<400> 242

taccaaatat aaataacgca gagtgtcagt ttctaaaatc tgtactttaa 50

<210> 243

<211> 50

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> A30L

<400> 243

tccataaaag acgaataaga tacaaacaca aatgtttata taatatttaa 50

<210> 244

<211> 50

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> A30.5L

<400> 244
atgtttttttc caaaaaccta agtgtattta aaatagatgc catgttaaaa 50

<210> 245
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A32L

<400> 245
tccatatttt gatttattat caaattaatt tagtaactgt aaatataatt 50

<210> 246
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A38L

[0075]

<400> 246
caaaatagaa taaaataaat aacaaaggta tcattttaaa taaataaaaa 50

<210> 247
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 牛痘病毒启动子

<400> 247
gatatccatg gtatagacca aacaataacg atatatatca taaataaata a 51

<210> 248
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> E6R

<400> 248
taattattag aataagagtg tagtatcata gataactctc ttctataaaa 50

<210> 249
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> E7R

<400> 249
tatacataga tataattatc acatattaaa aattcacaca tttttgataa 50

<210> 250
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> E8R

[0076]

<400> 250
acataaaaac tcattacata gttgataaaa agcggtagga tataaatatt 50

<210> 251
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> I8R

<400> 251
tagttctggt attttactaa ttactaaatc tgtatatctt tccatttatc 50

<210> 252
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> G8R

<400> 252
cgacgctgtt ctgcagccat ttaactttaa ataatttaca aaaatttaaa 50

<210> 253
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> L4R

<400> 253
tttgtaacat cggtacgggt attcatttat cacaaaaaaa acttctctaa 50

<210> 254
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> J1R

[0077]

<400> 254
tagtaaaccg atagtgtata aagattgtgc aaagcttttg cgatcaataa 50

<210> 255
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> H7R

<400> 255
ctacggatgg atgatataga tctttacaca aataattaca aaaccgataa 50

<210> 256
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> D6R

<400> 256
atctccgtaa atatatgctc atatatttat agaagatatc acatatctaa 50

<210> 257
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> D10R

<400> 257
gataaatacg aatatctgtc ttatatttat aatatgctag ttaatagtaa 50

<210> 258
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
[0078] <223> A22R

<400> 258
caatattgaa aatactaatt gtttaaataa cccgagtatt gaaactatat 50

<210> 259
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A34R

<400> 259
tatttttgtg ttaaaacaat gaactaatat ttatttttgt acattaataa 50

<210> 260
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 牛痘病毒启动子

<400> 260
gatacgatac tatatgtatt cttcgatagt ccgcattatg tacctattct 50

<210> 261
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A42R

<400> 261
caagtttatt ccaatagatg tcttattaaa aacatatata ataaataaca 50

<210> 262
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0079]

<220>
<223> A43R

<400> 262
aactggtaat taaaataaaa agtaatattc atatgtagtg tcaattttaa 50

<210> 263
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A53R

<400> 263
tttttgatgg tggtttaacg ttttaaaaaa agattttgtt attgtagtat 50

<210> 264
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> B4R

<400> 264
taacattgtt aattgaaaag ggataacatg ttacagaata taaattatat 50

<210> 265
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> B9R

<400> 265
tgcatattat acactggtta acgcccttat aggctctaac cattttcaag 50

<210> 266
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0080]
<220>
<223> 牛痘病毒启动子

<400> 266
ttgcagtgtt catctcccaa ctgcaagtga aggattgata actgaaggca 50

<210> 267
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 牛痘病毒启动子

<400> 267
ctcttctccc tttcccagaa acaaactttt tttacccact ataaaataaa 50

<210> 268
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> C13L

<400> 268
aatagtataa actaaaaatt aaacaaatcg ttattataag taatatcaaa 50

<210> 269
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C19L

<400> 269
ttctgttttt ctttcacatc tttaattatg aaaaagtaaa tcattatgag 50

<210> 270
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0081]

<220>
<223> C8L

<400> 270
cacttactaa atagccaagg tgattattcg tatttttta aggagtaacc 50

<210> 271
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> C3L

<400> 271
ttttattatt tgtacgatgt ccaggataac atttttacgg ataaataaat 50

<210> 272
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> F9L

<400> 272
tagtttcttg gaaaaattta ttatgagaga cattttctca gactggataa 50

<210> 273
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> F10L

<400> 273
tctatcaaac ctggactttc gtttgtaaat tggggctttt tgtacaataa 50

<210> 274
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0082]

<220>
<223> I2L

<400> 274
atgaatatga tgaagatagc gataaagaaa agccaatatt caatgtataa 50

<210> 275
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> I7L

<400> 275
saacgcagtt tggaaaaaag aagatatctg gtaaattctt ttccatgata a 51

<210> 276
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> G1L

<400> 276
tacgatgata acgacatacg aacattactt cctattttac tccttagtaa 50

<210> 277
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> G3L

<400> 277
atcttctgta agtaggaatt tggacaagtt gaacaaaatt agatctctaa 50

<210> 278
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0083]

<220>
<223> G7L

<400> 278
atttttatac ggatgctcat tttaaatttt tgtaaattat ttaaagttaa 50

<210> 279
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> L3L

<400> 279
atgaggtttt ctagcagtag actcatttag agaagttttt tttgtgataa 50

<210> 280
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> J5L

<400> 280
ttattacaac tataaaaata atagttatat ttacacttta aatttttatc 50

<210> 281
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> H4L

<400> 281
taaaaaaatt atacatcata aaccaatttc ctagttgttt gtaactttaa 50

<210> 282
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0084]

<220>
<223> D2L

<400> 282
cgttatcgtc gttatctact ttgggatact tattatcctt aactataaaa 50

<210> 283
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A2.5L

<400> 283
tatattagcg ctagacatat tacagaacta ttttagatta tgatatttaa 50

<210> 284
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A7L

<400> 284
aagacttaca tcatcggtag tagattttca ctttacccca cgatataaat 50

<210> 285
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A9L

<400> 285
aaaatctaaa tatgacagat ggtgactctg tctcttttga tgatgaataa 50

<210> 286
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0085]

<220>
<223> A10L

<400> 286
atcgttttgt atatccgtca ctggtacggt cgtcatttaa tactaaataa 50

<210> 287
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A13L

<400> 287
aaaagatgat atattgcata cttgatcaat agtgaagtta ttgtcaataa 50

<210> 288
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A14L

<400> 288
gtttatattc cactttgttc attcggcgat ttaaaatttt tattagttaa 50

<210> 289
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A14.5L

<400> 289
attcgtatta tttgagcaag aaaatatccc accacctttt cgtctagtaa 50

<210> 290
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0086]
<220>
<223> A17L

<400> 290
ggcataaaga ttatactcca tctttaatag tgacattttt taatatataa 50

<210> 291
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A21L

<400> 291
tgtacagact aagtaattct tttaagttag ttaaatcagc gctagaagtc 50

<210> 292
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A26L

<400> 292
acttaactct tttgttaatt aaaagtatat tcaaaaaatg agttatataa 50

<210> 293
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A28L

<400> 293
cattgtctga tgcgtgtaaa aaaattttgt cagcttctaa tagattataa 50

<210> 294
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0087]
<220>
<223> F17R

<400> 294
tgtatgtaaa aatatagtag aatttcattt tgtttttttc tatgctataa 50

<210> 295
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> E10R

<400> 295
taatgcaccg aacatccatt tatagaattt agaaatatat tttcatttaa 50

<210> 296
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> G6R

<400> 296
agaacctcaa cgtaacttaa cagtgcaacc tctattggat ataaactaat 50

<210> 297
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> G9R

<400> 297
gatcaacatc tttatggcgt ttttagatta atactttcaa tgagataaat 50

<210> 298
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0088]

<220>
<223> L1R

<400> 298
tcagtttatt atctctcttg gtaatatgga tactaattgt agctatttaa 50

<210> 299
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> L5R

<400> 299
aaaagaatat tcctctaaca gatattccga caaaggattg attactataa 50

<210> 300
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> H2R

<400> 300
gtagtagtaa gtatttatac aaacttttct tatccattta taacgtacaa 50

<210> 301
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> H6R

<400> 301
agggaaaatc taaagttgtt cgtaaaaaag ttaaaacttg taagaagtaa 50

<210> 302
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0089]

<220>
<223> D3R

<400> 302
ataaaatact actgttgagt aaatcagtta tttttttat atcgatattg 50

<210> 303
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A11L

<400> 303
ttgatcaaga gtaactattg acttaatagg catcatttat ttagtattaa 50

<210> 304
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> A39R

<400> 304
ccaatttcca tctaatatac tttgtcggat tatctatagt acacggaata 50

<210> 305
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A45R

<400> 305
ccattgctgc cactcataat atcagactac ttattctatt ttactaaata 50

<210> 306
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

[0090]

<220>
<223> B7R

<400> 306
tttgtataaa taattatttc aatatactag ttaaaatttt aagattttaa 50

<210> 307
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 牛痘病毒启动子

<400> 307
tccatccaca gacgttaccg aaccgattag tgatgtgaca ccatcggtgg 50

<210> 308
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 牛痘病毒启动子

<400> 308
atacgaggac gtgtatagag taagtaaaga aaaagaatgt ggaatttgct 50

<210> 309
<211> 83
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 309

[0091]

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro

<210> 310
<211> 83
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> REPEAT
<222> (2)..(83)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 310

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

[0092]

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro

<210> 311
<211> 83
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 311

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro

<210> 312
<211> 83
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0093] <223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 312

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

65 70 75 80

Pro Gly Pro

<210> 313
<211> 79
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 313

[0094]

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
65 70 75

<210> 314
<211> 79
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>

<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 314

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe
50 55 60

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
65 70 75

[0095]

<210> 315
<211> 79
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 315

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
65 70 75

<210> 316
<211> 79
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 316

[0096] Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
65 70 75

<210> 317
<211> 139
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 317

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

[0097]

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
130 135

<210> 318
<211> 139
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>

<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多

<400> 318

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

[0098]

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
130 135

<210> 319
<211> 139
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)

<223> 重复2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多

<400> 319

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

[0099]

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
130 135

<210> 320
<211> 139
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA Viral Vector Encoded Polypeptide

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复2、3、4、5、6、7、8、9、10次或更多

<400> 320

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
[0100] 100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
130 135

<210> 321
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> REPEAT
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 321

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

[0101]

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln
130

<210> 322
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 322

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly

1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe
50 55 60

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
[0102] 115 120 125

Leu Ser Gln
130

<210> 323
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 323

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

[0103] Leu Ser Gln
130

<210> 324
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 324

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg

20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln
130

[0104]

<210> 325
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 325

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

[0105] Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Ala Lys
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg

290 295 300

Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
385 390 395 400

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
405 410

[0106]

<210> 326
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 326

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

[0107] Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

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

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg

290 295 300

Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
385 390 395 400

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
405 410

[0108]

<210> 327
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 327

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

[0109] Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Arg
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg

290 295 300

Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
385 390 395 400

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
405 410

[0110]

<210> 328
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 328

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

[0111] Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Lys
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg

290 295 300

Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
385 390 395 400

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
405 410

[0112]

<210> 329
<211> 385
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 329

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

[0113] Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Ala Lys
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg

290 295 300

Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln
385

[0114]

<210> 330
<211> 385
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 330

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

[0115] Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

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

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
290 295 300

Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala

305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln
385

<210> 331
<211> 385
<212> PRT
<213> 人工序列

[0116]

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 331

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

[0117] Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Arg
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
290 295 300

Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu

325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln
385

<210> 332
<211> 385
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

[0118]

<400> 332

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Lys
210 215 220

[0119]

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
290 295 300

Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln
385

<210> 333
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 333

[0120]

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

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

115 120 125

Leu Ser Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
[0121] 225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Ala Lys
355 360 365

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
370 375 380

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
385 390

<210> 334
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 334

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

[0122]

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe
50 55 60

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu

130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
[0123] 245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg
355 360 365

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
370 375 380

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
385 390

<210> 335
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 335

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

[0124]

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met

145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
[0125] 260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Arg
355 360 365

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
370 375 380

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
385 390

<210> 336
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 336

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

[0126]

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val

165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
[0127] 275 280 285

Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Lys
355 360 365

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
370 375 380

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
385 390

<210> 337
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 337

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

[0128]

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser

180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

Gln Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

[0129]

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
355 360 365

<210> 338
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 338

```
Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1               5                  10                  15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
            20                  25                  30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
        35                  40                  45

Ala Pro Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe
    50                  55                  60

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65                  70                  75                  80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
                85                  90                  95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
            100                 105                 110
```

[0130]

```
Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
        115                 120                 125

Leu Ser Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
    130                 135                 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145                 150                 155                 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
            180                 185                 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
        195                 200                 205

Gln Arg Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
    210                 215                 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
```

225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Arg Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

[0131]

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
355 360 365

<210> 339
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 339

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

[0132] Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

Gln Arg Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg

275 280 285

Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
355 360 365

<210> 340
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列

[0133]

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 340

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

[0134] Gln Arg Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Arg Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln

325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
355 360 365

<210> 341
<211> 83
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

[0135]

<400> 341

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro

<210> 342
<211> 79
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 342

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

[0136]

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
65 70 75

<210> 343
<211> 139
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(83)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 343

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

[0137] Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
130 135

<210> 344
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<220>
<221> 重复
<222> (2)..(79)
<223> 重复 2、3、4、5、6、7、8、9、10 次或更多

<400> 344

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg

20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln
130

[0138]

<210> 345
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 345

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

[0139] Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Lys
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg

290 295 300

Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
385 390 395 400

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
405 410

[0140]

<210> 346
<211> 391
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 346

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

[0141] Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala

290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Lys
355 360 365

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
370 375 380

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
385 390

[0142]

<210> 347
<211> 385
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 347

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg
35 40 45

Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly
50 55 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
65 70 75 80

Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu
85 90 95

Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe
100 105 110

Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr
115 120 125

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

Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu
165 170 175

Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala
180 185 190

[0143] Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly Gln Ile
195 200 205

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg Lys Lys
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp
225 230 235 240

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys
245 250 255

Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile
260 265 270

His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser Thr Gly
275 280 285

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
290 295 300

Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala

305 310 315 320

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Cys Arg Arg Thr Ser
355 360 365

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
370 375 380

Gln
385

<210> 348
<211> 365
<212> PRT
<213> 人工序列

[0144]

<220>
<223> rMVA 病毒载体编码多肽

<400> 348

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15

Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg
20 25 30

Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr
35 40 45

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

Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp
65 70 75 80

Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val
85 90 95

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala
100 105 110

Arg Ser Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro
115 120 125

Leu Ser Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
130 135 140

Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met
145 150 155 160

Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val
165 170 175

Ser Pro Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser
180 185 190

Thr Gly Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser
195 200 205

[0145] Gln Arg Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
210 215 220

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg
225 230 235 240

Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro
245 250 255

Ser Gln Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly
260 265 270

Gln Ile Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln Arg
275 280 285

Lys Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala
290 295 300

Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu
305 310 315 320

Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Phe Val Ser Pro Ser Gln

325 330 335

Glu Ile His Ala Arg Phe Arg Arg Gly Ala Arg Ser Thr Gly Gln Ile
340 345 350

Ser Thr Leu Arg Val Asn Ile Thr Ala Pro Leu Ser Gln
355 360 365

<210> 349
<211> 435
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人类粘蛋白 I

<400> 349

Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Thr Val
1 5 10 15

[0146]

Leu Thr Val Val Thr Gly Ser Gly His Ala Ser Ser Thr Pro Gly Gly
20 25 30

Glu Lys Glu Thr Ser Ala Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Ser Ser Thr
35 40 45

Glu Lys Asn Ala Val Ser Met Thr Ser Ser Val Leu Ser Ser His Ser
50 55 60

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

Pro Ala Thr Glu Pro Ala Ser Gly Ser Ala Ala Thr Trp Gly Gln Asp
85 90 95

Val Thr Ser Val Pro Val Thr Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Thr Pro
100 105 110

Pro Ala His Asp Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Lys Pro Ala Pro Gly
115 120 125

Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg
130 135 140

Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala
145 150 155 160

Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly
165 170 175

Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro
180 185 190

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

Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Arg
210 215 220

Pro Ala Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val Thr Ser Ala
225 230 235 240

Ser Gly Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Thr Leu Val His Asn Gly Thr
245 250 255

[0147] Ser Ala Arg Ala Thr Thr Thr Pro Ala Ser Lys Ser Thr Pro Phe Ser
260 265 270

Ile Pro Ser His His Ser Asp Thr Pro Thr Thr Leu Ala Ser His Ser
275 280 285

Thr Lys Thr Asp Ala Ser Ser Thr His His Ser Thr Val Pro Pro Leu
290 295 300

Thr Ser Ser Asn His Ser Thr Ser Pro Gln Leu Ser Thr Gly Val Ser
305 310 315 320

Phe Phe Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn Leu Gln Phe Asn Ser Ser
325 330 335

Leu Glu Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln Glu Leu Gln Arg Asp Ile
340 345 350

Ser Glu Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln Gly Gly Phe Leu Gly Leu
355 360 365

Ser Asn Ile Lys Phe Arg Pro Gly Ser Val Val Val Gln Leu Thr Leu

370 375 380

Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe
385 390 395 400

Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile Ser
405 410 415

Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly
420 425 430

Ala Gly Val
435

<210> 350
<211> 436
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 细胞周期蛋白B1

[0148]

<400> 350

Leu Pro Gly Met Ala Leu Arg Val Thr Arg Asn Ser Lys Ile Asn Ala
1 5 10 15

Glu Asn Lys Ala Lys Ile Asn Met Ala Gly Ala Lys Arg Val Pro Thr
20 25 30

Ala Pro Ala Ala Thr Ser Lys Pro Gly Leu Arg Pro Arg Thr Ala Leu
35 40 45

Gly Asp Ile Gly Asn Lys Val Ser Glu Gln Leu Gln Ala Lys Met Pro
50 55 60

Met Lys Lys Glu Ala Lys Pro Ser Ala Thr Gly Lys Val Ile Asp Lys
65 70 75 80

Lys Leu Pro Lys Pro Leu Glu Lys Val Pro Met Leu Val Pro Val Pro
85 90 95

Val Ser Glu Pro Val Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
100 105 110

Val Lys Glu Glu Lys Leu Ser Pro Glu Pro Ile Leu Val Asp Thr Ala
115 120 125

Ser Pro Ser Pro Met Glu Thr Ser Gly Cys Ala Pro Ala Glu Glu Asp
130 135 140

Leu Cys Gln Ala Phe Ser Asp Val Ile Leu Ala Val Asn Asp Val Asp
145 150 155 160

Ala Glu Asp Gly Ala Asp Pro Asn Leu Cys Ser Glu Tyr Val Lys Asp
165 170 175

Ile Tyr Ala Tyr Leu Arg Gln Leu Glu Glu Glu Gln Ala Val Arg Pro
180 185 190

Lys Tyr Leu Leu Gly Arg Glu Val Thr Gly Asn Met Arg Ala Ile Leu
195 200 205

Ile Asp Trp Leu Val Gln Val Gln Met Lys Phe Arg Leu Leu Gln Glu
210 215 220

[0149] Thr Met Tyr Met Thr Val Ser Ile Ile Asp Arg Phe Met Gln Asn Asn
225 230 235 240

Cys Val Pro Lys Lys Met Leu Gln Leu Val Gly Val Thr Ala Met Phe
245 250 255

Ile Ala Ser Lys Tyr Glu Glu Met Tyr Pro Pro Glu Ile Gly Asp Phe
260 265 270

Ala Phe Val Thr Asp Asn Thr Tyr Thr Lys His Gln Ile Arg Gln Met
275 280 285

Glu Met Lys Ile Leu Arg Ala Leu Asn Phe Gly Leu Gly Arg Pro Leu
290 295 300

Pro Leu His Phe Leu Arg Arg Ala Ser Lys Ile Gly Glu Val Asp Val
305 310 315 320

Glu Gln His Thr Leu Ala Lys Tyr Leu Met Glu Leu Thr Met Leu Asp
325 330 335

Tyr Asp Met Val His Phe Pro Pro Ser Gln Ile Ala Ala Gly Ala Phe

340 345 350

Cys Leu Ala Leu Lys Ile Leu Asp Asn Gly Glu Trp Thr Pro Thr Leu
355 360 365

Gln His Tyr Leu Ser Tyr Thr Glu Glu Ser Leu Leu Pro Val Met Gln
370 375 380

His Leu Ala Lys Asn Val Val Met Val Asn Gln Gly Leu Thr Lys His
385 390 395 400

Met Thr Val Lys Asn Lys Tyr Ala Thr Ser Lys His Ala Lys Ile Ser
405 410 415

Thr Leu Pro Gln Leu Asn Ser Ala Leu Val Gln Asp Leu Ala Lys Ala
420 425 430

Val Ala Lys Val
435

[0150]

<210> 351
<211> 280
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV PresS2

<400> 351

Gln Trp Asn Ser Thr Thr Phe His Gln Thr Leu Gln Asp Pro Arg Val
1 5 10 15

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

Pro Val Pro Thr Thr Ala Ser Pro Leu Ser Ser Ile Phe Ser Arg Ile
35 40 45

Gly Asp Pro Ala Leu Asn Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly
50 55 60

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

Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu
85 90 95

Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser
100 105 110

Asn His Ser Pro Thr Ser Cys Pro Pro Thr Cys Pro Gly Tyr Arg Trp
115 120 125

Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys
130 135 140

Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val
145 150 155 160

Cys Pro Leu Ile Pro Gly Ser Ser Thr Thr Ser Thr Gly Pro Cys Arg
165 170 175

Thr Cys Met Thr Thr Ala Gln Gly Thr Ser Met Tyr Pro Ser Cys Cys
180 185 190

[0151] Cys Thr Lys Pro Ser Asp Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser
195 200 205

Ser Trp Ala Phe Gly Lys Phe Leu Trp Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe
210 215 220

Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu
225 230 235 240

Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Val Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly
245 250 255

Pro Ser Leu Tyr Ser Ile Leu Ser Pro Phe Leu Pro Leu Leu Pro Ile
260 265 270

Phe Phe Cys Leu Trp Val Tyr Ile
275 280

<210> 352
<211> 211
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV 预核心/核心

<400> 352

His Leu Phe His Leu Cys Leu Ile Ile Ser Cys Ser Cys Pro Thr Val
1 5 10 15

Gln Ala Ser Lys Leu Cys Leu Gly Trp Leu Trp Gly Met Asp Ile Asp
20 25 30

Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro
35 40 45

Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala
50 55 60

Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His His
65 70 75 80

Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu Met Thr Leu
[0152] 85 90 95

Ala Thr Trp Val Gly Val Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Asp Leu
100 105 110

Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys Phe Arg Gln Leu
115 120 125

Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Ile
130 135 140

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

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

Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg
180 185 190

Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu
195 200 205

Pro Gln Cys
210

<210> 353
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV 截短 X 基因产品

<400> 353

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

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

Leu Glu Thr Leu Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Val Pro Thr Asp His
35 40 45

[0153]

Gly Ala His Leu Ser Leu Arg Gly Leu Pro Ala Met Ser Thr Thr Asp
50 55 60

Leu Glu Ala Tyr Phe Lys Asp Cys Leu Phe Lys Asp Trp Glu Glu Leu
65 70 75 80

Gly Glu Glu Ile Arg Leu Lys Val Phe Val Leu Gly Gly Cys Arg His
85 90 95

Lys Leu Val Cys Ala Pro Ala Pro Cys Thr Phe Phe Thr Ser Ala
100 105 110

<210> 354
<211> 225
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV PreS、HA（包括流感 HA、preS 的信号肽和流感 HA 跨膜/胞质结构域的嵌合融合体）

<400> 354

Glu Ala Lys Leu Phe Val Leu Phe Cys Ala Phe Thr Ala Leu Lys Ala
1 5 10 15

Met Gly Thr Asn Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp
20 25 30

His Gln Leu Asp Pro Ala Phe Gly Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp
35 40 45

Asp Phe Asn Pro Ile Lys Asp His Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly
50 55 60

Val Gly Ala Phe Gly Pro Gly Leu Thr Pro Pro His Gly Gly Ile Leu
65 70 75 80

Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Ser Thr Ile
85 90 95

Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro Thr Pro
[0154] 100 105 110

Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn
115 120 125

Ser Thr Ala Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu
130 135 140

Tyr Leu Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn Pro Ala Pro
145 150 155 160

Asn Ile Ala Ser His Ile Ser Ser Ile Ser Ala Arg Thr Gly Asp Pro
165 170 175

Val Thr Asn Lys Leu Glu Ser Val Gly Val His Gln Ile Leu Ala Ile
180 185 190

Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala
195 200 205

Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys
210 215 220

Ile
225

<210> 355
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 疟原虫属 CSP

<400> 355

Ala Arg Pro Gly Met Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser
1 5 10 15

Phe Leu Phe Val Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser
20 25 30

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

[0155]

Thr Asn Leu Tyr Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu
50 55 60

Asn Trp Tyr Ser Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp
65 70 75 80

Asp Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys
85 90 95

Lys Leu Lys Gln Pro Ala Asp Gly Asn Pro Asp Pro Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Asn Lys Asn Asn Gln Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp
115 120 125

Pro Asn Arg Asn Val Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ser Ala Val Lys
130 135 140

Asn Asn Asn Asn Glu Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Lys Glu Tyr Leu
145 150 155 160

Asn Lys Ile Gln Asn Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val

165 170 175

Thr Cys Gly Asn Gly Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn
180 185 190

Lys Pro Lys Asp Glu Leu Asp Tyr Ala Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile
195 200 205

Cys Lys Met Glu Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser
210 215 220

<210> 356
<211> 319
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 疟原虫属 CSP CSP21R (21 重复)

<400> 356

[0156]

Pro Ile Pro Gly Met Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser
1 5 10 15

Phe Leu Phe Val Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser
20 25 30

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

Thr Asn Leu Tyr Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu
50 55 60

Asn Trp Tyr Ser Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp
65 70 75 80

Asp Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys
85 90 95

Lys Leu Lys Gln Pro Ala Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro
100 105 110

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro
115 120 125

Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
130 135 140

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
145 150 155 160

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
165 170 175

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro
180 185 190

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro
195 200 205

Asn Lys Asn Asn Gln Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp
210 215 220

Pro Asn Arg Asn Val Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ser Ala Val Lys
225 230 235 240

[0157] Asn Asn Asn Asn Glu Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Lys Glu Tyr Leu
245 250 255

Asn Lys Ile Gln Asn Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val
260 265 270

Thr Cys Gly Asn Gly Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn
275 280 285

Lys Pro Lys Asp Glu Leu Asp Tyr Ala Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile
290 295 300

Cys Lys Met Glu Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser
305 310 315

<210> 357
<211> 200
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 疟原虫属 Pfs230

<400> 357

Pro Gly Ala Thr Met Ser Val Leu Gln Ser Gly Ala Leu Pro Ser Val
1 5 10 15

Gly Val Asp Glu Leu Asp Lys Ile Asp Leu Ser Tyr Glu Thr Thr Glu
20 25 30

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

Asn Asn Thr Asn Lys Glu Tyr Val Cys Asp Phe Thr Asp Gln Leu Lys
50 55 60

Pro Thr Glu Ser Gly Pro Lys Val Lys Lys Cys Glu Val Lys Val Asn
65 70 75 80

Glu Pro Leu Ile Lys Val Lys Ile Ile Cys Pro Leu Lys Gly Ser Val
85 90 95

Glu Lys Leu Tyr Asp Asn Ile Glu Tyr Val Pro Lys Lys Ser Pro Tyr
[0158] 100 105 110

Val Val Leu Thr Lys Glu Glu Thr Lys Leu Lys Glu Lys Leu Leu Ser
115 120 125

Lys Leu Ile Tyr Gly Leu Leu Ile Ser Pro Thr Val Asn Glu Lys Glu
130 135 140

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

His Lys Ala Thr Val Phe Tyr Phe Ile Cys Asp Asn Ser Lys Thr Glu
165 170 175

Asp Asp Asn Lys Lys Gly Asn Arg Gly Ile Val Glu Val Tyr Val Glu
180 185 190

Pro Tyr Gly Asn Lys Ile Asn Gly
195 200

<210> 358
<211> 20

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人粘蛋白-I 胞外结构域片段

<400> 358

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Ala Pro Pro
20

<210> 359
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人粘蛋白-I 胞外结构域片段

[0159]

<400> 359

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Arg Pro Ala Leu Gly Ser
1 5 10 15

Thr Ala Pro Pro
20

<210> 360
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人粘蛋白-I 胞外结构域片段

<400> 360

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Arg Pro

20 25 30

Ala Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro
35 40

<210> 361
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人粘蛋白-I 胞外结构域片段

<400> 361

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro
20 25 30

[0160] Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro
35 40 45

Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val
50 55 60

Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro
65 70 75 80

Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Arg Pro Ala Leu Gly Ser
85 90 95

Thr Ala Pro Pro
100

<210> 362
<211> 69
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人粘蛋白-I 胞外结构域片段

<400> 362

Arg Arg Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile Phe Pro Ala Arg Asp Thr
1 5 10 15

Tyr His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr His Thr His Gly Arg Tyr
20 25 30

Val Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro Tyr Glu Lys Val Ser Ala
35 40 45

Gly Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Ala Val Ala Ala
50 55 60

Thr Ser Ala Asn Leu
65

<210> 363
<211> 476
<212> PRT
<213> 人工序列

[0161]

<220>
<223> 人粘蛋白-I 1 串联重复序列

<400> 363

Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Leu Thr Val
1 5 10 15

Leu Thr Val Val Thr Gly Ser Gly His Ala Ser Ser Thr Pro Gly Gly
20 25 30

Glu Lys Glu Thr Ser Ala Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Ser Ser Thr
35 40 45

Glu Lys Asn Ala Val Ser Met Thr Ser Ser Val Leu Ser Ser His Ser
50 55 60

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

Pro Ala Thr Glu Pro Ala Ser Gly Ser Ala Ala Thr Trp Gly Gln Asp
85 90 95

Val Thr Ser Val Pro Val Thr Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Thr Pro
100 105 110

Pro Ala His Asp Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Lys Pro Ala Pro Gly
115 120 125

Ser Thr Ala Pro Pro Ile Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
130 135 140

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

Ser Ala Pro Asp Asn Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro Val
165 170 175

His Asn Val Thr Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Thr
180 185 190

Leu Val His Asn Gly Thr Ser Ala Arg Ala Thr Thr Thr Pro Ala Ser
195 200 205

[0162] Lys Ser Thr Pro Phe Ser Ile Pro Ser His His Ser Asp Thr Pro Thr
210 215 220

Thr Leu Ala Ser His Ser Thr Lys Thr Asp Ala Ser Ser Thr His His
225 230 235 240

Ser Thr Val Pro Pro Leu Thr Ser Ser Asn His Ser Thr Ser Pro Gln
245 250 255

Leu Ser Thr Gly Val Ser Phe Phe Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn
260 265 270

Leu Gln Phe Asn Ser Ser Leu Glu Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln
275 280 285

Glu Leu Gln Arg Asp Ile Ser Glu Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln
290 295 300

Gly Gly Phe Leu Gly Leu Ser Asn Ile Lys Phe Arg Pro Gly Ser Val
305 310 315 320

Val Val Gln Leu Thr Leu Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ile Asn Val His

325 330 335

Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg
340 345 350

Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro
355 360 365

Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala Gly Val Pro Gly Trp Gly Ile Ala Leu
370 375 380

Leu Val Leu Val Cys Val Leu Val Ala Leu Ala Ile Val Tyr Leu Ile
385 390 395 400

Ala Leu Ala Val Cys Gln Cys Arg Arg Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp
405 410 415

Ile Phe Pro Ala Arg Asp Thr Tyr His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr
420 425 430

Tyr His Thr His Gly Arg Tyr Val Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser
435 440 445

[0163]

Pro Tyr Glu Lys Val Ser Ala Gly Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr
450 455 460

Thr Asn Pro Ala Val Ala Ala Thr Ser Ala Asn Leu
465 470 475

<210> 364
<211> 532
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人粘蛋白-I 4 串联重复序列

<400> 364

Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Leu Thr Val
1 5 10 15

Leu Thr Val Val Thr Gly Ser Gly His Ala Ser Ser Thr Pro Gly Gly
20 25 30

Glu Lys Glu Thr Ser Ala Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Ser Ser Thr
35 40 45

Glu Lys Asn Ala Val Ser Met Thr Ser Ser Val Leu Ser Ser His Ser
50 55 60

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

Pro Ala Thr Glu Pro Ala Ser Gly Ser Ala Ala Thr Trp Gly Gln Asp
85 90 95

Val Thr Ser Val Pro Val Thr Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Thr Pro
100 105 110

Pro Ala His Asp Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Lys Pro Ala Pro Gly
115 120 125

Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg
130 135 140

[0164] Pro Ala Pro Gly Ser Thr Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro
145 150 155 160

Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val
165 170 175

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

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

Thr Ala Pro Pro His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Arg Pro Ala
210 215 220

Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val Thr Ser Ala Ser Gly
225 230 235 240

Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Thr Leu Val His Asn Gly Thr Ser Ala
245 250 255

Arg Ala Thr Thr Thr Pro Ala Ser Lys Ser Thr Pro Phe Ser Ile Pro

260 265 270

Ser His His Ser Asp Thr Pro Thr Thr Leu Ala Ser His Ser Thr Lys
275 280 285

Thr Asp Ala Ser Ser Thr His His Ser Thr Val Pro Pro Leu Thr Ser
290 295 300

Ser Asn His Ser Thr Ser Pro Gln Leu Ser Thr Gly Val Ser Phe Phe
305 310 315 320

Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn Leu Gln Phe Asn Ser Ser Leu Glu
325 330 335

Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln Glu Leu Gln Arg Asp Ile Ser Glu
340 345 350

Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln Gly Gly Phe Leu Gly Leu Ser Asn
355 360 365

Ile Lys Phe Arg Pro Gly Ser Val Val Val Gln Leu Thr Leu Ala Phe
[0165] 370 375 380

Arg Glu Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln Phe Asn Gln
385 390 395 400

Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asp Val
405 410 415

Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser Gly Ala Gly
420 425 430

Val Pro Gly Trp Gly Ile Ala Leu Leu Val Leu Val Cys Val Leu Val
435 440 445

Ala Leu Ala Ile Val Tyr Leu Ile Ala Leu Ala Val Cys Gln Cys Arg
450 455 460

Arg Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile Phe Pro Ala Arg Asp Thr Tyr
465 470 475 480

His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr His Thr His Gly Arg Tyr Val
485 490 495

Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro Tyr Glu Lys Val Ser Ala Gly
500 505 510

Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Ala Val Ala Ala Thr
515 520 525

Ser Ala Asn Leu
530

<210> 365
<211> 490
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 拉沙病毒糖蛋白

<400> 365

[0166]

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

Val Met Asn Ile Val Leu Ile Ala Leu Ser Val Leu Ala Val Leu Lys
20 25 30

Gly Leu Tyr Asn Phe Ala Thr Cys Gly Leu Val Gly Leu Val Thr Phe
35 40 45

Leu Leu Leu Cys Gly Arg Ser Cys Thr Thr Ser Leu Tyr Lys Gly Val
50 55 60

Tyr Glu Leu Gln Thr Leu Glu Leu Asn Met Glu Thr Leu Asn Met Thr
65 70 75 80

Met Pro Leu Ser Cys Thr Lys Asn Asn Ser His His Tyr Ile Met Val
85 90 95

Gly Asn Glu Thr Gly Leu Glu Leu Thr Leu Thr Asn Thr Ser Ile Ile
100 105 110

Asn His Lys Phe Cys Asn Leu Ser Asp Ala His Lys Lys Asn Leu Tyr
115 120 125

Asp His Ala Leu Met Ser Ile Ile Ser Thr Phe His Leu Ser Ile Pro
130 135 140

Asn Phe Asn Gln Tyr Glu Ala Met Ser Cys Asp Phe Asn Gly Gly Lys
145 150 155 160

Ile Ser Val Gln Tyr Asn Leu Ser His Ser Tyr Ala Gly Asp Ala Ala
165 170 175

Asn His Cys Gly Thr Val Ala Asn Gly Val Leu Gln Thr Phe Met Arg
180 185 190

Met Ala Trp Gly Gly Ser Tyr Ile Ala Leu Asp Ser Gly Arg Gly Asn
195 200 205

Trp Asp Cys Ile Met Thr Ser Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Thr
210 215 220

Thr Trp Glu Asp His Cys Gln Phe Ser Arg Pro Ser Pro Ile Gly Tyr
225 230 235 240

[0167]

Leu Gly Leu Leu Ser Gln Arg Thr Arg Asp Ile Tyr Ile Ser Arg Arg
245 250 255

Leu Leu Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu Ser Asp Ser Glu Gly Lys Asp
260 265 270

Thr Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Arg Trp Met Leu Ile Glu Ala Glu
275 280 285

Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val Ala Lys Cys Asn Glu Lys His
290 295 300

Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg Leu Phe Asp Phe Asn Lys Gln
305 310 315 320

Ala Ile Gln Arg Leu Lys Ala Glu Ala Gln Met Ser Ile Gln Leu Ile
325 330 335

Asn Lys Ala Val Asn Ala Leu Ile Asn Asp Gln Leu Ile Met Lys Asn
340 345 350

His Leu Arg Asp Ile Met Gly Ile Pro Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Tyr
355 360 365

Trp Tyr Leu Asn His Thr Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu Pro Lys Cys
370 375 380

Trp Leu Val Ser Asn Gly Ser Tyr Leu Asn Glu Thr His Phe Ser Asp
385 390 395 400

Asp Ile Glu Gln Gln Ala Asp Asn Met Ile Thr Glu Met Leu Gln Lys
405 410 415

Glu Tyr Met Glu Arg Gln Gly Lys Thr Pro Leu Gly Leu Val Asp Leu
420 425 430

Phe Val Phe Ser Thr Ser Phe Tyr Leu Ile Ser Ile Phe Leu His Leu
435 440 445

Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile Val Gly Lys Ser Cys Pro Lys
450 455 460

Pro His Arg Leu Asn His Met Gly Ile Cys Ser Cys Gly Leu Tyr Lys
465 470 475 480

[0168]

Gln Pro Gly Val Pro Val Lys Trp Lys Arg
485 490

<210> 366
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 拉沙病毒 Z 蛋白

<400> 366

Gly Asn Lys Gln Ala Lys Ala Pro Glu Ser Lys Asp Ser Pro Arg Ala
1 5 10 15

Ser Leu Ile Pro Asp Ala Thr His Leu Gly Pro Gln Phe Cys Lys Ser
20 25 30

Cys Trp Phe Glu Asn Lys Gly Leu Val Glu Cys Asn Asn His Tyr Leu
35 40 45

Cys Leu Asn Cys Leu Thr Leu Leu Leu Ser Val Ser Asn Arg Cys Pro
50 55 60

Ile Cys Lys Met Pro Leu Pro Thr Lys Leu Arg Pro Ser Ala Ala Pro
65 70 75 80

Thr Ala Pro Pro Thr Gly Ala Ala Asp Ser Ile Arg Pro Pro Pro Tyr
85 90 95

Ser Pro

<210> 367
<211> 675
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 埃博拉病毒糖蛋白

<400> 367

[0169]

Gly Val Thr Gly Ile Leu Gln Leu Pro Arg Asp Arg Phe Lys Arg Thr
1 5 10 15

Ser Phe Phe Leu Trp Val Ile Ile Leu Phe Gln Arg Thr Phe Ser Ile
20 25 30

Pro Leu Gly Val Ile His Asn Ser Thr Leu Gln Val Ser Asp Val Asp
35 40 45

Lys Leu Val Cys Arg Asp Lys Leu Ser Ser Thr Asn Gln Leu Arg Ser
50 55 60

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

Val Thr Lys Arg Trp Gly Phe Arg Ser Gly Val Pro Pro Lys Val Val
85 90 95

Asn Tyr Glu Ala Gly Glu Trp Ala Glu Asn Cys Tyr Asn Leu Glu Ile
100 105 110

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

115 120 125

Arg Gly Phe Pro Arg Cys Arg Tyr Val His Lys Val Ser Gly Thr Gly
130 135 140

Pro Cys Ala Gly Asp Phe Ala Phe His Lys Glu Gly Ala Phe Phe Leu
145 150 155 160

Tyr Asp Arg Leu Ala Ser Thr Val Ile Tyr Arg Gly Thr Thr Phe Ala
165 170 175

Glu Gly Val Val Ala Phe Leu Ile Leu Pro Gln Ala Lys Lys Asp Phe
180 185 190

Phe Ser Ser His Pro Leu Arg Glu Pro Val Asn Ala Thr Glu Asp Pro
195 200 205

Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Thr Thr Ile Arg Tyr Gln Ala Thr Gly Phe
210 215 220

Gly Thr Asn Glu Thr Glu Tyr Leu Phe Glu Val Asp Asn Leu Thr Tyr
[0170] 225 230 235 240

Val Gln Leu Glu Ser Arg Phe Thr Pro Gln Phe Leu Leu Gln Leu Asn
245 250 255

Glu Thr Ile Tyr Ala Ser Gly Lys Arg Ser Asn Thr Thr Gly Lys Leu
260 265 270

Ile Trp Lys Val Asn Pro Glu Ile Asp Thr Thr Ile Gly Glu Trp Ala
275 280 285

Phe Trp Glu Thr Lys Lys Asn Leu Thr Arg Lys Ile Arg Ser Glu Glu
290 295 300

Leu Ser Phe Thr Ala Val Ser Asn Gly Pro Lys Asn Ile Ser Gly Gln
305 310 315 320

Ser Pro Ala Arg Thr Ser Ser Asp Pro Glu Thr Asn Thr Thr Asn Glu
325 330 335

Asp His Lys Ile Met Ala Ser Glu Asn Ser Ser Ala Met Val Gln Val
340 345 350

His Ser Gln Gly Arg Lys Ala Ala Val Ser His Leu Thr Thr Leu Ala
355 360 365

Thr Ile Ser Thr Ser Pro Gln Pro Pro Thr Thr Lys Thr Gly Pro Asp
370 375 380

Asn Ser Thr His Asn Thr Pro Val Tyr Lys Leu Asp Ile Ser Glu Ala
385 390 395 400

Thr Gln Val Gly Gln His His Arg Arg Ala Asp Asn Asp Ser Thr Ala
405 410 415

Ser Asp Thr Pro Pro Ala Thr Thr Ala Ala Gly Pro Leu Lys Ala Glu
420 425 430

Asn Thr Asn Thr Ser Lys Ser Ala Asp Ser Leu Asp Leu Ala Thr Thr
435 440 445

Thr Ser Pro Gln Asn Tyr Ser Glu Thr Ala Gly Asn Asn Asn Thr His
450 455 460

[0171]

His Gln Asp Thr Gly Glu Glu Ser Ala Ser Ser Gly Lys Leu Gly Leu
465 470 475 480

Ile Thr Asn Thr Ile Ala Gly Val Ala Gly Leu Ile Thr Gly Gly Arg
485 490 495

Arg Thr Arg Arg Glu Val Ile Val Asn Ala Gln Pro Lys Cys Asn Pro
500 505 510

Asn Leu His Tyr Trp Thr Thr Gln Asp Glu Gly Ala Ala Ile Gly Leu
515 520 525

Ala Trp Ile Pro Tyr Phe Gly Pro Ala Ala Glu Gly Ile Tyr Thr Glu
530 535 540

Gly Leu Met His Asn Gln Asp Gly Leu Ile Cys Gly Leu Arg Gln Leu
545 550 555 560

Ala Asn Glu Thr Thr Gln Ala Leu Gln Leu Phe Leu Arg Ala Thr Thr
565 570 575

Glu Leu Arg Thr Phe Ser Ile Leu Asn Arg Lys Ala Ile Asp Phe Leu
580 585 590

Leu Gln Arg Trp Gly Gly Thr Cys His Ile Leu Gly Pro Asp Cys Cys
595 600 605

Ile Glu Pro His Asp Trp Thr Lys Asn Ile Thr Asp Lys Ile Asp Gln
610 615 620

Ile Ile His Asp Phe Val Asp Lys Thr Leu Pro Asp Gln Gly Asp Asn
625 630 635 640

Asp Asn Trp Trp Thr Gly Trp Arg Gln Trp Ile Pro Ala Gly Ile Gly
645 650 655

Val Thr Gly Val Ile Ile Ala Val Ile Ala Leu Phe Cys Ile Cys Lys
660 665 670

Phe Val Phe
675

[0172]

<210> 368
<211> 325
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 埃博拉病毒 VP40 蛋白

<400> 368

Arg Arg Val Ile Leu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Tyr Met Glu Ala Ile
1 5 10 15

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

Thr Gly Phe Leu Thr Pro Glu Ser Val Asn Gly Asp Thr Pro Ser Asn
35 40 45

Pro Leu Arg Pro Ile Ala Asp Asp Thr Ile Asp His Ala Ser His Thr
50 55 60

Pro Gly Ser Val Ser Ser Ala Phe Ile Leu Glu Ala Met Val Asn Val
65 70 75 80

Ile Ser Gly Pro Lys Val Leu Met Lys Gln Ile Pro Ile Trp Leu Pro
85 90 95

Leu Gly Val Ala Asp Gln Lys Thr Tyr Ser Phe Asp Ser Thr Thr Ala
100 105 110

Ala Ile Met Leu Ala Ser Tyr Thr Ile Thr His Phe Gly Lys Ala Thr
115 120 125

Asn Pro Leu Val Arg Val Asn Arg Leu Gly Pro Gly Ile Pro Asp His
130 135 140

Pro Leu Arg Leu Leu Arg Ile Gly Asn Gln Ala Phe Leu Gln Glu Phe
145 150 155 160

Val Leu Pro Pro Val Gln Leu Pro Gln Tyr Phe Thr Phe Asp Leu Thr
165 170 175

Ala Leu Lys Leu Ile Thr Gln Pro Leu Pro Ala Ala Thr Trp Thr Asp
180 185 190

[0173]

Asp Thr Pro Thr Gly Ser Asn Gly Ala Leu Arg Pro Gly Ile Ser Phe
195 200 205

His Pro Lys Leu Arg Pro Ile Leu Leu Pro Asn Lys Ser Gly Lys Lys
210 215 220

Gly Asn Ser Ala Asp Leu Thr Ser Pro Glu Lys Ile Gln Ala Ile Met
225 230 235 240

Thr Ser Leu Gln Asp Phe Lys Ile Val Pro Ile Asp Pro Thr Lys Asn
245 250 255

Ile Met Gly Ile Glu Val Pro Glu Thr Leu Val His Lys Leu Thr Gly
260 265 270

Lys Lys Val Thr Ser Lys Asn Gly Gln Pro Ile Ile Pro Val Leu Leu
275 280 285

Pro Lys Tyr Ile Gly Leu Asp Pro Val Ala Pro Gly Asp Leu Thr Met
290 295 300

Val Ile Thr Gln Asp Cys Asp Thr Cys His Ser Pro Ala Ser Leu Pro

305 310 315 320

Ala Val Val Glu Lys
325

<210> 369
<211> 3422
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - 来自基因银行(ALX35659)的寨卡病毒的天然多蛋白序列

<400> 369

Lys Asn Pro Lys Lys Lys Ser Gly Gly Phe Arg Ile Val Asn Met Leu
1 5 10 15

Lys Arg Gly Val Ala Arg Val Ser Pro Phe Gly Gly Leu Lys Arg Leu
20 25 30

[0174]

Pro Ala Gly Leu Leu Leu Gly His Gly Pro Ile Arg Met Val Leu Ala
35 40 45

Ile Leu Ala Phe Leu Arg Phe Thr Ala Ile Lys Pro Ser Leu Gly Leu
50 55 60

Ile Asn Arg Trp Gly Ser Val Gly Lys Lys Glu Ala Met Glu Ile Ile
65 70 75 80

Lys Lys Phe Lys Lys Asp Leu Ala Ala Met Leu Arg Ile Ile Asn Ala
85 90 95

Arg Lys Glu Lys Lys Arg Arg Gly Ala Asp Thr Ser Val Gly Ile Val
100 105 110

Gly Leu Leu Leu Thr Thr Ala Met Ala Ala Glu Val Thr Arg Arg Gly
115 120 125

Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala Gly Glu Ala Ile
130 135 140

Ser Phe Pro Thr Thr Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr Ile Gln Ile Met
145 150 155 160

Asp Leu Gly His Thr Cys Asp Ala Thr Met Ser Tyr Glu Cys Pro Met
165 170 175

Leu Asp Glu Gly Val Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys Trp Cys Asn Thr
180 185 190

Thr Ser Thr Trp Val Val Tyr Gly Thr Cys His His Lys Lys Gly Glu
195 200 205

Ala Arg Arg Ser Arg Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser His Ser Thr Arg
210 215 220

Lys Leu Gln Thr Arg Ser Gln Thr Trp Leu Glu Ser Arg Glu Tyr Thr
225 230 235 240

Lys His Leu Ile Arg Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg Asn Pro Gly Phe
245 250 255

Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly Ser Ser Thr Ser
260 265 270

[0175] Gln Lys Val Ile Tyr Leu Val Met Ile Leu Leu Ile Ala Pro Ala Tyr
275 280 285

Ser Ile Arg Cys Ile Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Met
290 295 300

Ser Gly Gly Thr Trp Val Asp Val Val Leu Glu His Gly Gly Cys Val
305 310 315 320

Thr Val Met Ala Gln Asp Lys Pro Thr Val Asp Ile Glu Leu Val Thr
325 330 335

Thr Thr Val Ser Asn Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr Cys Tyr Glu Ala
340 345 350

Ser Ile Ser Asp Met Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu
355 360 365

Ala Tyr Leu Asp Lys Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val Cys Lys Arg Thr
370 375 380

Leu Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly

385 390 395 400

Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys Lys Met Thr Gly
405 410 415

Lys Ser Ile Gln Pro Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile Met Leu Ser Val
420 425 430

His Gly Ser Gln His Ser Gly Met Ile Val Asn Asp Thr Gly His Glu
435 440 445

Thr Asp Glu Asn Arg Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro Asn Ser Pro Arg
450 455 460

Ala Glu Ala Thr Leu Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly Leu Asp Cys Glu
465 470 475 480

Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Ser Asp Leu Tyr Tyr Leu Thr Met Asn
485 490 495

Asn Lys His Trp Leu Val His Lys Glu Trp Phe His Asp Ile Pro Leu
[0176] 500 505 510

Pro Trp His Ala Gly Ala Asp Thr Gly Thr Pro His Trp Asn Asn Lys
515 520 525

Glu Ala Leu Val Glu Phe Lys Asp Ala His Ala Lys Arg Gln Thr Val
530 535 540

Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Val His Thr Ala Leu Ala Gly
545 550 555 560

Ala Leu Glu Ala Glu Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg Leu Ser Ser Gly
565 570 575

His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg Leu Lys Gly Val
580 585 590

Ser Tyr Ser Leu Cys Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr Lys Ile Pro Ala
595 600 605

Glu Thr Leu His Gly Thr Val Thr Val Glu Val Gln Tyr Ala Gly Thr
610 615 620

Asp Gly Pro Cys Lys Val Pro Ala Gln Met Ala Val Asp Met Gln Thr
625 630 635 640

Leu Thr Pro Val Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Ile Thr Glu
645 650 655

Ser Thr Glu Asn Ser Lys Met Met Leu Glu Leu Asp Pro Pro Phe Gly
660 665 670

Asp Ser Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys Ile Thr His His
675 680 685

Trp His Arg Ser Gly Ser Thr Ile Gly Lys Ala Phe Glu Ala Thr Val
690 695 700

Arg Gly Ala Lys Arg Met Ala Val Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe
705 710 715 720

Gly Ser Val Gly Gly Ala Leu Asn Ser Leu Gly Lys Gly Ile His Gln
725 730 735

[0177]

Ile Phe Gly Ala Ala Phe Lys Ser Leu Phe Gly Gly Met Ser Trp Phe
740 745 750

Ser Gln Ile Leu Ile Gly Thr Leu Leu Met Trp Leu Gly Leu Asn Ala
755 760 765

Lys Asn Gly Ser Ile Ser Leu Met Cys Leu Ala Leu Gly Gly Val Leu
770 775 780

Ile Phe Leu Ser Thr Ala Val Ser Ala Asp Val Gly Cys Ser Val Asp
785 790 795 800

Phe Ser Lys Lys Glu Thr Arg Cys Gly Thr Gly Val Phe Val Tyr Asn
805 810 815

Asp Val Glu Ala Trp Arg Asp Arg Tyr Lys Tyr His Pro Asp Ser Pro
820 825 830

Arg Arg Leu Ala Ala Ala Val Lys Gln Ala Trp Glu Asp Gly Ile Cys
835 840 845

Gly Ile Ser Ser Val Ser Arg Met Glu Asn Ile Met Trp Arg Ser Val
850 855 860

```
Glu Gly Glu Leu Asn Ala Ile Leu Glu Glu Asn Gly Val Gln Leu Thr
865                 870                 875                 880

Val Val Val Gly Ser Val Lys Asn Pro Met Trp Arg Gly Pro Gln Arg
                885                 890                 895

Leu Pro Val Pro Val Asn Glu Leu Pro His Gly Trp Lys Ala Trp Gly
            900                 905                 910

Lys Ser Tyr Phe Val Arg Ala Ala Lys Thr Asn Asn Ser Phe Val Val
        915                 920                 925

Asp Gly Asp Thr Leu Lys Glu Cys Pro Leu Lys His Arg Ala Trp Asn
    930                 935                 940

Ser Phe Leu Val Glu Asp His Gly Phe Gly Val Phe His Thr Ser Val
945                 950                 955                 960

Trp Leu Lys Val Arg Glu Asp Tyr Ser Leu Glu Cys Asp Pro Ala Val
                965                 970                 975
```

[0178]

```
Ile Gly Thr Ala Val Lys Gly Lys Glu Ala Val His Ser Asp Leu Gly
            980                 985                 990

Tyr Trp Ile Glu Ser Glu Lys Asn  Asp Thr Trp Arg Leu  Lys Arg Ala
        995                 1000                1005

His Leu  Ile Glu Met Lys Thr  Cys Glu Trp Pro Lys  Ser His Thr
    1010                1015                1020

Leu Trp  Thr Asp Gly Ile Glu  Glu Ser Asp Leu Ile  Ile Pro Lys
    1025                1030                1035

Ser Leu  Ala Gly Pro Leu Ser  His His Asn Thr Arg  Glu Gly Tyr
    1040                1045                1050

Arg Thr  Gln Met Lys Gly Pro  Trp His Ser Glu Glu  Leu Glu Ile
    1055                1060                1065

Arg Phe  Glu Glu Cys Pro Gly  Thr Lys Val His Val  Glu Glu Thr
    1070                1075                1080

Cys Gly  Thr Arg Gly Pro Ser  Leu Arg Ser Thr Thr  Ala Ser Gly
```

1085 1090 1095

Arg Val Ile Glu Glu Trp Cys Cys Arg Glu Cys Thr Met Pro Pro
1100 1105 1110

Leu Ser Phe Arg Ala Lys Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile
1115 1120 1125

Arg Pro Arg Lys Glu Pro Glu Ser Asn Leu Val Arg Ser Met Val
1130 1135 1140

Thr Ala Gly Ser Thr Asp His Met Asp His Phe Ser Leu Gly Val
1145 1150 1155

Leu Val Ile Leu Leu Met Val Gln Glu Gly Leu Lys Lys Arg Met
1160 1165 1170

Thr Thr Lys Ile Ile Ile Ser Thr Ser Met Ala Val Leu Val Ala
1175 1180 1185

Met Ile Leu Gly Gly Phe Ser Met Ser Asp Leu Ala Lys Leu Ala
[0179] 1190 1195 1200

Ile Leu Met Gly Ala Thr Phe Ala Glu Met Asn Thr Gly Gly Asp
1205 1210 1215

Val Ala His Leu Ala Leu Ile Ala Ala Phe Lys Val Arg Pro Ala
1220 1225 1230

Leu Leu Val Ser Phe Ile Phe Arg Ala Asn Trp Thr Pro Arg Glu
1235 1240 1245

Ser Met Leu Leu Ala Leu Ala Ser Cys Leu Leu Gln Thr Ala Ile
1250 1255 1260

Ser Ala Leu Glu Gly Asp Leu Met Val Leu Ile Asn Gly Phe Ala
1265 1270 1275

Leu Ala Trp Leu Ala Ile Arg Ala Met Val Val Pro Arg Thr Asp
1280 1285 1290

Asn Ile Thr Leu Ala Ile Leu Ala Ala Leu Thr Pro Leu Ala Arg
1295 1300 1305

Gly Thr Leu Leu Val Ala Trp Arg Ala Gly Leu Ala Thr Cys Gly
1310 1315 1320

Gly Phe Met Leu Leu Ser Leu Lys Gly Lys Gly Ser Val Lys Lys
1325 1330 1335

Asn Leu Pro Phe Val Met Ala Leu Gly Leu Thr Ala Val Arg Leu
1340 1345 1350

Val Asp Pro Ile Asn Val Val Gly Leu Leu Leu Leu Thr Arg Ser
1355 1360 1365

Gly Lys Arg Ser Trp Pro Pro Ser Glu Val Leu Thr Ala Val Gly
1370 1375 1380

Leu Ile Cys Ala Leu Ala Gly Gly Phe Ala Lys Ala Asp Ile Glu
1385 1390 1395

Met Ala Gly Pro Met Ala Ala Val Gly Leu Leu Ile Val Ser Tyr
1400 1405 1410

[0180]

Val Val Ser Gly Lys Ser Val Asp Met Tyr Ile Glu Arg Ala Gly
1415 1420 1425

Asp Ile Thr Trp Glu Lys Asp Ala Glu Val Thr Gly Asn Ser Pro
1430 1435 1440

Arg Leu Asp Val Ala Leu Asp Glu Ser Gly Asp Phe Ser Leu Val
1445 1450 1455

Glu Asp Asp Gly Pro Pro Met Arg Glu Ile Ile Leu Lys Val Val
1460 1465 1470

Leu Met Thr Ile Cys Gly Met Asn Pro Ile Ala Ile Pro Phe Ala
1475 1480 1485

Ala Gly Ala Trp Tyr Val Tyr Val Lys Thr Gly Lys Arg Ser Gly
1490 1495 1500

Ala Leu Trp Asp Val Pro Ala Pro Lys Glu Val Lys Lys Gly Glu
1505 1510 1515

Thr Thr Asp Gly Val Tyr Arg Val Met Thr Arg Arg Leu Leu Gly
1520 1525 1530

Ser Thr Gln Val Gly Val Gly Val Met Gln Glu Gly Val Phe His
1535 1540 1545

Thr Met Trp His Val Thr Lys Gly Ser Ala Leu Arg Ser Gly Glu
1550 1555 1560

Gly Arg Leu Asp Pro Tyr Trp Gly Asp Val Lys Gln Asp Leu Val
1565 1570 1575

Ser Tyr Cys Gly Pro Trp Lys Leu Asp Ala Ala Trp Asp Gly His
1580 1585 1590

Ser Glu Val Gln Leu Leu Ala Val Pro Pro Gly Glu Arg Ala Arg
1595 1600 1605

Asn Ile Gln Thr Leu Pro Gly Ile Phe Lys Thr Lys Asp Gly Asp
1610 1615 1620

Ile Gly Ala Val Ala Leu Asp Tyr Pro Ala Gly Thr Ser Gly Ser
1625 1630 1635

[0181] Pro Ile Leu Asp Lys Cys Gly Arg Val Ile Gly Leu Tyr Gly Asn
1640 1645 1650

Gly Val Val Ile Lys Asn Gly Ser Tyr Val Ser Ala Ile Thr Gln
1655 1660 1665

Gly Arg Arg Glu Glu Glu Thr Pro Val Glu Cys Phe Glu Pro Ser
1670 1675 1680

Met Leu Lys Lys Lys Gln Leu Thr Val Leu Asp Leu His Pro Gly
1685 1690 1695

Ala Gly Lys Thr Arg Arg Val Leu Pro Glu Ile Val Arg Glu Ala
1700 1705 1710

Ile Lys Thr Arg Leu Arg Thr Val Ile Leu Ala Pro Thr Arg Val
1715 1720 1725

Val Ala Ala Glu Met Glu Glu Ala Leu Arg Gly Leu Pro Val Arg
1730 1735 1740

Tyr Met Thr Thr Ala Val Asn Val Thr His Ser Gly Thr Glu Ile

1745 1750 1755

Val Asp Leu Met Cys His Ala Thr Phe Thr Ser Arg Leu Leu Gln
1760 1765 1770

Pro Ile Arg Val Pro Asn Tyr Asn Leu Tyr Ile Met Asp Glu Ala
1775 1780 1785

His Phe Thr Asp Pro Ser Ser Ile Ala Ala Arg Gly Tyr Ile Ser
1790 1795 1800

Thr Arg Val Glu Met Gly Glu Ala Ala Ala Ile Phe Met Thr Ala
1805 1810 1815

Thr Pro Pro Gly Thr Arg Asp Ala Phe Pro Asp Ser Asn Ser Pro
1820 1825 1830

Ile Met Asp Thr Glu Val Glu Val Pro Glu Arg Ala Trp Ser Ser
1835 1840 1845

Gly Phe Asp Trp Val Thr Asp His Ser Gly Lys Thr Val Trp Phe
[0182] 1850 1855 1860

Val Pro Ser Val Arg Asn Gly Asn Glu Ile Ala Ala Cys Leu Thr
1865 1870 1875

Lys Ala Gly Lys Arg Val Ile Gln Leu Ser Arg Lys Thr Phe Glu
1880 1885 1890

Thr Glu Phe Gln Lys Thr Lys His Gln Glu Trp Asp Phe Val Val
1895 1900 1905

Thr Thr Asp Ile Ser Glu Met Gly Ala Asn Phe Lys Ala Asp Arg
1910 1915 1920

Val Ile Asp Ser Arg Arg Cys Leu Lys Pro Val Ile Leu Asp Gly
1925 1930 1935

Glu Arg Val Ile Leu Ala Gly Pro Met Pro Val Thr His Ala Ser
1940 1945 1950

Ala Ala Gln Arg Arg Gly Arg Ile Gly Arg Asn Pro Asn Lys Pro
1955 1960 1965

Gly Asp Glu Tyr Leu Tyr Gly Gly Gly Cys Ala Glu Thr Asp Glu
1970 1975 1980

Asp His Ala His Trp Leu Glu Ala Arg Met Leu Leu Asp Asn Ile
1985 1990 1995

Tyr Leu Gln Asp Gly Leu Ile Ala Ser Leu Tyr Arg Pro Glu Ala
2000 2005 2010

Asp Lys Val Ala Ala Ile Glu Gly Glu Phe Lys Leu Arg Thr Glu
2015 2020 2025

Gln Arg Lys Thr Phe Val Glu Leu Met Lys Arg Gly Asp Leu Pro
2030 2035 2040

Val Trp Leu Ala Tyr Gln Val Ala Ser Ala Gly Ile Thr Tyr Thr
2045 2050 2055

Asp Arg Arg Trp Cys Phe Asp Gly Thr Thr Asn Asn Thr Ile Met
2060 2065 2070

[0183]

Glu Asp Ser Val Pro Ala Glu Val Trp Thr Arg His Gly Glu Lys
2075 2080 2085

Arg Val Leu Lys Pro Arg Trp Met Asp Ala Arg Val Cys Ser Asp
2090 2095 2100

His Ala Ala Leu Lys Ser Phe Lys Glu Phe Ala Ala Gly Lys Arg
2105 2110 2115

Gly Ala Ala Phe Gly Val Met Glu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Gly
2120 2125 2130

His Met Thr Glu Arg Phe Gln Glu Ala Ile Asp Asn Leu Ala Val
2135 2140 2145

Leu Met Arg Ala Glu Thr Gly Ser Arg Pro Tyr Lys Ala Ala Ala
2150 2155 2160

Ala Gln Leu Pro Glu Thr Leu Glu Thr Ile Met Leu Leu Gly Leu
2165 2170 2175

Leu Gly Thr Val Ser Leu Gly Ile Phe Phe Val Leu Met Arg Asn
2180 2185 2190

Lys Gly Ile Gly Lys Met Gly Phe Gly Met Val Thr Leu Gly Ala
2195 2200 2205

Ser Ala Trp Leu Met Trp Leu Ser Glu Ile Glu Pro Ala Arg Ile
2210 2215 2220

Ala Cys Val Leu Ile Val Val Phe Leu Leu Leu Val Val Leu Ile
2225 2230 2235

Pro Glu Pro Glu Lys Gln Arg Ser Pro Gln Asp Asn Gln Met Ala
2240 2245 2250

Ile Ile Ile Met Val Ala Val Gly Leu Leu Gly Leu Ile Thr Ala
2255 2260 2265

Asn Glu Leu Gly Trp Leu Glu Arg Thr Lys Ser Asp Leu Ser His
2270 2275 2280

Leu Met Gly Arg Arg Glu Glu Gly Ala Thr Ile Gly Phe Ser Met
2285 2290 2295

[0184] Asp Ile Asp Leu Arg Pro Ala Ser Ala Trp Ala Ile Tyr Ala Ala
2300 2305 2310

Leu Thr Thr Phe Ile Thr Pro Ala Val Gln His Ala Val Thr Thr
2315 2320 2325

Ser Tyr Asn Asn Tyr Ser Leu Met Ala Met Ala Thr Gln Ala Gly
2330 2335 2340

Val Leu Phe Gly Met Gly Lys Gly Met Pro Phe Tyr Ala Trp Asp
2345 2350 2355

Phe Gly Val Pro Leu Leu Met Ile Gly Cys Tyr Ser Gln Leu Thr
2360 2365 2370

Pro Leu Thr Leu Ile Val Ala Ile Ile Leu Leu Val Ala His Tyr
2375 2380 2385

Met Tyr Leu Ile Pro Gly Leu Gln Ala Ala Ala Ala Arg Ala Ala
2390 2395 2400

Gln Lys Arg Thr Ala Ala Gly Ile Met Lys Asn Pro Val Val Asp

2405 2410 2415

Gly Ile Val Val Thr Asp Ile Asp Thr Met Thr Ile Asp Pro Gln
2420 2425 2430

Val Glu Lys Lys Met Gly Gln Val Leu Leu Ile Ala Val Ala Val
2435 2440 2445

Ser Ser Ala Ile Leu Ser Arg Thr Ala Trp Gly Trp Gly Glu Ala
2450 2455 2460

Gly Ala Leu Ile Thr Ala Ala Thr Ser Thr Leu Trp Glu Gly Ser
2465 2470 2475

Pro Asn Lys Tyr Trp Asn Ser Ser Thr Ala Thr Ser Leu Cys Asn
2480 2485 2490

Ile Phe Arg Gly Ser Tyr Leu Ala Gly Ala Ser Leu Ile Tyr Thr
2495 2500 2505

Val Thr Arg Asn Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Gly Gly Gly Thr
[0185] 2510 2515 2520

Gly Glu Thr Leu Gly Glu Lys Trp Lys Ala Arg Leu Asn Gln Met
2525 2530 2535

Ser Ala Leu Glu Phe Tyr Ser Tyr Lys Lys Ser Gly Ile Thr Glu
2540 2545 2550

Val Cys Arg Glu Glu Ala Arg Arg Ala Leu Lys Asp Gly Val Ala
2555 2560 2565

Thr Gly Gly His Ala Val Ser Arg Gly Ser Ala Lys Leu Arg Trp
2570 2575 2580

Leu Val Glu Arg Gly Tyr Leu Gln Pro Tyr Gly Lys Val Ile Asp
2585 2590 2595

Leu Gly Cys Gly Arg Gly Gly Trp Ser Tyr Tyr Ala Ala Thr Ile
2600 2605 2610

Arg Lys Val Gln Glu Val Lys Gly Tyr Thr Lys Gly Gly Pro Gly
2615 2620 2625

His Glu Glu Pro Val Leu Val Gln Ser Tyr Gly Trp Asn Ile Val
2630 2635 2640

Arg Leu Lys Ser Gly Val Asp Val Phe His Met Ala Ala Glu Pro
2645 2650 2655

Cys Asp Thr Leu Leu Cys Asp Ile Gly Glu Ser Ser Ser Ser Pro
2660 2665 2670

Glu Val Glu Glu Ala Arg Thr Leu Arg Val Leu Ser Met Val Gly
2675 2680 2685

Asp Trp Leu Glu Lys Arg Pro Gly Ala Phe Cys Ile Lys Val Leu
2690 2695 2700

Cys Pro Tyr Thr Ser Thr Met Met Glu Thr Leu Glu Arg Leu Gln
2705 2710 2715

Arg Arg Tyr Gly Gly Gly Leu Val Arg Val Pro Leu Ser Arg Asn
2720 2725 2730

[0186]

Ser Thr His Glu Met Tyr Trp Val Ser Gly Ala Lys Ser Asn Thr
2735 2740 2745

Ile Lys Ser Val Ser Thr Thr Ser Gln Leu Leu Leu Gly Arg Met
2750 2755 2760

Asp Gly Pro Arg Arg Pro Val Lys Tyr Glu Glu Asp Val Asn Leu
2765 2770 2775

Gly Ser Gly Thr Arg Ala Val Val Ser Cys Ala Glu Ala Pro Asn
2780 2785 2790

Met Lys Ile Ile Gly Asn Arg Ile Glu Arg Ile Arg Ser Glu His
2795 2800 2805

Ala Glu Thr Trp Phe Phe Asp Glu Asn His Pro Tyr Arg Thr Trp
2810 2815 2820

Ala Tyr His Gly Ser Tyr Glu Ala Pro Thr Gln Gly Ser Ala Ser
2825 2830 2835

Ser Leu Ile Asn Gly Val Val Arg Leu Leu Ser Lys Pro Trp Asp
2840 2845 2850

Val Val Thr Gly Val Thr Gly Ile Ala Met Thr Asp Thr Thr Pro
2855 2860 2865

Tyr Gly Gln Gln Arg Val Phe Lys Glu Lys Val Asp Thr Arg Val
2870 2875 2880

Pro Asp Pro Gln Glu Gly Thr Arg Gln Val Met Ser Met Val Ser
2885 2890 2895

Ser Trp Leu Trp Lys Glu Leu Gly Lys His Lys Arg Pro Arg Val
2900 2905 2910

Cys Thr Lys Glu Glu Phe Ile Asn Lys Val Arg Ser Asn Ala Ala
2915 2920 2925

Leu Gly Ala Ile Phe Glu Glu Glu Lys Glu Trp Lys Thr Ala Val
2930 2935 2940

Glu Ala Val Asn Asp Pro Arg Phe Trp Ala Leu Val Asp Lys Glu
2945 2950 2955

[0187] Arg Glu His His Leu Arg Gly Glu Cys Gln Ser Cys Val Tyr Asn
2960 2965 2970

Met Met Gly Lys Arg Glu Lys Lys Gln Gly Glu Phe Gly Lys Ala
2975 2980 2985

Lys Gly Ser Arg Ala Ile Trp Tyr Met Trp Leu Gly Ala Arg Phe
2990 2995 3000

Leu Glu Phe Glu Ala Leu Gly Phe Leu Asn Glu Asp His Trp Met
3005 3010 3015

Gly Arg Glu Asn Ser Gly Gly Gly Val Glu Gly Leu Gly Leu Gln
3020 3025 3030

Arg Leu Gly Tyr Val Leu Glu Glu Met Ser Arg Ile Pro Gly Gly
3035 3040 3045

Arg Met Tyr Ala Asp Asp Thr Ala Gly Trp Asp Thr Arg Ile Ser
3050 3055 3060

Arg Phe Asp Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Thr Asn Gln Met Glu

3065 3070 3075

Lys Gly His Arg Ala Leu Ala Leu Ala Ile Ile Lys Tyr Thr Tyr
3080 3085 3090

Gln Asn Lys Val Val Lys Val Leu Arg Pro Ala Glu Lys Gly Lys
3095 3100 3105

Thr Val Met Asp Ile Ile Ser Arg Gln Asp Gln Arg Gly Ser Gly
3110 3115 3120

Gln Val Val Thr Tyr Ala Leu Asn Thr Phe Thr Asn Leu Val Val
3125 3130 3135

Gln Leu Ile Arg Asn Met Glu Ala Glu Glu Val Leu Glu Met Gln
3140 3145 3150

Asp Leu Trp Leu Leu Arg Arg Ser Glu Lys Val Thr Asn Trp Leu
3155 3160 3165

Gln Ser Asn Gly Trp Asp Arg Leu Lys Arg Met Ala Val Ser Gly
[0188] 3170 3175 3180

Asp Asp Cys Val Val Lys Pro Ile Asp Asp Arg Phe Ala His Ala
3185 3190 3195

Leu Arg Phe Leu Asn Asp Met Gly Lys Val Arg Lys Asp Thr Gln
3200 3205 3210

Glu Trp Lys Pro Ser Thr Gly Trp Asp Asn Trp Glu Glu Val Pro
3215 3220 3225

Phe Cys Ser His His Phe Asn Lys Leu His Leu Lys Asp Gly Arg
3230 3235 3240

Ser Ile Val Val Pro Cys Arg His Gln Asp Glu Leu Ile Gly Arg
3245 3250 3255

Ala Arg Val Ser Pro Gly Ala Gly Trp Ser Ile Arg Glu Thr Ala
3260 3265 3270

Cys Leu Ala Lys Ser Tyr Ala Gln Met Trp Gln Leu Leu Tyr Phe
3275 3280 3285

His Arg Arg Asp Leu Arg Leu Met Ala Asn Ala Ile Cys Ser Ser
3290 3295 3300

Val Pro Val Asp Trp Val Pro Thr Gly Arg Thr Thr Trp Ser Ile
3305 3310 3315

His Gly Lys Gly Glu Trp Met Thr Thr Glu Asp Met Leu Val Val
3320 3325 3330

Trp Asn Arg Val Trp Ile Glu Glu Asn Asp His Met Glu Asp Lys
3335 3340 3345

Thr Pro Val Thr Lys Trp Thr Asp Ile Pro Tyr Leu Gly Lys Arg
3350 3355 3360

Glu Asp Leu Trp Cys Gly Ser Leu Ile Gly His Arg Pro Arg Thr
3365 3370 3375

Thr Trp Ala Glu Asn Ile Lys Asn Thr Val Asn Met Val Arg Arg
3380 3385 3390

[0189]

Ile Ile Gly Asp Glu Glu Lys Tyr Met Asp Tyr Leu Ser Thr Gln
3395 3400 3405

Val Arg Tyr Leu Gly Glu Glu Gly Ser Thr Pro Gly Val Leu
3410 3415 3420

<210> 370
<211> 669
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - PrM + E

<400> 370

Thr Arg Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala
1 5 10 15

Gly Glu Ala Ile Ser Phe Pro Thr Thr Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr
20 25 30

Ile Gln Ile Met Asp Leu Gly His Thr Cys Asp Ala Thr Met Ser Tyr

35 40 45

Glu Cys Pro Met Leu Asp Glu Gly Val Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys
50 55 60

Trp Cys Asn Thr Thr Ser Thr Trp Val Val Tyr Gly Thr Cys His His
65 70 75 80

Lys Lys Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser
85 90 95

His Ser Thr Arg Lys Leu Gln Thr Arg Ser Gln Thr Trp Leu Glu Ser
100 105 110

Arg Glu Tyr Thr Lys His Leu Ile Arg Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg
115 120 125

Asn Pro Gly Phe Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly
130 135 140

Ser Ser Thr Ser Gln Lys Val Ile Tyr Leu Val Met Ile Leu Leu Ile
[0190] 145 150 155 160

Ala Pro Ala Tyr Ser Ile Arg Cys Ile Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe
165 170 175

Val Glu Gly Met Ser Gly Gly Thr Trp Val Asp Val Val Leu Glu His
180 185 190

Gly Gly Cys Val Thr Val Met Ala Gln Asp Lys Pro Thr Val Asp Ile
195 200 205

Glu Leu Val Thr Thr Thr Val Ser Asn Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr
210 215 220

Cys Tyr Glu Ala Ser Ile Ser Asp Met Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro
225 230 235 240

Thr Gln Gly Glu Ala Tyr Leu Asp Lys Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val
245 250 255

Cys Lys Arg Thr Leu Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu
260 265 270

Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys
275 280 285

Lys Met Thr Gly Lys Ser Ile Gln Pro Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile
290 295 300

Met Leu Ser Val His Gly Ser Gln His Ser Gly Met Ile Val Asn Asp
305 310 315 320

Thr Gly His Glu Thr Asp Glu Asn Arg Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro
325 330 335

Asn Ser Pro Arg Ala Glu Ala Thr Leu Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly
340 345 350

Leu Asp Cys Glu Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Ser Asp Leu Tyr Tyr
355 360 365

Leu Thr Met Asn Asn Lys His Trp Leu Val His Lys Glu Trp Phe His
370 375 380

[0191]

Asp Ile Pro Leu Pro Trp His Ala Gly Ala Asp Thr Gly Thr Pro His
385 390 395 400

Trp Asn Asn Lys Glu Ala Leu Val Glu Phe Lys Asp Ala His Ala Lys
405 410 415

Arg Gln Thr Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Val His Thr
420 425 430

Ala Leu Ala Gly Ala Leu Glu Ala Glu Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg
435 440 445

Leu Ser Ser Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg
450 455 460

Leu Lys Gly Val Ser Tyr Ser Leu Cys Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr
465 470 475 480

Lys Ile Pro Ala Glu Thr Leu His Gly Thr Val Thr Val Glu Val Gln
485 490 495

Tyr Ala Gly Thr Asp Gly Pro Cys Lys Val Pro Ala Gln Met Ala Val
500 505 510

Asp Met Gln Thr Leu Thr Pro Val Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro
515 520 525

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

Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys
545 550 555 560

Ile Thr His His Trp His Arg Ser Gly Ser Thr Ile Gly Lys Ala Phe
565 570 575

Glu Ala Thr Val Arg Gly Ala Lys Arg Met Ala Val Leu Gly Asp Thr
580 585 590

Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly Gly Ala Leu Asn Ser Leu Gly Lys
595 600 605

Gly Ile His Gln Ile Phe Gly Ala Ala Phe Lys Ser Leu Phe Gly Gly
610 615 620

[0192]

Met Ser Trp Phe Ser Gln Ile Leu Ile Gly Thr Leu Leu Met Trp Leu
625 630 635 640

Gly Leu Asn Ala Lys Asn Gly Ser Ile Ser Leu Met Cys Leu Ala Leu
645 650 655

Gly Gly Val Leu Ile Phe Leu Ser Thr Ala Val Ser Ala
660 665

<210> 371
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - JEV 信号

<400> 371

Gly Lys Arg Ser Ala Gly Ser Ile Met Trp Leu Ala Ser Leu Ala Val
1 5 10 15

Val Ile Ala Cys Ala Gly Ala
20

<210> 372
<211> 692
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - JEV 信号 + PrM + E

<400> 372

Gly Lys Arg Ser Ala Gly Ser Ile Met Trp Leu Ala Ser Leu Ala Val
1 5 10 15

Val Ile Ala Cys Ala Gly Ala Thr Arg Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Met
20 25 30

Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala Gly Glu Ala Ile Ser Phe Pro Thr Thr
35 40 45

[0193]

Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr Ile Gln Ile Met Asp Leu Gly His Thr
50 55 60

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

Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys Trp Cys Asn Thr Thr Ser Thr Trp Val
85 90 95

Val Tyr Gly Thr Cys His His Lys Lys Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg
100 105 110

Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser His Ser Thr Arg Lys Leu Gln Thr Arg
115 120 125

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

Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg Asn Pro Gly Phe Ala Leu Ala Ala Ala
145 150 155 160

Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly Ser Ser Thr Ser Gln Lys Val Ile Tyr

165 170 175

Leu Val Met Ile Leu Leu Ile Ala Pro Ala Tyr Ser Ile Arg Cys Ile
180 185 190

Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Met Ser Gly Gly Thr Trp
195 200 205

Val Asp Val Val Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Val Met Ala Gln
210 215 220

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

Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr Cys Tyr Glu Ala Ser Ile Ser Asp Met
245 250 255

Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Tyr Leu Asp Lys
260 265 270

Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val Cys Lys Arg Thr Leu Val Asp Arg Gly
[0194] 275 280 285

Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys
290 295 300

Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys Lys Met Thr Gly Lys Ser Ile Gln Pro
305 310 315 320

Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile Met Leu Ser Val His Gly Ser Gln His
325 330 335

Ser Gly Met Ile Val Asn Asp Thr Gly His Glu Thr Asp Glu Asn Arg
340 345 350

Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro Asn Ser Pro Arg Ala Glu Ala Thr Leu
355 360 365

Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly Leu Asp Cys Glu Pro Arg Thr Gly Leu
370 375 380

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

Val His Lys Glu Trp Phe His Asp Ile Pro Leu Pro Trp His Ala Gly
405 410 415

Ala Asp Thr Gly Thr Pro His Trp Asn Asn Lys Glu Ala Leu Val Glu
420 425 430

Phe Lys Asp Ala His Ala Lys Arg Gln Thr Val Val Val Leu Gly Ser
435 440 445

Gln Glu Gly Ala Val His Thr Ala Leu Ala Gly Ala Leu Glu Ala Glu
450 455 460

Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg Leu Ser Ser Gly His Leu Lys Cys Arg
465 470 475 480

Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg Leu Lys Gly Val Ser Tyr Ser Leu Cys
485 490 495

Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr Lys Ile Pro Ala Glu Thr Leu His Gly
500 505 510

[0195]

Thr Val Thr Val Glu Val Gln Tyr Ala Gly Thr Asp Gly Pro Cys Lys
515 520 525

Val Pro Ala Gln Met Ala Val Asp Met Gln Thr Leu Thr Pro Val Gly
530 535 540

Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Ile Thr Glu Ser Thr Glu Asn Ser
545 550 555 560

Lys Met Met Leu Glu Leu Asp Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Val
565 570 575

Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys Ile Thr His His Trp His Arg Ser Gly
580 585 590

Ser Thr Ile Gly Lys Ala Phe Glu Ala Thr Val Arg Gly Ala Lys Arg
595 600 605

Met Ala Val Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly Gly
610 615 620

Ala Leu Asn Ser Leu Gly Lys Gly Ile His Gln Ile Phe Gly Ala Ala
625 630 635 640

Phe Lys Ser Leu Phe Gly Gly Met Ser Trp Phe Ser Gln Ile Leu Ile
645 650 655

Gly Thr Leu Leu Met Trp Leu Gly Leu Asn Ala Lys Asn Gly Ser Ile
660 665 670

Ser Leu Met Cys Leu Ala Leu Gly Gly Val Leu Ile Phe Leu Ser Thr
675 680 685

Ala Val Ser Ala
690

<210> 373
<211> 352
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - 全长寨卡病毒 NS1 蛋白序列

[0196] <400> 373

Val Gly Cys Ser Val Asp Phe Ser Lys Lys Glu Thr Arg Cys Gly Thr
1 5 10 15

Gly Val Phe Val Tyr Asn Asp Val Glu Ala Trp Arg Asp Arg Tyr Lys
20 25 30

Tyr His Pro Asp Ser Pro Arg Arg Leu Ala Ala Ala Val Lys Gln Ala
35 40 45

Trp Glu Asp Gly Ile Cys Gly Ile Ser Ser Val Ser Arg Met Glu Asn
50 55 60

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

Asn Gly Val Gln Leu Thr Val Val Val Gly Ser Val Lys Asn Pro Met
85 90 95

Trp Arg Gly Pro Gln Arg Leu Pro Val Pro Val Asn Glu Leu Pro His
100 105 110

Gly Trp Lys Ala Trp Gly Lys Ser Tyr Phe Val Arg Ala Ala Lys Thr
115 120 125

Asn Asn Ser Phe Val Val Asp Gly Asp Thr Leu Lys Glu Cys Pro Leu
130 135 140

Lys His Arg Ala Trp Asn Ser Phe Leu Val Glu Asp His Gly Phe Gly
145 150 155 160

Val Phe His Thr Ser Val Trp Leu Lys Val Arg Glu Asp Tyr Ser Leu
165 170 175

Glu Cys Asp Pro Ala Val Ile Gly Thr Ala Val Lys Gly Lys Glu Ala
180 185 190

Val His Ser Asp Leu Gly Tyr Trp Ile Glu Ser Glu Lys Asn Asp Thr
195 200 205

Trp Arg Leu Lys Arg Ala His Leu Ile Glu Met Lys Thr Cys Glu Trp
210 215 220

[0197] Pro Lys Ser His Thr Leu Trp Thr Asp Gly Ile Glu Glu Ser Asp Leu
225 230 235 240

Ile Ile Pro Lys Ser Leu Ala Gly Pro Leu Ser His His Asn Thr Arg
245 250 255

Glu Gly Tyr Arg Thr Gln Met Lys Gly Pro Trp His Ser Glu Glu Leu
260 265 270

Glu Ile Arg Phe Glu Glu Cys Pro Gly Thr Lys Val His Val Glu Glu
275 280 285

Thr Cys Gly Thr Arg Gly Pro Ser Leu Arg Ser Thr Thr Ala Ser Gly
290 295 300

Arg Val Ile Glu Glu Trp Cys Cys Arg Glu Cys Thr Met Pro Pro Leu
305 310 315 320

Ser Phe Arg Ala Lys Asp Gly Cys Trp Tyr Gly Met Glu Ile Arg Pro
325 330 335

Arg Lys Glu Pro Glu Ser Asn Leu Val Arg Ser Met Val Thr Ala Gly
340 345 350

<210> 374
<211> 692
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - 寨卡病毒多蛋白 JEV 信号 + prM + E + K643-S644

<400> 374

Gly Lys Arg Ser Ala Gly Ser Ile Met Trp Leu Ala Ser Leu Ala Val
1 5 10 15

Val Ile Ala Cys Ala Gly Ala Thr Arg Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Met
20 25 30

Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala Gly Glu Ala Ile Ser Phe Pro Thr Thr
35 40 45

Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr Ile Gln Ile Met Asp Leu Gly His Thr
[0198] 50 55 60

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

Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys Trp Cys Asn Thr Thr Ser Thr Trp Val
85 90 95

Val Tyr Gly Thr Cys His His Lys Lys Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg
100 105 110

Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser His Ser Thr Arg Lys Leu Gln Thr Arg
115 120 125

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

Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg Asn Pro Gly Phe Ala Leu Ala Ala Ala
145 150 155 160

Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly Ser Ser Thr Ser Gln Lys Val Ile Tyr
165 170 175

Leu Val Met Ile Leu Leu Ile Ala Pro Ala Tyr Ser Ile Arg Cys Ile
180 185 190

Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Met Ser Gly Gly Thr Trp
195 200 205

Val Asp Val Val Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Val Met Ala Gln
210 215 220

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

Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr Cys Tyr Glu Ala Ser Ile Ser Asp Met
245 250 255

Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Tyr Leu Asp Lys
260 265 270

Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val Cys Lys Arg Thr Leu Val Asp Arg Gly
275 280 285

[0199]

Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys
290 295 300

Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys Lys Met Thr Gly Lys Ser Ile Gln Pro
305 310 315 320

Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile Met Leu Ser Val His Gly Ser Gln His
325 330 335

Ser Gly Met Ile Val Asn Asp Thr Gly His Glu Thr Asp Glu Asn Arg
340 345 350

Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro Asn Ser Pro Arg Ala Glu Ala Thr Leu
355 360 365

Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly Leu Asp Cys Glu Pro Arg Thr Gly Leu
370 375 380

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

Val His Lys Glu Trp Phe His Asp Ile Pro Leu Pro Trp His Ala Gly
405 410 415

Ala Asp Thr Gly Thr Pro His Trp Asn Asn Lys Glu Ala Leu Val Glu
420 425 430

Phe Lys Asp Ala His Ala Lys Arg Gln Thr Val Val Val Leu Gly Ser
435 440 445

Gln Glu Gly Ala Val His Thr Ala Leu Ala Gly Ala Leu Glu Ala Glu
450 455 460

Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg Leu Ser Ser Gly His Leu Lys Cys Arg
465 470 475 480

Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg Leu Lys Gly Val Ser Tyr Ser Leu Cys
485 490 495

Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr Lys Ile Pro Ala Glu Thr Leu His Gly
500 505 510

[0200] Thr Val Thr Val Glu Val Gln Tyr Ala Gly Thr Asp Gly Pro Cys Lys
515 520 525

Val Pro Ala Gln Met Ala Val Asp Met Gln Thr Leu Thr Pro Val Gly
530 535 540

Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Ile Thr Glu Ser Thr Glu Asn Ser
545 550 555 560

Lys Met Met Leu Glu Leu Asp Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Val
565 570 575

Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys Ile Thr His His Trp His Arg Ser Gly
580 585 590

Ser Thr Ile Gly Lys Ala Phe Glu Ala Thr Val Arg Gly Ala Lys Arg
595 600 605

Met Ala Val Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly Gly
610 615 620

Ala Leu Asn Ser Leu Gly Lys Gly Ile His Gln Ile Phe Gly Ala Ala
625 630 635 640

Phe Lys Ser Leu Phe Gly Gly Met Ser Trp Phe Ser Gln Ile Leu Ile
645 650 655

Gly Thr Leu Leu Met Trp Leu Gly Leu Asn Ala Lys Asn Gly Ser Ile
660 665 670

Ser Leu Met Cys Leu Ala Leu Gly Gly Val Leu Ile Phe Leu Ser Thr
675 680 685

Ala Val Ser Ala
690

<210> 375
<211> 642
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - 基因蛋白

[0201] <400> 375

Gly Lys Arg Ser Ala Gly Ser Ile Met Trp Leu Ala Ser Leu Ala Val
1 5 10 15

Val Ile Ala Cys Ala Gly Ala Thr Arg Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Met
20 25 30

Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala Gly Glu Ala Ile Ser Phe Pro Thr Thr
35 40 45

Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr Ile Gln Ile Met Asp Leu Gly His Thr
50 55 60

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

Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys Trp Cys Asn Thr Thr Ser Thr Trp Val
85 90 95

Val Tyr Gly Thr Cys His His Lys Lys Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg
100 105 110

Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser His Ser Thr Arg Lys Leu Gln Thr Arg
115 120 125

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

Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg Asn Pro Gly Phe Ala Leu Ala Ala Ala
145 150 155 160

Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly Ser Ser Thr Ser Gln Lys Val Ile Tyr
165 170 175

Leu Val Met Ile Leu Leu Ile Ala Pro Ala Tyr Ser Ile Arg Cys Ile
180 185 190

Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe Val Glu Gly Met Ser Gly Gly Thr Trp
195 200 205

Val Asp Val Val Leu Glu His Gly Gly Cys Val Thr Val Met Ala Gln
210 215 220

[0202]

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

Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr Cys Tyr Glu Ala Ser Ile Ser Asp Met
245 250 255

Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro Thr Gln Gly Glu Ala Tyr Leu Asp Lys
260 265 270

Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val Cys Lys Arg Thr Leu Val Asp Arg Gly
275 280 285

Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys
290 295 300

Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys Lys Met Thr Gly Lys Ser Ile Gln Pro
305 310 315 320

Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile Met Leu Ser Val His Gly Ser Gln His
325 330 335

Ser Gly Met Ile Val Asn Asp Thr Gly His Glu Thr Asp Glu Asn Arg
340 345 350

Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro Asn Ser Pro Arg Ala Glu Ala Thr Leu
355 360 365

Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly Leu Asp Cys Glu Pro Arg Thr Gly Leu
370 375 380

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

Val His Lys Glu Trp Phe His Asp Ile Pro Leu Pro Trp His Ala Gly
405 410 415

Ala Asp Thr Gly Thr Pro His Trp Asn Asn Lys Glu Ala Leu Val Glu
420 425 430

Phe Lys Asp Ala His Ala Lys Arg Gln Thr Val Val Val Leu Gly Ser
435 440 445

Gln Glu Gly Ala Val His Thr Ala Leu Ala Gly Ala Leu Glu Ala Glu
450 455 460

[0203] Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg Leu Ser Ser Gly His Leu Lys Cys Arg
465 470 475 480

Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg Leu Lys Gly Val Ser Tyr Ser Leu Cys
485 490 495

Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr Lys Ile Pro Ala Glu Thr Leu His Gly
500 505 510

Thr Val Thr Val Glu Val Gln Tyr Ala Gly Thr Asp Gly Pro Cys Lys
515 520 525

Val Pro Ala Gln Met Ala Val Asp Met Gln Thr Leu Thr Pro Val Gly
530 535 540

Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro Val Ile Thr Glu Ser Thr Glu Asn Ser
545 550 555 560

Lys Met Met Leu Glu Leu Asp Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Val
565 570 575

Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys Ile Thr His His Trp His Arg Ser Gly

580 585 590

Ser Thr Ile Gly Lys Ala Phe Glu Ala Thr Val Arg Gly Ala Lys Arg
595 600 605

Met Ala Val Leu Gly Asp Thr Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly Gly
610 615 620

Ala Leu Asn Ser Leu Gly Lys Gly Ile His Gln Ile Phe Gly Ala Ala
625 630 635 640

Phe Lys

<210> 376
<211> 619
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 寨卡病毒 - prMsE

[0204]

<400> 376

Thr Arg Arg Gly Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Asp Arg Asn Asp Ala
1 5 10 15

Gly Glu Ala Ile Ser Phe Pro Thr Thr Leu Gly Met Asn Lys Cys Tyr
20 25 30

Ile Gln Ile Met Asp Leu Gly His Thr Cys Asp Ala Thr Met Ser Tyr
35 40 45

Glu Cys Pro Met Leu Asp Glu Gly Val Glu Pro Asp Asp Val Asp Cys
50 55 60

Trp Cys Asn Thr Thr Ser Thr Trp Val Val Tyr Gly Thr Cys His His
65 70 75 80

Lys Lys Gly Glu Ala Arg Arg Ser Arg Arg Ala Val Thr Leu Pro Ser
85 90 95

His Ser Thr Arg Lys Leu Gln Thr Arg Ser Gln Thr Trp Leu Glu Ser
100 105 110

Arg Glu Tyr Thr Lys His Leu Ile Arg Val Glu Asn Trp Ile Phe Arg
115 120 125

Asn Pro Gly Phe Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ile Ala Trp Leu Leu Gly
130 135 140

Ser Ser Thr Ser Gln Lys Val Ile Tyr Leu Val Met Ile Leu Leu Ile
145 150 155 160

Ala Pro Ala Tyr Ser Ile Arg Cys Ile Gly Val Ser Asn Arg Asp Phe
165 170 175

Val Glu Gly Met Ser Gly Gly Thr Trp Val Asp Val Val Leu Glu His
180 185 190

Gly Gly Cys Val Thr Val Met Ala Gln Asp Lys Pro Thr Val Asp Ile
195 200 205

Glu Leu Val Thr Thr Thr Val Ser Asn Met Ala Glu Val Arg Ser Tyr
210 215 220

[0205] Cys Tyr Glu Ala Ser Ile Ser Asp Met Ala Ser Asp Ser Arg Cys Pro
225 230 235 240

Thr Gln Gly Glu Ala Tyr Leu Asp Lys Gln Ser Asp Thr Gln Tyr Val
245 250 255

Cys Lys Arg Thr Leu Val Asp Arg Gly Trp Gly Asn Gly Cys Gly Leu
260 265 270

Phe Gly Lys Gly Ser Leu Val Thr Cys Ala Lys Phe Ala Cys Ser Lys
275 280 285

Lys Met Thr Gly Lys Ser Ile Gln Pro Glu Asn Leu Glu Tyr Arg Ile
290 295 300

Met Leu Ser Val His Gly Ser Gln His Ser Gly Met Ile Val Asn Asp
305 310 315 320

Thr Gly His Glu Thr Asp Glu Asn Arg Ala Lys Val Glu Ile Thr Pro
325 330 335

Asn Ser Pro Arg Ala Glu Ala Thr Leu Gly Gly Phe Gly Ser Leu Gly

340 345 350

Leu Asp Cys Glu Pro Arg Thr Gly Leu Asp Phe Ser Asp Leu Tyr Tyr
355 360 365

Leu Thr Met Asn Asn Lys His Trp Leu Val His Lys Glu Trp Phe His
370 375 380

Asp Ile Pro Leu Pro Trp His Ala Gly Ala Asp Thr Gly Thr Pro His
385 390 395 400

Trp Asn Asn Lys Glu Ala Leu Val Glu Phe Lys Asp Ala His Ala Lys
405 410 415

Arg Gln Thr Val Val Val Leu Gly Ser Gln Glu Gly Ala Val His Thr
420 425 430

Ala Leu Ala Gly Ala Leu Glu Ala Glu Met Asp Gly Ala Lys Gly Arg
435 440 445

Leu Ser Ser Gly His Leu Lys Cys Arg Leu Lys Met Asp Lys Leu Arg
[0206] 450 455 460

Leu Lys Gly Val Ser Tyr Ser Leu Cys Thr Ala Ala Phe Thr Phe Thr
465 470 475 480

Lys Ile Pro Ala Glu Thr Leu His Gly Thr Val Thr Val Glu Val Gln
485 490 495

Tyr Ala Gly Thr Asp Gly Pro Cys Lys Val Pro Ala Gln Met Ala Val
500 505 510

Asp Met Gln Thr Leu Thr Pro Val Gly Arg Leu Ile Thr Ala Asn Pro
515 520 525

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

Pro Pro Phe Gly Asp Ser Tyr Ile Val Ile Gly Val Gly Glu Lys Lys
545 550 555 560

Ile Thr His His Trp His Arg Ser Gly Ser Thr Ile Gly Lys Ala Phe
565 570 575

Glu Ala Thr Val Arg Gly Ala Lys Arg Met Ala Val Leu Gly Asp Thr
580 585 590

Ala Trp Asp Phe Gly Ser Val Gly Gly Ala Leu Asn Ser Leu Gly Lys
595 600 605

Gly Ile His Gln Ile Phe Gly Ala Ala Phe Lys
610 615

<210> 377
<211> 1272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 全长 S 蛋白 - 武汉菌株

<400> 377

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

[0207]

Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr Tyr

130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr Ser
145 150 155 160

Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met
165 170 175

Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val
180 185 190

Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro
195 200 205

Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro
210 215 220

Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu
225 230 235 240

Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly
[0208] 245 250 255

Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg
260 265 270

Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val
275 280 285

Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser
290 295 300

Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln
305 310 315 320

Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro
325 330 335

Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp
340 345 350

Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr
355 360 365

Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr
370 375 380

Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val
385 390 395 400

Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys
405 410 415

Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val
420 425 430

Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr
435 440 445

Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu
450 455 460

Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn
465 470 475 480

[0209]

Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe
485 490 495

Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu
500 505 510

Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys
515 520 525

Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly
530 535 540

Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro
545 550 555 560

Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg
565 570 575

Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly
580 585 590

Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala
595 600 605

Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His
610 615 620

Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn
625 630 635 640

Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn
645 650 655

Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser
660 665 670

Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser
675 680 685

Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val
690 695 700

Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser
705 710 715 720

[0210] Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp
725 730 735

Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu
740 745 750

Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly
755 760 765

Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val
770 775 780

Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn
785 790 795 800

Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe
805 810 815

Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe
820 825 830

Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu

835 840 845

Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu
850 855 860

Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr
865 870 875 880

Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro
885 890 895

Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln
900 905 910

Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser
915 920 925

Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu
930 935 940

Gly Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr
[0211] 945 950 955 960

Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu
965 970 975

Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile
980 985 990

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr
995 1000 1005

Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu
1010 1015 1020

Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg
1025 1030 1035

Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln
1040 1045 1050

Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro
1055 1060 1065

Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp
1070 1075 1080

Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly
1085 1090 1095

Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile
1100 1105 1110

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

Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu
1130 1135 1140

Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His
1145 1150 1155

Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala
1160 1165 1170

[0212]

Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val
1175 1180 1185

Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly
1190 1195 1200

Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly
1205 1210 1215

Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu
1220 1225 1230

Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser
1235 1240 1245

Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val
1250 1255 1260

Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

<210> 378
<211> 1272

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 全长 S 蛋白 - K417T, E484K 和 N501Y

<400> 378

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
[0213] 65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr Tyr
130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr Ser
145 150 155 160

Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met
165 170 175

Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val
180 185 190

Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro
195 200 205

Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro
210 215 220

Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu
225 230 235 240

Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly
245 250 255

Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg
260 265 270

Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val
275 280 285

Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser
290 295 300

[0214]

Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln
305 310 315 320

Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro
325 330 335

Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp
340 345 350

Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr
355 360 365

Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr
370 375 380

Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val
385 390 395 400

Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Thr
405 410 415

Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val
420 425 430

Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr
435 440 445

Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu
450 455 460

Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn
465 470 475 480

Gly Val Lys Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe
485 490 495

Gln Pro Thr Tyr Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu
500 505 510

Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys
515 520 525

Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly
530 535 540

[0215] Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro
545 550 555 560

Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg
565 570 575

Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly
580 585 590

Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala
595 600 605

Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His
610 615 620

Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn
625 630 635 640

Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn
645 650 655

Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser

660 665 670

Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser
675 680 685

Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val
690 695 700

Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser
705 710 715 720

Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp
725 730 735

Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu
740 745 750

Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly
755 760 765

Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val
[0216] 770 775 780

Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn
785 790 795 800

Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe
805 810 815

Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe
820 825 830

Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu
835 840 845

Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu
850 855 860

Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr
865 870 875 880

Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro
885 890 895

```
Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln
            900                 905                 910

Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser
        915                 920                 925

Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu
    930                 935                 940

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

Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu
                965                 970                 975

Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile
            980                 985                 990

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu  Gln Ser Leu Gln Thr  Tyr Val Thr
        995                 1000                1005
```

[0217]

```
Gln Gln  Leu Ile Arg Ala Ala  Glu Ile Arg Ala Ser  Ala Asn Leu
    1010                1015                1020

Ala Ala  Thr Lys Met Ser Glu  Cys Val Leu Gly Gln  Ser Lys Arg
    1025                1030                1035

Val Asp  Phe Cys Gly Lys Gly  Tyr His Leu Met Ser  Phe Pro Gln
    1040                1045                1050

Ser Ala  Pro His Gly Val Val  Phe Leu His Val Thr  Tyr Val Pro
    1055                1060                1065

Ala Gln  Glu Lys Asn Phe Thr  Thr Ala Pro Ala Ile  Cys His Asp
    1070                1075                1080

Gly Lys  Ala His Phe Pro Arg  Glu Gly Val Phe Val  Ser Asn Gly
    1085                1090                1095

Thr His  Trp Phe Val Thr Gln  Arg Asn Phe Tyr Glu  Pro Gln Ile
    1100                1105                1110

Ile Thr  Thr Asp Asn Thr Phe  Val Ser Gly Asn Cys  Asp Val Val
    1115                1120                1125
```

Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu
1130 1135 1140

Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His
1145 1150 1155

Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala
1160 1165 1170

Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val
1175 1180 1185

Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly
1190 1195 1200

Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly
1205 1210 1215

Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu
1220 1225 1230

[0218]

Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser
1235 1240 1245

Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val
1250 1255 1260

Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

<210> 379
<211> 1270
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 全长 S 蛋白 - Δ变体

<400> 379

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

Leu Arg Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Ile Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

[0219]

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Asp Val Tyr Tyr
130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Gly Val Tyr Ser Ser Ala
145 150 155 160

Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met Asp Leu
165 170 175

Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val Phe Lys
180 185 190

Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro Ile Asn
195 200 205

Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro Leu Val
210 215 220

Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu Leu Ala
225 230 235 240

Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly Trp Thr
245 250 255

Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe
260 265 270

Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val Asp Cys
275 280 285

Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser Phe Thr
290 295 300

Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln Pro Thr
305 310 315 320

Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly
325 330 335

Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg
340 345 350

Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser
355 360 365

[0220] Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu
370 375 380

Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg
385 390 395 400

Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala
405 410 415

Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala
420 425 430

Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr
435 440 445

Arg Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp
450 455 460

Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Lys Pro Cys Asn Gly Val
465 470 475 480

Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro

485 490 495

Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe
500 505 510

Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys Ser Thr
515 520 525

Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly Leu Thr
530 535 540

Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro Phe Gln
545 550 555 560

Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg Asp Pro
565 570 575

Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly Gly Val
580 585 590

Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala Val Leu
[0221] 595 600 605

Tyr Gln Gly Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His Ala Asp
610 615 620

Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn Val Phe
625 630 635 640

Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn Asn Ser
645 650 655

Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser Tyr Gln
660 665 670

Thr Gln Thr Asn Ser Arg Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser Gln Ser
675 680 685

Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val Ala Tyr
690 695 700

Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser Val Thr
705 710 715 720

Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp Cys Thr
725 730 735

Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu Leu Gln
740 745 750

Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly Ile Ala
755 760 765

Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val Lys Gln
770 775 780

Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn Phe Ser
785 790 795 800

Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe Ile Glu
805 810 815

Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe Ile Lys
820 825 830

[0222]

Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu Ile Cys
835 840 845

Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu Thr Asp
850 855 860

Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr Ile Thr
865 870 875 880

Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala
885 890 895

Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val
900 905 910

Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile
915 920 925

Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys
930 935 940

Leu Gln Asn Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val
945 950 955 960

Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp
965 970 975

Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp Arg
980 985 990

Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr Gln Gln
995 1000 1005

Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala
1010 1015 1020

Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp
1025 1030 1035

Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ser Ala
1040 1045 1050

Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ala Gln
1055 1060 1065

[0223] Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp Gly Lys
1070 1075 1080

Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly Thr His
1085 1090 1095

Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile Ile Thr
1100 1105 1110

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

Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu Asp
1130 1135 1140

Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His Thr Ser
1145 1150 1155

Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala Ser Val
1160 1165 1170

Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys

1175 1180 1185

Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr
1190 1195 1200

Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile
1205 1210 1215

Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys
1220 1225 1230

Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly
1235 1240 1245

Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys
1250 1255 1260

Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

[0224]

<210> 380
<211> 1270
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 全长 S 蛋白 - Δ变体加

<400> 380

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

Leu Arg Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Phe Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Ile Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Asp Val Tyr Tyr
130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Gly Val Tyr Ser Ser Ala
145 150 155 160

Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met Asp Leu
165 170 175

Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val Phe Lys
180 185 190

[0225]

Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro Ile Asn
195 200 205

Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Val Leu Glu Pro Leu Val
210 215 220

Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu Leu Ala
225 230 235 240

Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly Leu Thr
245 250 255

Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe
260 265 270

Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val Asp Cys
275 280 285

Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser Phe Thr
290 295 300

Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln Pro Thr
305 310 315 320

Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly
325 330 335

Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg
340 345 350

Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser
355 360 365

Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu
370 375 380

Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg
385 390 395 400

Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Asn Ile Ala
405 410 415

[0226] Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala
420 425 430

Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr
435 440 445

Arg Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp
450 455 460

Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Lys Pro Cys Asn Gly Val
465 470 475 480

Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro
485 490 495

Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe
500 505 510

Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys Ser Thr
515 520 525

Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly Leu Thr
530 535 540

Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro Phe Gln
545 550 555 560

Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg Asp Pro
565 570 575

Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly Gly Val
580 585 590

Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala Val Leu
595 600 605

Tyr Gln Gly Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His Ala Asp
610 615 620

Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn Val Phe
625 630 635 640

Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn Asn Ser
645 650 655

[0227]

Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser Tyr Gln
660 665 670

Thr Gln Thr Asn Ser Arg Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser Gln Ser
675 680 685

Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val Ala Tyr
690 695 700

Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser Val Thr
705 710 715 720

Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp Cys Thr
725 730 735

Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu Leu Gln
740 745 750

Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly Ile Ala
755 760 765

Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val Lys Gln
770 775 780

Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn Phe Ser
785 790 795 800

Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe Ile Glu
805 810 815

Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe Ile Lys
820 825 830

Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu Ile Cys
835 840 845

Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu Thr Asp
850 855 860

Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr Ile Thr
865 870 875 880

[0228] Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala
885 890 895

Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val
900 905 910

Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile
915 920 925

Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys
930 935 940

Leu Gln Asn Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val
945 950 955 960

Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp
965 970 975

Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp Arg
980 985 990

Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr Gln Gln
995 1000 1005

Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala
1010 1015 1020

Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp
1025 1030 1035

Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ser Ala
1040 1045 1050

Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ala Gln
1055 1060 1065

Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp Gly Lys
1070 1075 1080

Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly Thr His
1085 1090 1095

Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile Ile Thr
1100 1105 1110

[0229] Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val Val Ile Gly
1115 1120 1125

Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu Asp
1130 1135 1140

Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His Thr Ser
1145 1150 1155

Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala Ser Val
1160 1165 1170

Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys
1175 1180 1185

Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr
1190 1195 1200

Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile
1205 1210 1215

Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys

1220 1225 1230

Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly
1235 1240 1245

Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys
1250 1255 1260

Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

<210> 381
<211> 1272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 全长 S 蛋白 - 通过 2 个脯氨酸取代实现稳定

<400> 381

[0230]

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr Tyr
130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr Ser
145 150 155 160

Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met
165 170 175

Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val
180 185 190

Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro
195 200 205

Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro
210 215 220

Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu
225 230 235 240

[0231] Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly
245 250 255

Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg
260 265 270

Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val
275 280 285

Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser
290 295 300

Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln
305 310 315 320

Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro
325 330 335

Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp
340 345 350

Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr

355 360 365

Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr
370 375 380

Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val
385 390 395 400

Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys
405 410 415

Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val
420 425 430

Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr
435 440 445

Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu
450 455 460

[0232]

Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn
465 470 475 480

Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe
485 490 495

Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu
500 505 510

Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys
515 520 525

Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly
530 535 540

Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro
545 550 555 560

Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg
565 570 575

Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly
580 585 590

Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala
595 600 605

Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His
610 615 620

Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn
625 630 635 640

Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn
645 650 655

Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser
660 665 670

Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser
675 680 685

Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val
690 695 700

[0233] Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser
705 710 715 720

Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp
725 730 735

Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu
740 745 750

Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly
755 760 765

Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val
770 775 780

Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn
785 790 795 800

Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe
805 810 815

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

820 825 830

Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu
835 840 845

Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu
850 855 860

Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr
865 870 875 880

Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro
885 890 895

Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln
900 905 910

Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser
915 920 925

Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu
930 935 940

[0234]

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

Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu
965 970 975

Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln Ile
980 985 990

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr
995 1000 1005

Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu
1010 1015 1020

Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg
1025 1030 1035

Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln
1040 1045 1050

Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro
1055 1060 1065

Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp
1070 1075 1080

Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly
1085 1090 1095

Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile
1100 1105 1110

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

Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu
1130 1135 1140

Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His
1145 1150 1155

[0235] Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala
1160 1165 1170

Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val
1175 1180 1185

Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly
1190 1195 1200

Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly
1205 1210 1215

Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu
1220 1225 1230

Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser
1235 1240 1245

Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val
1250 1255 1260

Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr

1265 1270

<210> 382
<211> 1272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 全长稳定的 S 蛋白 - K417T, E484K 和 N501Y

<400> 382

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

[0236]

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr Tyr
130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr Ser
145 150 155 160

Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met
165 170 175

Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val
180 185 190

Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro
195 200 205

Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro
210 215 220

Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu
225 230 235 240

Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly
245 250 255

Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg
260 265 270

Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val
275 280 285

[0237]

Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser
290 295 300

Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln
305 310 315 320

Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro
325 330 335

Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp
340 345 350

Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr
355 360 365

Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr
370 375 380

Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val
385 390 395 400

Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Thr
405 410 415

Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val
420 425 430

Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr
435 440 445

Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu
450 455 460

Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn
465 470 475 480

Gly Val Lys Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe
485 490 495

Gln Pro Thr Tyr Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu
500 505 510

[0238]

Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys
515 520 525

Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly
530 535 540

Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro
545 550 555 560

Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg
565 570 575

Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly
580 585 590

Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala
595 600 605

Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His
610 615 620

Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn
625 630 635 640

Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn
645 650 655

Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser
660 665 670

Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser
675 680 685

Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val
690 695 700

Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser
705 710 715 720

Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp
725 730 735

Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu
740 745 750

[0239]

Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly
755 760 765

Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val
770 775 780

Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn
785 790 795 800

Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe
805 810 815

Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe
820 825 830

Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu
835 840 845

Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu
850 855 860

Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr
865 870 875 880

Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro
885 890 895

Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln
900 905 910

Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser
915 920 925

Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu
930 935 940

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

Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu
965 970 975

[0240]

Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln Ile
980 985 990

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr
995 1000 1005

Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu
1010 1015 1020

Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg
1025 1030 1035

Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln
1040 1045 1050

Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro
1055 1060 1065

Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp
1070 1075 1080

Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly
1085 1090 1095

Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile
1100 1105 1110

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

Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu
1130 1135 1140

Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His
1145 1150 1155

Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala
1160 1165 1170

Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val
1175 1180 1185

Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly
1190 1195 1200

[0241] Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly
1205 1210 1215

Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu
1220 1225 1230

Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser
1235 1240 1245

Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val
1250 1255 1260

Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

<210> 383
<211> 1270
<212> PRT
<213> 人工序列 s

<220>
<223> SARS-CoV2 全长稳定的 S 蛋白 Δ 变体

<400> 383

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

Leu Arg Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Ile Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
[0242] 100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Asp Val Tyr Tyr
130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Gly Val Tyr Ser Ser Ala
145 150 155 160

Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met Asp Leu
165 170 175

Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val Phe Lys
180 185 190

Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro Ile Asn
195 200 205

Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro Leu Val
210 215 220

Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu Leu Ala
225 230 235 240

Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly Trp Thr
245 250 255

Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe
260 265 270

Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val Asp Cys
275 280 285

Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser Phe Thr
290 295 300

Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln Pro Thr
305 310 315 320

Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly
325 330 335

[0243] Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg
340 345 350

Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser
355 360 365

Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu
370 375 380

Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg
385 390 395 400

Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala
405 410 415

Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala
420 425 430

Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr
435 440 445

Arg Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp

450 455 460

Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Lys Pro Cys Asn Gly Val
465 470 475 480

Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro
485 490 495

Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe
500 505 510

Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys Ser Thr
515 520 525

Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly Leu Thr
530 535 540

Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro Phe Gln
545 550 555 560

Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg Asp Pro
[0244] 565 570 575

Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly Gly Val
580 585 590

Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala Val Leu
595 600 605

Tyr Gln Gly Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His Ala Asp
610 615 620

Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn Val Phe
625 630 635 640

Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn Asn Ser
645 650 655

Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser Tyr Gln
660 665 670

Thr Gln Thr Asn Ser Arg Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser Gln Ser
675 680 685

Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val Ala Tyr
690 695 700

Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser Val Thr
705 710 715 720

Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp Cys Thr
725 730 735

Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu Leu Gln
740 745 750

Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly Ile Ala
755 760 765

Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val Lys Gln
770 775 780

Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn Phe Ser
785 790 795 800

[0245]

Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe Ile Glu
805 810 815

Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe Ile Lys
820 825 830

Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu Ile Cys
835 840 845

Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu Thr Asp
850 855 860

Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr Ile Thr
865 870 875 880

Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala
885 890 895

Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val
900 905 910

Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile
915 920 925

Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys
930 935 940

Leu Gln Asn Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val
945 950 955 960

Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp
965 970 975

Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp Arg
980 985 990

Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr Gln Gln
995 1000 1005

Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala
1010 1015 1020

Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp
1025 1030 1035

[0246] Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ser Ala
1040 1045 1050

Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ala Gln
1055 1060 1065

Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp Gly Lys
1070 1075 1080

Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly Thr His
1085 1090 1095

Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile Ile Thr
1100 1105 1110

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

Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu Asp
1130 1135 1140

Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His Thr Ser

1145 1150 1155

Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala Ser Val
1160 1165 1170

Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys
1175 1180 1185

Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr
1190 1195 1200

Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile
1205 1210 1215

Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys
1220 1225 1230

Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly
1235 1240 1245

Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys
1250 1255 1260

[0247]

Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

<210> 384
<211> 1270
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 全长稳定的 S 蛋白 Δ 变体，加

<400> 384

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
1 5 10 15

Leu Arg Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
20 25 30

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
35 40 45

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
50 55 60

His Ala Ile His Phe Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
65 70 75 80

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Ile Glu Lys
85 90 95

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
100 105 110

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
115 120 125

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Asp Val Tyr Tyr
130 135 140

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Gly Val Tyr Ser Ser Ala
145 150 155 160

[0248]

Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met Asp Leu
165 170 175

Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val Phe Lys
180 185 190

Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro Ile Asn
195 200 205

Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Val Leu Glu Pro Leu Val
210 215 220

Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu Leu Ala
225 230 235 240

Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly Leu Thr
245 250 255

Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe
260 265 270

Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val Asp Cys
275 280 285

Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser Phe Thr
290 295 300

Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln Pro Thr
305 310 315 320

Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly
325 330 335

Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg
340 345 350

Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser
355 360 365

Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu
370 375 380

[0249]

Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg
385 390 395 400

Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Asn Ile Ala
405 410 415

Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala
420 425 430

Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr
435 440 445

Arg Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp
450 455 460

Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Lys Pro Cys Asn Gly Val
465 470 475 480

Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro
485 490 495

Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe
500 505 510

Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys Ser Thr
515 520 525

Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly Leu Thr
530 535 540

Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro Phe Gln
545 550 555 560

Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg Asp Pro
565 570 575

Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly Gly Val
580 585 590

Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala Val Leu
595 600 605

Tyr Gln Gly Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His Ala Asp
610 615 620

[0250] Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn Val Phe
625 630 635 640

Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn Asn Ser
645 650 655

Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser Tyr Gln
660 665 670

Thr Gln Thr Asn Ser Arg Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser Gln Ser
675 680 685

Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val Ala Tyr
690 695 700

Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser Val Thr
705 710 715 720

Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp Cys Thr
725 730 735

Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu Leu Gln

740 745 750

Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly Ile Ala
755 760 765

Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val Lys Gln
770 775 780

Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn Phe Ser
785 790 795 800

Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe Ile Glu
805 810 815

Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe Ile Lys
820 825 830

Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu Ile Cys
835 840 845

[0251]

Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu Thr Asp
850 855 860

Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr Ile Thr
865 870 875 880

Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala
885 890 895

Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val
900 905 910

Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile
915 920 925

Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys
930 935 940

Leu Gln Asn Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val
945 950 955 960

Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp
965 970 975

Ile Leu Ser Arg Leu Asp Pro Pro Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp Arg
980 985 990

Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr Gln Gln
995 1000 1005

Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala
1010 1015 1020

Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp
1025 1030 1035

Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ser Ala
1040 1045 1050

Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ala Gln
1055 1060 1065

Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp Gly Lys
1070 1075 1080

[0252] Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly Thr His
1085 1090 1095

Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile Ile Thr
1100 1105 1110

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

Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu Asp
1130 1135 1140

Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His Thr Ser
1145 1150 1155

Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala Ser Val
1160 1165 1170

Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys
1175 1180 1185

Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr

1190 1195 1200

Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile
1205 1210 1215

Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys
1220 1225 1230

Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly
1235 1240 1245

Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys
1250 1255 1260

Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1265 1270

<210> 385
<211> 74
<212> PRT
<213> 人工序列

[0253]

<220>
<223> SARS-CoV2 E 蛋白氨基酸序列

<400> 385

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

Leu Leu Phe Leu Ala Phe Val Val Phe Leu Leu Val Thr Leu Ala Ile
20 25 30

Leu Thr Ala Leu Arg Leu Cys Ala Tyr Cys Cys Asn Ile Val Asn Val
35 40 45

Ser Leu Val Lys Pro Ser Phe Tyr Val Tyr Ser Arg Val Lys Asn Leu
50 55 60

Asn Ser Ser Arg Val Pro Asp Leu Leu Val
65 70

<210> 386
<211> 221

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 M蛋白氨基酸序列

<400> 386

Ala Asp Ser Asn Gly Thr Ile Thr Val Glu Glu Leu Lys Lys Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Trp Asn Leu Val Ile Gly Phe Leu Phe Leu Thr Trp Ile Cys
20 25 30

Leu Leu Gln Phe Ala Tyr Ala Asn Arg Asn Arg Phe Leu Tyr Ile Ile
35 40 45

Lys Leu Ile Phe Leu Trp Leu Leu Trp Pro Val Thr Leu Ala Cys Phe
50 55 60

Val Leu Ala Ala Val Tyr Arg Ile Asn Trp Ile Thr Gly Gly Ile Ala
[0254] 65 70 75 80

Ile Ala Met Ala Cys Leu Val Gly Leu Met Trp Leu Ser Tyr Phe Ile
85 90 95

Ala Ser Phe Arg Leu Phe Ala Arg Thr Arg Ser Met Trp Ser Phe Asn
100 105 110

Pro Glu Thr Asn Ile Leu Leu Asn Val Pro Leu His Gly Thr Ile Leu
115 120 125

Thr Arg Pro Leu Leu Glu Ser Glu Leu Val Ile Gly Ala Val Ile Leu
130 135 140

Arg Gly His Leu Arg Ile Ala Gly His His Leu Gly Arg Cys Asp Ile
145 150 155 160

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

Tyr Tyr Lys Leu Gly Ala Ser Gln Arg Val Ala Gly Asp Ser Gly Phe
180 185 190

Ala Ala Tyr Ser Arg Tyr Arg Ile Gly Asn Tyr Lys Leu Asn Thr Asp
195 200 205

His Ser Ser Ser Ser Asp Asn Ile Ala Leu Leu Val Gln
210 215 220

<210> 387
<211> 7095
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 PP1ab 多蛋白氨基酸序列

<400> 387

Glu Ser Leu Val Pro Gly Phe Asn Glu Lys Thr His Val Gln Leu Ser
1 5 10 15

Leu Pro Val Leu Gln Val Arg Asp Val Leu Val Arg Gly Phe Gly Asp
20 25 30

[0255]

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

Thr Cys Gly Leu Val Glu Val Glu Lys Gly Val Leu Pro Gln Leu Glu
50 55 60

Gln Pro Tyr Val Phe Ile Lys Arg Ser Asp Ala Arg Thr Ala Pro His
65 70 75 80

Gly His Val Met Val Glu Leu Val Ala Glu Leu Glu Gly Ile Gln Tyr
85 90 95

Gly Arg Ser Gly Glu Thr Leu Gly Val Leu Val Pro His Val Gly Glu
100 105 110

Ile Pro Val Ala Tyr Arg Lys Val Leu Leu Arg Lys Asn Gly Asn Lys
115 120 125

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

Gly Asp Glu Leu Gly Thr Asp Pro Tyr Glu Asp Phe Gln Glu Asn Trp

145 150 155 160

Asn Thr Lys His Ser Ser Gly Val Thr Arg Glu Leu Met Arg Glu Leu
165 170 175

Asn Gly Gly Ala Tyr Thr Arg Tyr Val Asp Asn Asn Phe Cys Gly Pro
180 185 190

Asp Gly Tyr Pro Leu Glu Cys Ile Lys Asp Leu Leu Ala Arg Ala Gly
195 200 205

Lys Ala Ser Cys Thr Leu Ser Glu Gln Leu Asp Phe Ile Asp Thr Lys
210 215 220

Arg Gly Val Tyr Cys Cys Arg Glu His Glu His Glu Ile Ala Trp Tyr
225 230 235 240

Thr Glu Arg Ser Glu Lys Ser Tyr Glu Leu Gln Thr Pro Phe Glu Ile
245 250 255

Lys Leu Ala Lys Lys Phe Asp Thr Phe Asn Gly Glu Cys Pro Asn Phe
[0256] 260 265 270

Val Phe Pro Leu Asn Ser Ile Ile Lys Thr Ile Gln Pro Arg Val Glu
275 280 285

Lys Lys Lys Leu Asp Gly Phe Met Gly Arg Ile Arg Ser Val Tyr Pro
290 295 300

Val Ala Ser Pro Asn Glu Cys Asn Gln Met Cys Leu Ser Thr Leu Met
305 310 315 320

Lys Cys Asp His Cys Gly Glu Thr Ser Trp Gln Thr Gly Asp Phe Val
325 330 335

Lys Ala Thr Cys Glu Phe Cys Gly Thr Glu Asn Leu Thr Lys Glu Gly
340 345 350

Ala Thr Thr Cys Gly Tyr Leu Pro Gln Asn Ala Val Val Lys Ile Tyr
355 360 365

Cys Pro Ala Cys His Asn Ser Glu Val Gly Pro Glu His Ser Leu Ala
370 375 380

Glu Tyr His Asn Glu Ser Gly Leu Lys Thr Ile Leu Arg Lys Gly Gly
385 390 395 400

Arg Thr Ile Ala Phe Gly Gly Cys Val Phe Ser Tyr Val Gly Cys His
405 410 415

Asn Lys Cys Ala Tyr Trp Val Pro Arg Ala Ser Ala Asn Ile Gly Cys
420 425 430

Asn His Thr Gly Val Val Gly Glu Gly Ser Glu Gly Leu Asn Asp Asn
435 440 445

Leu Leu Glu Ile Leu Gln Lys Glu Lys Val Asn Ile Asn Ile Val Gly
450 455 460

Asp Phe Lys Leu Asn Glu Glu Ile Ala Ile Ile Leu Ala Ser Phe Ser
465 470 475 480

Ala Ser Thr Ser Ala Phe Val Glu Thr Val Lys Gly Leu Asp Tyr Lys
485 490 495

[0257]

Ala Phe Lys Gln Ile Val Glu Ser Cys Gly Asn Phe Lys Val Thr Lys
500 505 510

Gly Lys Ala Lys Lys Gly Ala Trp Asn Ile Gly Glu Gln Lys Ser Ile
515 520 525

Leu Ser Pro Leu Tyr Ala Phe Ala Ser Glu Ala Ala Arg Val Val Arg
530 535 540

Ser Ile Phe Ser Arg Thr Leu Glu Thr Ala Gln Asn Ser Val Arg Val
545 550 555 560

Leu Gln Lys Ala Ala Ile Thr Ile Leu Asp Gly Ile Ser Gln Tyr Ser
565 570 575

Leu Arg Leu Ile Asp Ala Met Met Phe Thr Ser Asp Leu Ala Thr Asn
580 585 590

Asn Leu Val Val Met Ala Tyr Ile Thr Gly Gly Val Val Gln Leu Thr
595 600 605

Ser Gln Trp Leu Thr Asn Ile Phe Gly Thr Val Tyr Glu Lys Leu Lys
610 615 620

Pro Val Leu Asp Trp Leu Glu Glu Lys Phe Lys Glu Gly Val Glu Phe
625 630 635 640

Leu Arg Asp Gly Trp Glu Ile Val Lys Phe Ile Ser Thr Cys Ala Cys
645 650 655

Glu Ile Val Gly Gly Gln Ile Val Thr Cys Ala Lys Glu Ile Lys Glu
660 665 670

Ser Val Gln Thr Phe Phe Lys Leu Val Asn Lys Phe Leu Ala Leu Cys
675 680 685

Ala Asp Ser Ile Ile Ile Gly Gly Ala Lys Leu Lys Ala Leu Asn Leu
690 695 700

Gly Glu Thr Phe Val Thr His Ser Lys Gly Leu Tyr Arg Lys Cys Val
705 710 715 720

Lys Ser Arg Glu Glu Thr Gly Leu Leu Met Pro Leu Lys Ala Pro Lys
725 730 735

[0258] Glu Ile Ile Phe Leu Glu Gly Glu Thr Leu Pro Thr Glu Val Leu Thr
740 745 750

Glu Glu Val Val Leu Lys Thr Gly Asp Leu Gln Pro Leu Glu Gln Pro
755 760 765

Thr Ser Glu Ala Val Glu Ala Pro Leu Val Gly Thr Pro Val Cys Ile
770 775 780

Asn Gly Leu Met Leu Leu Glu Ile Lys Asp Thr Glu Lys Tyr Cys Ala
785 790 795 800

Leu Ala Pro Asn Met Met Val Thr Asn Asn Thr Phe Thr Leu Lys Gly
805 810 815

Gly Ala Pro Thr Lys Val Thr Phe Gly Asp Asp Thr Val Ile Glu Val
820 825 830

Gln Gly Tyr Lys Ser Val Asn Ile Thr Phe Glu Leu Asp Glu Arg Ile
835 840 845

Asp Lys Val Leu Asn Glu Lys Cys Ser Ala Tyr Thr Val Glu Leu Gly

850 855 860

Thr Glu Val Asn Glu Phe Ala Cys Val Val Ala Asp Ala Val Ile Lys
865 870 875 880

Thr Leu Gln Pro Val Ser Glu Leu Leu Thr Pro Leu Gly Ile Asp Leu
885 890 895

Asp Glu Trp Ser Met Ala Thr Tyr Tyr Leu Phe Asp Glu Ser Gly Glu
900 905 910

Phe Lys Leu Ala Ser His Met Tyr Cys Ser Phe Tyr Pro Pro Asp Glu
915 920 925

Asp Glu Glu Glu Gly Asp Cys Glu Glu Glu Glu Phe Glu Pro Ser Thr
930 935 940

Gln Tyr Glu Tyr Gly Thr Glu Asp Asp Tyr Gln Gly Lys Pro Leu Glu
945 950 955 960

Phe Gly Ala Thr Ser Ala Ala Leu Gln Pro Glu Glu Glu Gln Glu Glu
[0259] 965 970 975

Asp Trp Leu Asp Asp Asp Ser Gln Gln Thr Val Gly Gln Gln Asp Gly
980 985 990

Ser Glu Asp Asn Gln Thr Thr Thr Ile Gln Thr Ile Val Glu Val Gln
995 1000 1005

Pro Gln Leu Glu Met Glu Leu Thr Pro Val Val Gln Thr Ile Glu
1010 1015 1020

Val Asn Ser Phe Ser Gly Tyr Leu Lys Leu Thr Asp Asn Val Tyr
1025 1030 1035

Ile Lys Asn Ala Asp Ile Val Glu Glu Ala Lys Lys Val Lys Pro
1040 1045 1050

Thr Val Val Val Asn Ala Ala Asn Val Tyr Leu Lys His Gly Gly
1055 1060 1065

Gly Val Ala Gly Ala Leu Asn Lys Ala Thr Asn Asn Ala Met Gln
1070 1075 1080

Val Glu Ser Asp Asp Tyr Ile Ala Thr Asn Gly Pro Leu Lys Val
1085 1090 1095

Gly Gly Ser Cys Val Leu Ser Gly His Asn Leu Ala Lys His Cys
1100 1105 1110

Leu His Val Val Gly Pro Asn Val Asn Lys Gly Glu Asp Ile Gln
1115 1120 1125

Leu Leu Lys Ser Ala Tyr Glu Asn Phe Asn Gln His Glu Val Leu
1130 1135 1140

Leu Ala Pro Leu Leu Ser Ala Gly Ile Phe Gly Ala Asp Pro Ile
1145 1150 1155

His Ser Leu Arg Val Cys Val Asp Thr Val Arg Thr Asn Val Tyr
1160 1165 1170

Leu Ala Val Phe Asp Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Leu Val Ser Ser
1175 1180 1185

[0260]

Phe Leu Glu Met Lys Ser Glu Lys Gln Val Glu Gln Lys Ile Ala
1190 1195 1200

Glu Ile Pro Lys Glu Glu Val Lys Pro Phe Ile Thr Glu Ser Lys
1205 1210 1215

Pro Ser Val Glu Gln Arg Lys Gln Asp Asp Lys Lys Ile Lys Ala
1220 1225 1230

Cys Val Glu Glu Val Thr Thr Thr Leu Glu Glu Thr Lys Phe Leu
1235 1240 1245

Thr Glu Asn Leu Leu Leu Tyr Ile Asp Ile Asn Gly Asn Leu His
1250 1255 1260

Pro Asp Ser Ala Thr Leu Val Ser Asp Ile Asp Ile Thr Phe Leu
1265 1270 1275

Lys Lys Asp Ala Pro Tyr Ile Val Gly Asp Val Val Gln Glu Gly
1280 1285 1290

Val Leu Thr Ala Val Val Ile Pro Thr Lys Lys Ala Gly Gly Thr
1295 1300 1305

Thr Glu Met Leu Ala Lys Ala Leu Arg Lys Val Pro Thr Asp Asn
1310 1315 1320

Tyr Ile Thr Thr Tyr Pro Gly Gln Gly Leu Asn Gly Tyr Thr Val
1325 1330 1335

Glu Glu Ala Lys Thr Val Leu Lys Lys Cys Lys Ser Ala Phe Tyr
1340 1345 1350

Ile Leu Pro Ser Ile Ile Ser Asn Glu Lys Gln Glu Ile Leu Gly
1355 1360 1365

Thr Val Ser Trp Asn Leu Arg Glu Met Leu Ala His Ala Glu Glu
1370 1375 1380

Thr Arg Lys Leu Met Pro Val Cys Val Glu Thr Lys Ala Ile Val
1385 1390 1395

Ser Thr Ile Gln Arg Lys Tyr Lys Gly Ile Lys Ile Gln Glu Gly
1400 1405 1410

[0261] Val Val Asp Tyr Gly Ala Arg Phe Tyr Phe Tyr Thr Ser Lys Thr
1415 1420 1425

Thr Val Ala Ser Leu Ile Asn Thr Leu Asn Asp Leu Asn Glu Thr
1430 1435 1440

Leu Val Thr Met Pro Leu Gly Tyr Val Thr His Gly Leu Asn Leu
1445 1450 1455

Glu Glu Ala Ala Arg Tyr Met Arg Ser Leu Lys Val Pro Ala Thr
1460 1465 1470

Val Ser Val Ser Ser Pro Asp Ala Val Thr Ala Tyr Asn Gly Tyr
1475 1480 1485

Leu Thr Ser Ser Ser Lys Thr Pro Glu Glu His Phe Ile Glu Thr
1490 1495 1500

Ile Ser Leu Ala Gly Ser Tyr Lys Asp Trp Ser Tyr Ser Gly Gln
1505 1510 1515

Ser Thr Gln Leu Gly Ile Glu Phe Leu Lys Arg Gly Asp Lys Ser

1520 1525 1530

Val Tyr Tyr Thr Ser Asn Pro Thr Thr Phe His Leu Asp Gly Glu
1535 1540 1545

Val Ile Thr Phe Asp Asn Leu Lys Thr Leu Leu Ser Leu Arg Glu
1550 1555 1560

Val Arg Thr Ile Lys Val Phe Thr Thr Val Asp Asn Ile Asn Leu
1565 1570 1575

His Thr Gln Val Val Asp Met Ser Met Thr Tyr Gly Gln Gln Phe
1580 1585 1590

Gly Pro Thr Tyr Leu Asp Gly Ala Asp Val Thr Lys Ile Lys Pro
1595 1600 1605

His Asn Ser His Glu Gly Lys Thr Phe Tyr Val Leu Pro Asn Asp
1610 1615 1620

Asp Thr Leu Arg Val Glu Ala Phe Glu Tyr Tyr His Thr Thr Asp
[0262] 1625 1630 1635

Pro Ser Phe Leu Gly Arg Tyr Met Ser Ala Leu Asn His Thr Lys
1640 1645 1650

Lys Trp Lys Tyr Pro Gln Val Asn Gly Leu Thr Ser Ile Lys Trp
1655 1660 1665

Ala Asp Asn Asn Cys Tyr Leu Ala Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gln
1670 1675 1680

Gln Ile Glu Leu Lys Phe Asn Pro Pro Ala Leu Gln Asp Ala Tyr
1685 1690 1695

Tyr Arg Ala Arg Ala Gly Glu Ala Ala Asn Phe Cys Ala Leu Ile
1700 1705 1710

Leu Ala Tyr Cys Asn Lys Thr Val Gly Glu Leu Gly Asp Val Arg
1715 1720 1725

Glu Thr Met Ser Tyr Leu Phe Gln His Ala Asn Leu Asp Ser Cys
1730 1735 1740

Lys Arg Val Leu Asn Val Val Cys Lys Thr Cys Gly Gln Gln Gln
1745 1750 1755

Thr Thr Leu Lys Gly Val Glu Ala Val Met Tyr Met Gly Thr Leu
1760 1765 1770

Ser Tyr Glu Gln Phe Lys Lys Gly Val Gln Ile Pro Cys Thr Cys
1775 1780 1785

Gly Lys Gln Ala Thr Lys Tyr Leu Val Gln Gln Glu Ser Pro Phe
1790 1795 1800

Val Met Met Ser Ala Pro Pro Ala Gln Tyr Glu Leu Lys His Gly
1805 1810 1815

Thr Phe Thr Cys Ala Ser Glu Tyr Thr Gly Asn Tyr Gln Cys Gly
1820 1825 1830

His Tyr Lys His Ile Thr Ser Lys Glu Thr Leu Tyr Cys Ile Asp
1835 1840 1845

[0263]

Gly Ala Leu Leu Thr Lys Ser Ser Glu Tyr Lys Gly Pro Ile Thr
1850 1855 1860

Asp Val Phe Tyr Lys Glu Asn Ser Tyr Thr Thr Thr Ile Lys Pro
1865 1870 1875

Val Thr Tyr Lys Leu Asp Gly Val Val Cys Thr Glu Ile Asp Pro
1880 1885 1890

Lys Leu Asp Asn Tyr Tyr Lys Lys Asp Asn Ser Tyr Phe Thr Glu
1895 1900 1905

Gln Pro Ile Asp Leu Val Pro Asn Gln Pro Tyr Pro Asn Ala Ser
1910 1915 1920

Phe Asp Asn Phe Lys Phe Val Cys Asp Asn Ile Lys Phe Ala Asp
1925 1930 1935

Asp Leu Asn Gln Leu Thr Gly Tyr Lys Lys Pro Ala Ser Arg Glu
1940 1945 1950

Leu Lys Val Thr Phe Phe Pro Asp Leu Asn Gly Asp Val Val Ala
1955 1960 1965

Ile Asp Tyr Lys His Tyr Thr Pro Ser Phe Lys Lys Gly Ala Lys
1970 1975 1980

Leu Leu His Lys Pro Ile Val Trp His Val Asn Asn Ala Thr Asn
1985 1990 1995

Lys Ala Thr Tyr Lys Pro Asn Thr Trp Cys Ile Arg Cys Leu Trp
2000 2005 2010

Ser Thr Lys Pro Val Glu Thr Ser Asn Ser Phe Asp Val Leu Lys
2015 2020 2025

Ser Glu Asp Ala Gln Gly Met Asp Asn Leu Ala Cys Glu Asp Leu
2030 2035 2040

Lys Pro Val Ser Glu Glu Val Val Glu Asn Pro Thr Ile Gln Lys
2045 2050 2055

Asp Val Leu Glu Cys Asn Val Lys Thr Thr Glu Val Val Gly Asp
2060 2065 2070

[0264] Ile Ile Leu Lys Pro Ala Asn Asn Ser Leu Lys Ile Thr Glu Glu
2075 2080 2085

Val Gly His Thr Asp Leu Met Ala Ala Tyr Val Asp Asn Ser Ser
2090 2095 2100

Leu Thr Ile Lys Lys Pro Asn Glu Leu Ser Arg Val Leu Gly Leu
2105 2110 2115

Lys Thr Leu Ala Thr His Gly Leu Ala Ala Val Asn Ser Val Pro
2120 2125 2130

Trp Asp Thr Ile Ala Asn Tyr Ala Lys Pro Phe Leu Asn Lys Val
2135 2140 2145

Val Ser Thr Thr Thr Asn Ile Val Thr Arg Cys Leu Asn Arg Val
2150 2155 2160

Cys Thr Asn Tyr Met Pro Tyr Phe Phe Thr Leu Leu Leu Gln Leu
2165 2170 2175

Cys Thr Phe Thr Arg Ser Thr Asn Ser Arg Ile Lys Ala Ser Met

2180 2185 2190

Pro Thr Thr Ile Ala Lys Asn Thr Val Lys Ser Val Gly Lys Phe
2195 2200 2205

Cys Leu Glu Ala Ser Phe Asn Tyr Leu Lys Ser Pro Asn Phe Ser
2210 2215 2220

Lys Leu Ile Asn Ile Ile Ile Trp Phe Leu Leu Leu Ser Val Cys
2225 2230 2235

Leu Gly Ser Leu Ile Tyr Ser Thr Ala Ala Leu Gly Val Leu Met
2240 2245 2250

Ser Asn Leu Gly Met Pro Ser Tyr Cys Thr Gly Tyr Arg Glu Gly
2255 2260 2265

Tyr Leu Asn Ser Thr Asn Val Thr Ile Ala Thr Tyr Cys Thr Gly
2270 2275 2280

[0265]

Ser Ile Pro Cys Ser Val Cys Leu Ser Gly Leu Asp Ser Leu Asp
2285 2290 2295

Thr Tyr Pro Ser Leu Glu Thr Ile Gln Ile Thr Ile Ser Ser Phe
2300 2305 2310

Lys Trp Asp Leu Thr Ala Phe Gly Leu Val Ala Glu Trp Phe Leu
2315 2320 2325

Ala Tyr Ile Leu Phe Thr Arg Phe Phe Tyr Val Leu Gly Leu Ala
2330 2335 2340

Ala Ile Met Gln Leu Phe Phe Ser Tyr Phe Ala Val His Phe Ile
2345 2350 2355

Ser Asn Ser Trp Leu Met Trp Leu Ile Ile Asn Leu Val Gln Met
2360 2365 2370

Ala Pro Ile Ser Ala Met Val Arg Met Tyr Ile Phe Phe Ala Ser
2375 2380 2385

Phe Tyr Tyr Val Trp Lys Ser Tyr Val His Val Val Asp Gly Cys
2390 2395 2400

Asn Ser Ser Thr Cys Met Met Cys Tyr Lys Arg Asn Arg Ala Thr
2405 2410 2415

Arg Val Glu Cys Thr Thr Ile Val Asn Gly Val Arg Arg Ser Phe
2420 2425 2430

Tyr Val Tyr Ala Asn Gly Gly Lys Gly Phe Cys Lys Leu His Asn
2435 2440 2445

Trp Asn Cys Val Asn Cys Asp Thr Phe Cys Ala Gly Ser Thr Phe
2450 2455 2460

Ile Ser Asp Glu Val Ala Arg Asp Leu Ser Leu Gln Phe Lys Arg
2465 2470 2475

Pro Ile Asn Pro Thr Asp Gln Ser Ser Tyr Ile Val Asp Ser Val
2480 2485 2490

Thr Val Lys Asn Gly Ser Ile His Leu Tyr Phe Asp Lys Ala Gly
2495 2500 2505

[0266]

Gln Lys Thr Tyr Glu Arg His Ser Leu Ser His Phe Val Asn Leu
2510 2515 2520

Asp Asn Leu Arg Ala Asn Asn Thr Lys Gly Ser Leu Pro Ile Asn
2525 2530 2535

Val Ile Val Phe Asp Gly Lys Ser Lys Cys Glu Glu Ser Ser Ala
2540 2545 2550

Lys Ser Ala Ser Val Tyr Tyr Ser Gln Leu Met Cys Gln Pro Ile
2555 2560 2565

Leu Leu Leu Asp Gln Ala Leu Val Ser Asp Val Gly Asp Ser Ala
2570 2575 2580

Glu Val Ala Val Lys Met Phe Asp Ala Tyr Val Asn Thr Phe Ser
2585 2590 2595

Ser Thr Phe Asn Val Pro Met Glu Lys Leu Lys Thr Leu Val Ala
2600 2605 2610

Thr Ala Glu Ala Glu Leu Ala Lys Asn Val Ser Leu Asp Asn Val
2615 2620 2625

Leu Ser Thr Phe Ile Ser Ala Ala Arg Gln Gly Phe Val Asp Ser
2630 2635 2640

Asp Val Glu Thr Lys Asp Val Val Glu Cys Leu Lys Leu Ser His
2645 2650 2655

Gln Ser Asp Ile Glu Val Thr Gly Asp Ser Cys Asn Asn Tyr Met
2660 2665 2670

Leu Thr Tyr Asn Lys Val Glu Asn Met Thr Pro Arg Asp Leu Gly
2675 2680 2685

Ala Cys Ile Asp Cys Ser Ala Arg His Ile Asn Ala Gln Val Ala
2690 2695 2700

Lys Ser His Asn Ile Ala Leu Ile Trp Asn Val Lys Asp Phe Met
2705 2710 2715

[0267] Ser Leu Ser Glu Gln Leu Arg Lys Gln Ile Arg Ser Ala Ala Lys
2720 2725 2730

Lys Asn Asn Leu Pro Phe Lys Leu Thr Cys Ala Thr Thr Arg Gln
2735 2740 2745

Val Val Asn Val Val Thr Thr Lys Ile Ala Leu Lys Gly Gly Lys
2750 2755 2760

Ile Val Asn Asn Trp Leu Lys Gln Leu Ile Lys Val Thr Leu Val
2765 2770 2775

Phe Leu Phe Val Ala Ala Ile Phe Tyr Leu Ile Thr Pro Val His
2780 2785 2790

Val Met Ser Lys His Thr Asp Phe Ser Ser Glu Ile Ile Gly Tyr
2795 2800 2805

Lys Ala Ile Asp Gly Gly Val Thr Arg Asp Ile Ala Ser Thr Asp
2810 2815 2820

Thr Cys Phe Ala Asn Lys His Ala Asp Phe Asp Thr Trp Phe Ser
2825 2830 2835

Gln Arg Gly Gly Ser Tyr Thr Asn Asp Lys Ala Cys Pro Leu Ile
2840 2845 2850

Ala Ala Val Ile Thr Arg Glu Val Gly Phe Val Val Pro Gly Leu
2855 2860 2865

Pro Gly Thr Ile Leu Arg Thr Thr Asn Gly Asp Phe Leu His Phe
2870 2875 2880

Leu Pro Arg Val Phe Ser Ala Val Gly Asn Ile Cys Tyr Thr Pro
2885 2890 2895

Ser Lys Leu Ile Glu Tyr Thr Asp Phe Ala Thr Ser Ala Cys Val
2900 2905 2910

Leu Ala Ala Glu Cys Thr Ile Phe Lys Asp Ala Ser Gly Lys Pro
2915 2920 2925

Val Pro Tyr Cys Tyr Asp Thr Asn Val Leu Glu Gly Ser Val Ala
2930 2935 2940

[0268] Tyr Glu Ser Leu Arg Pro Asp Thr Arg Tyr Val Leu Met Asp Gly
2945 2950 2955

Ser Ile Ile Gln Phe Pro Asn Thr Tyr Leu Glu Gly Ser Val Arg
2960 2965 2970

Val Val Thr Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Cys Arg His Gly Thr Cys
2975 2980 2985

Glu Arg Ser Glu Ala Gly Val Cys Val Ser Thr Ser Gly Arg Trp
2990 2995 3000

Val Leu Asn Asn Asp Tyr Tyr Arg Ser Leu Pro Gly Val Phe Cys
3005 3010 3015

Gly Val Asp Ala Val Asn Leu Leu Thr Asn Met Phe Thr Pro Leu
3020 3025 3030

Ile Gln Pro Ile Gly Ala Leu Asp Ile Ser Ala Ser Ile Val Ala
3035 3040 3045

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

3050 3055 3060

Met Arg Phe Arg Arg Ala Phe Gly Glu Tyr Ser His Val Val Ala
3065 3070 3075

Phe Asn Thr Leu Leu Phe Leu Met Ser Phe Thr Val Leu Cys Leu
3080 3085 3090

Thr Pro Val Tyr Ser Phe Leu Pro Gly Val Tyr Ser Val Ile Tyr
3095 3100 3105

Leu Tyr Leu Thr Phe Tyr Leu Thr Asn Asp Val Ser Phe Leu Ala
3110 3115 3120

His Ile Gln Trp Met Val Met Phe Thr Pro Leu Val Pro Phe Trp
3125 3130 3135

Ile Thr Ile Ala Tyr Ile Ile Cys Ile Ser Thr Lys His Phe Tyr
3140 3145 3150

Trp Phe Phe Ser Asn Tyr Leu Lys Arg Arg Val Val Phe Asn Gly
[0269] 3155 3160 3165

Val Ser Phe Ser Thr Phe Glu Glu Ala Ala Leu Cys Thr Phe Leu
3170 3175 3180

Leu Asn Lys Glu Met Tyr Leu Lys Leu Arg Ser Asp Val Leu Leu
3185 3190 3195

Pro Leu Thr Gln Tyr Asn Arg Tyr Leu Ala Leu Tyr Asn Lys Tyr
3200 3205 3210

Lys Tyr Phe Ser Gly Ala Met Asp Thr Thr Ser Tyr Arg Glu Ala
3215 3220 3225

Ala Cys Cys His Leu Ala Lys Ala Leu Asn Asp Phe Ser Asn Ser
3230 3235 3240

Gly Ser Asp Val Leu Tyr Gln Pro Pro Gln Thr Ser Ile Thr Ser
3245 3250 3255

Ala Val Leu Gln Ser Gly Phe Arg Lys Met Ala Phe Pro Ser Gly
3260 3265 3270

Lys Val Glu Gly Cys Met Val Gln Val Thr Cys Gly Thr Thr Thr
3275 3280 3285

Leu Asn Gly Leu Trp Leu Asp Asp Val Val Tyr Cys Pro Arg His
3290 3295 3300

Val Ile Cys Thr Ser Glu Asp Met Leu Asn Pro Asn Tyr Glu Asp
3305 3310 3315

Leu Leu Ile Arg Lys Ser Asn His Asn Phe Leu Val Gln Ala Gly
3320 3325 3330

Asn Val Gln Leu Arg Val Ile Gly His Ser Met Gln Asn Cys Val
3335 3340 3345

Leu Lys Leu Lys Val Asp Thr Ala Asn Pro Lys Thr Pro Lys Tyr
3350 3355 3360

Lys Phe Val Arg Ile Gln Pro Gly Gln Thr Phe Ser Val Leu Ala
3365 3370 3375

[0270]

Cys Tyr Asn Gly Ser Pro Ser Gly Val Tyr Gln Cys Ala Met Arg
3380 3385 3390

Pro Asn Phe Thr Ile Lys Gly Ser Phe Leu Asn Gly Ser Cys Gly
3395 3400 3405

Ser Val Gly Phe Asn Ile Asp Tyr Asp Cys Val Ser Phe Cys Tyr
3410 3415 3420

Met His His Met Glu Leu Pro Thr Gly Val His Ala Gly Thr Asp
3425 3430 3435

Leu Glu Gly Asn Phe Tyr Gly Pro Phe Val Asp Arg Gln Thr Ala
3440 3445 3450

Gln Ala Ala Gly Thr Asp Thr Thr Ile Thr Val Asn Val Leu Ala
3455 3460 3465

Trp Leu Tyr Ala Ala Val Ile Asn Gly Asp Arg Trp Phe Leu Asn
3470 3475 3480

Arg Phe Thr Thr Thr Leu Asn Asp Phe Asn Leu Val Ala Met Lys
3485 3490 3495

Tyr Asn Tyr Glu Pro Leu Thr Gln Asp His Val Asp Ile Leu Gly
3500 3505 3510

Pro Leu Ser Ala Gln Thr Gly Ile Ala Val Leu Asp Met Cys Ala
3515 3520 3525

Ser Leu Lys Glu Leu Leu Gln Asn Gly Met Asn Gly Arg Thr Ile
3530 3535 3540

Leu Gly Ser Ala Leu Leu Glu Asp Glu Phe Thr Pro Phe Asp Val
3545 3550 3555

Val Arg Gln Cys Ser Gly Val Thr Phe Gln Ser Ala Val Lys Arg
3560 3565 3570

Thr Ile Lys Gly Thr His His Trp Leu Leu Leu Thr Ile Leu Thr
3575 3580 3585

Ser Leu Leu Val Leu Val Gln Ser Thr Gln Trp Ser Leu Phe Phe
3590 3595 3600

[0271] Phe Leu Tyr Glu Asn Ala Phe Leu Pro Phe Ala Met Gly Ile Ile
3605 3610 3615

Ala Met Ser Ala Phe Ala Met Met Phe Val Lys His Lys His Ala
3620 3625 3630

Phe Leu Cys Leu Phe Leu Leu Pro Ser Leu Ala Thr Val Ala Tyr
3635 3640 3645

Phe Asn Met Val Tyr Met Pro Ala Ser Trp Val Met Arg Ile Met
3650 3655 3660

Thr Trp Leu Asp Met Val Asp Thr Ser Leu Ser Gly Phe Lys Leu
3665 3670 3675

Lys Asp Cys Val Met Tyr Ala Ser Ala Val Val Leu Leu Ile Leu
3680 3685 3690

Met Thr Ala Arg Thr Val Tyr Asp Asp Gly Ala Arg Arg Val Trp
3695 3700 3705

Thr Leu Met Asn Val Leu Thr Leu Val Tyr Lys Val Tyr Tyr Gly

3710 3715 3720

Asn Ala Leu Asp Gln Ala Ile Ser Met Trp Ala Leu Ile Ile Ser
3725 3730 3735

Val Thr Ser Asn Tyr Ser Gly Val Val Thr Thr Val Met Phe Leu
3740 3745 3750

Ala Arg Gly Ile Val Phe Met Cys Val Glu Tyr Cys Pro Ile Phe
3755 3760 3765

Phe Ile Thr Gly Asn Thr Leu Gln Cys Ile Met Leu Val Tyr Cys
3770 3775 3780

Phe Leu Gly Tyr Phe Cys Thr Cys Tyr Phe Gly Leu Phe Cys Leu
3785 3790 3795

Leu Asn Arg Tyr Phe Arg Leu Thr Leu Gly Val Tyr Asp Tyr Leu
3800 3805 3810

Val Ser Thr Gln Glu Phe Arg Tyr Met Asn Ser Gln Gly Leu Leu
[0272] 3815 3820 3825

Pro Pro Lys Asn Ser Ile Asp Ala Phe Lys Leu Asn Ile Lys Leu
3830 3835 3840

Leu Gly Val Gly Gly Lys Pro Cys Ile Lys Val Ala Thr Val Gln
3845 3850 3855

Ser Lys Met Ser Asp Val Lys Cys Thr Ser Val Val Leu Leu Ser
3860 3865 3870

Val Leu Gln Gln Leu Arg Val Glu Ser Ser Ser Lys Leu Trp Ala
3875 3880 3885

Gln Cys Val Gln Leu His Asn Asp Ile Leu Leu Ala Lys Asp Thr
3890 3895 3900

Thr Glu Ala Phe Glu Lys Met Val Ser Leu Leu Ser Val Leu Leu
3905 3910 3915

Ser Met Gln Gly Ala Val Asp Ile Asn Lys Leu Cys Glu Glu Met
3920 3925 3930

Leu Asp Asn Arg Ala Thr Leu Gln Ala Ile Ala Ser Glu Phe Ser
3935 3940 3945

Ser Leu Pro Ser Tyr Ala Ala Phe Ala Thr Ala Gln Glu Ala Tyr
3950 3955 3960

Glu Gln Ala Val Ala Asn Gly Asp Ser Glu Val Val Leu Lys Lys
3965 3970 3975

Leu Lys Lys Ser Leu Asn Val Ala Lys Ser Glu Phe Asp Arg Asp
3980 3985 3990

Ala Ala Met Gln Arg Lys Leu Glu Lys Met Ala Asp Gln Ala Met
3995 4000 4005

Thr Gln Met Tyr Lys Gln Ala Arg Ser Glu Asp Lys Arg Ala Lys
4010 4015 4020

Val Thr Ser Ala Met Gln Thr Met Leu Phe Thr Met Leu Arg Lys
4025 4030 4035

[0273]

Leu Asp Asn Asp Ala Leu Asn Asn Ile Ile Asn Asn Ala Arg Asp
4040 4045 4050

Gly Cys Val Pro Leu Asn Ile Ile Pro Leu Thr Thr Ala Ala Lys
4055 4060 4065

Leu Met Val Val Ile Pro Asp Tyr Asn Thr Tyr Lys Asn Thr Cys
4070 4075 4080

Asp Gly Thr Thr Phe Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Trp Glu Ile Gln
4085 4090 4095

Gln Val Val Asp Ala Asp Ser Lys Ile Val Gln Leu Ser Glu Ile
4100 4105 4110

Ser Met Asp Asn Ser Pro Asn Leu Ala Trp Pro Leu Ile Val Thr
4115 4120 4125

Ala Leu Arg Ala Asn Ser Ala Val Lys Leu Gln Asn Asn Glu Leu
4130 4135 4140

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

4145 4150 4155

Gln Thr Ala Cys Thr Asp Asp Asn Ala Leu Ala Tyr Tyr Asn Thr
4160 4165 4170

Thr Lys Gly Gly Arg Phe Val Leu Ala Leu Leu Ser Asp Leu Gln
4175 4180 4185

Asp Leu Lys Trp Ala Arg Phe Pro Lys Ser Asp Gly Thr Gly Thr
4190 4195 4200

Ile Tyr Thr Glu Leu Glu Pro Pro Cys Arg Phe Val Thr Asp Thr
4205 4210 4215

Pro Lys Gly Pro Lys Val Lys Tyr Leu Tyr Phe Ile Lys Gly Leu
4220 4225 4230

Asn Asn Leu Asn Arg Gly Met Val Leu Gly Ser Leu Ala Ala Thr
4235 4240 4245

Val Arg Leu Gln Ala Gly Asn Ala Thr Glu Val Pro Ala Asn Ser
[0274] 4250 4255 4260

Thr Val Leu Ser Phe Cys Ala Phe Ala Val Asp Ala Ala Lys Ala
4265 4270 4275

Tyr Lys Asp Tyr Leu Ala Ser Gly Gly Gln Pro Ile Thr Asn Cys
4280 4285 4290

Val Lys Met Leu Cys Thr His Thr Gly Thr Gly Gln Ala Ile Thr
4295 4300 4305

Val Thr Pro Glu Ala Asn Met Asp Gln Glu Ser Phe Gly Gly Ala
4310 4315 4320

Ser Cys Cys Leu Tyr Cys Arg Cys His Ile Asp His Pro Asn Pro
4325 4330 4335

Lys Gly Phe Cys Asp Leu Lys Gly Lys Tyr Val Gln Ile Pro Thr
4340 4345 4350

Thr Cys Ala Asn Asp Pro Val Gly Phe Thr Leu Lys Asn Thr Val
4355 4360 4365

Cys Thr Val Cys Gly Met Trp Lys Gly Tyr Gly Cys Ser Cys Asp
4370 4375 4380

Gln Leu Arg Glu Pro Met Leu Gln Ser Ala Asp Ala Gln Ser Phe
4385 4390 4395

Leu Asn Arg Val Cys Gly Val Ser Ala Ala Arg Leu Thr Pro Cys
4400 4405 4410

Gly Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Val Tyr Arg Ala Phe Asp Ile
4415 4420 4425

Tyr Asn Asp Lys Val Ala Gly Phe Ala Lys Phe Leu Lys Thr Asn
4430 4435 4440

Cys Cys Arg Phe Gln Glu Lys Asp Glu Asp Asp Asn Leu Ile Asp
4445 4450 4455

Ser Tyr Phe Val Val Lys Arg His Thr Phe Ser Asn Tyr Gln His
4460 4465 4470

[0275]

Glu Glu Thr Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Asp Cys Pro Ala Val Ala
4475 4480 4485

Lys His Asp Phe Phe Lys Phe Arg Ile Asp Gly Asp Met Val Pro
4490 4495 4500

His Ile Ser Arg Gln Arg Leu Thr Lys Tyr Thr Met Ala Asp Leu
4505 4510 4515

Val Tyr Ala Leu Arg His Phe Asp Glu Gly Asn Cys Asp Thr Leu
4520 4525 4530

Lys Glu Ile Leu Val Thr Tyr Asn Cys Cys Asp Asp Asp Tyr Phe
4535 4540 4545

Asn Lys Lys Asp Trp Tyr Asp Phe Val Glu Asn Pro Asp Ile Leu
4550 4555 4560

Arg Val Tyr Ala Asn Leu Gly Glu Arg Val Arg Gln Ala Leu Leu
4565 4570 4575

Lys Thr Val Gln Phe Cys Asp Ala Met Arg Asn Ala Gly Ile Val

4580 4585 4590

Gly Val Leu Thr Leu Asp Asn Gln Asp Leu Asn Gly Asn Trp Tyr
4595 4600 4605

Asp Phe Gly Asp Phe Ile Gln Thr Thr Pro Gly Ser Gly Val Pro
4610 4615 4620

Val Val Asp Ser Tyr Tyr Ser Leu Leu Met Pro Ile Leu Thr Leu
4625 4630 4635

Thr Arg Ala Leu Thr Ala Glu Ser His Val Asp Thr Asp Leu Thr
4640 4645 4650

Lys Pro Tyr Ile Lys Trp Asp Leu Leu Lys Tyr Asp Phe Thr Glu
4655 4660 4665

Glu Arg Leu Lys Leu Phe Asp Arg Tyr Phe Lys Tyr Trp Asp Gln
4670 4675 4680

Thr Tyr His Pro Asn Cys Val Asn Cys Leu Asp Asp Arg Cys Ile
[0276] 4685 4690 4695

Leu His Cys Ala Asn Phe Asn Val Leu Phe Ser Thr Val Phe Pro
4700 4705 4710

Pro Thr Ser Phe Gly Pro Leu Val Arg Lys Ile Phe Val Asp Gly
4715 4720 4725

Val Pro Phe Val Val Ser Thr Gly Tyr His Phe Arg Glu Leu Gly
4730 4735 4740

Val Val His Asn Gln Asp Val Asn Leu His Ser Ser Arg Leu Ser
4745 4750 4755

Phe Lys Glu Leu Leu Val Tyr Ala Ala Asp Pro Ala Met His Ala
4760 4765 4770

Ala Ser Gly Asn Leu Leu Leu Asp Lys Arg Thr Thr Cys Phe Ser
4775 4780 4785

Val Ala Ala Leu Thr Asn Asn Val Ala Phe Gln Thr Val Lys Pro
4790 4795 4800

Gly Asn Phe Asn Lys Asp Phe Tyr Asp Phe Ala Val Ser Lys Gly
4805 4810 4815

Phe Phe Lys Glu Gly Ser Ser Val Glu Leu Lys His Phe Phe Phe
4820 4825 4830

Ala Gln Asp Gly Asn Ala Ala Ile Ser Asp Tyr Asp Tyr Tyr Arg
4835 4840 4845

Tyr Asn Leu Pro Thr Met Cys Asp Ile Arg Gln Leu Leu Phe Val
4850 4855 4860

Val Glu Val Val Asp Lys Tyr Phe Asp Cys Tyr Asp Gly Gly Cys
4865 4870 4875

Ile Asn Ala Asn Gln Val Ile Val Asn Asn Leu Asp Lys Ser Ala
4880 4885 4890

Gly Phe Pro Phe Asn Lys Trp Gly Lys Ala Arg Leu Tyr Tyr Asp
4895 4900 4905

[0277]

Ser Met Ser Tyr Glu Asp Gln Asp Ala Leu Phe Ala Tyr Thr Lys
4910 4915 4920

Arg Asn Val Ile Pro Thr Ile Thr Gln Met Asn Leu Lys Tyr Ala
4925 4930 4935

Ile Ser Ala Lys Asn Arg Ala Arg Thr Val Ala Gly Val Ser Ile
4940 4945 4950

Cys Ser Thr Met Thr Asn Arg Gln Phe His Gln Lys Leu Leu Lys
4955 4960 4965

Ser Ile Ala Ala Thr Arg Gly Ala Thr Val Val Ile Gly Thr Ser
4970 4975 4980

Lys Phe Tyr Gly Gly Trp His Asn Met Leu Lys Thr Val Tyr Ser
4985 4990 4995

Asp Val Glu Asn Pro His Leu Met Gly Trp Asp Tyr Pro Lys Cys
5000 5005 5010

Asp Arg Ala Met Pro Asn Met Leu Arg Ile Met Ala Ser Leu Val
5015 5020 5025

Leu Ala Arg Lys His Thr Thr Cys Cys Ser Leu Ser His Arg Phe
5030 5035 5040

Tyr Arg Leu Ala Asn Glu Cys Ala Gln Val Leu Ser Glu Met Val
5045 5050 5055

Met Cys Gly Gly Ser Leu Tyr Val Lys Pro Gly Gly Thr Ser Ser
5060 5065 5070

Gly Asp Ala Thr Thr Ala Tyr Ala Asn Ser Val Phe Asn Ile Cys
5075 5080 5085

Gln Ala Val Thr Ala Asn Val Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asp Gly
5090 5095 5100

Asn Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Val Arg Asn Leu Gln His Arg Leu
5105 5110 5115

Tyr Glu Cys Leu Tyr Arg Asn Arg Asp Val Asp Thr Asp Phe Val
5120 5125 5130

[0278] Asn Glu Phe Tyr Ala Tyr Leu Arg Lys His Phe Ser Met Met Ile
5135 5140 5145

Leu Ser Asp Asp Ala Val Val Cys Phe Asn Ser Thr Tyr Ala Ser
5150 5155 5160

Gln Gly Leu Val Ala Ser Ile Lys Asn Phe Lys Ser Val Leu Tyr
5165 5170 5175

Tyr Gln Asn Asn Val Phe Met Ser Glu Ala Lys Cys Trp Thr Glu
5180 5185 5190

Thr Asp Leu Thr Lys Gly Pro His Glu Phe Cys Ser Gln His Thr
5195 5200 5205

Met Leu Val Lys Gln Gly Asp Asp Tyr Val Tyr Leu Pro Tyr Pro
5210 5215 5220

Asp Pro Ser Arg Ile Leu Gly Ala Gly Cys Phe Val Asp Asp Ile
5225 5230 5235

Val Lys Thr Asp Gly Thr Leu Met Ile Glu Arg Phe Val Ser Leu

5240 5245 5250

Ala Ile Asp Ala Tyr Pro Leu Thr Lys His Pro Asn Gln Glu Tyr
5255 5260 5265

Ala Asp Val Phe His Leu Tyr Leu Gln Tyr Ile Arg Lys Leu His
5270 5275 5280

Asp Glu Leu Thr Gly His Met Leu Asp Met Tyr Ser Val Met Leu
5285 5290 5295

Thr Asn Asp Asn Thr Ser Arg Tyr Trp Glu Pro Glu Phe Tyr Glu
5300 5305 5310

Ala Met Tyr Thr Pro His Thr Val Leu Gln Ala Val Gly Ala Cys
5315 5320 5325

Val Leu Cys Asn Ser Gln Thr Ser Leu Arg Cys Gly Ala Cys Ile
5330 5335 5340

Arg Arg Pro Phe Leu Cys Cys Lys Cys Cys Tyr Asp His Val Ile
[0279] 5345 5350 5355

Ser Thr Ser His Lys Leu Val Leu Ser Val Asn Pro Tyr Val Cys
5360 5365 5370

Asn Ala Pro Gly Cys Asp Val Thr Asp Val Thr Gln Leu Tyr Leu
5375 5380 5385

Gly Gly Met Ser Tyr Tyr Cys Lys Ser His Lys Pro Pro Ile Ser
5390 5395 5400

Phe Pro Leu Cys Ala Asn Gly Gln Val Phe Gly Leu Tyr Lys Asn
5405 5410 5415

Thr Cys Val Gly Ser Asp Asn Val Thr Asp Phe Asn Ala Ile Ala
5420 5425 5430

Thr Cys Asp Trp Thr Asn Ala Gly Asp Tyr Ile Leu Ala Asn Thr
5435 5440 5445

Cys Thr Glu Arg Leu Lys Leu Phe Ala Ala Glu Thr Leu Lys Ala
5450 5455 5460

Thr Glu Glu Thr Phe Lys Leu Ser Tyr Gly Ile Ala Thr Val Arg
5465 5470 5475

Glu Val Leu Ser Asp Arg Glu Leu His Leu Ser Trp Glu Val Gly
5480 5485 5490

Lys Pro Arg Pro Pro Leu Asn Arg Asn Tyr Val Phe Thr Gly Tyr
5495 5500 5505

Arg Val Thr Lys Asn Ser Lys Val Gln Ile Gly Glu Tyr Thr Phe
5510 5515 5520

Glu Lys Gly Asp Tyr Gly Asp Ala Val Val Tyr Arg Gly Thr Thr
5525 5530 5535

Thr Tyr Lys Leu Asn Val Gly Asp Tyr Phe Val Leu Thr Ser His
5540 5545 5550

Thr Val Met Pro Leu Ser Ala Pro Thr Leu Val Pro Gln Glu His
5555 5560 5565

[0280]

Tyr Val Arg Ile Thr Gly Leu Tyr Pro Thr Leu Asn Ile Ser Asp
5570 5575 5580

Glu Phe Ser Ser Asn Val Ala Asn Tyr Gln Lys Val Gly Met Gln
5585 5590 5595

Lys Tyr Ser Thr Leu Gln Gly Pro Pro Gly Thr Gly Lys Ser His
5600 5605 5610

Phe Ala Ile Gly Leu Ala Leu Tyr Tyr Pro Ser Ala Arg Ile Val
5615 5620 5625

Tyr Thr Ala Cys Ser His Ala Ala Val Asp Ala Leu Cys Glu Lys
5630 5635 5640

Ala Leu Lys Tyr Leu Pro Ile Asp Lys Cys Ser Arg Ile Ile Pro
5645 5650 5655

Ala Arg Ala Arg Val Glu Cys Phe Asp Lys Phe Lys Val Asn Ser
5660 5665 5670

Thr Leu Glu Gln Tyr Val Phe Cys Thr Val Asn Ala Leu Pro Glu
5675 5680 5685

Thr Thr Ala Asp Ile Val Val Phe Asp Glu Ile Ser Met Ala Thr
5690 5695 5700

Asn Tyr Asp Leu Ser Val Val Asn Ala Arg Leu Arg Ala Lys His
5705 5710 5715

Tyr Val Tyr Ile Gly Asp Pro Ala Gln Leu Pro Ala Pro Arg Thr
5720 5725 5730

Leu Leu Thr Lys Gly Thr Leu Glu Pro Glu Tyr Phe Asn Ser Val
5735 5740 5745

Cys Arg Leu Met Lys Thr Ile Gly Pro Asp Met Phe Leu Gly Thr
5750 5755 5760

Cys Arg Arg Cys Pro Ala Glu Ile Val Asp Thr Val Ser Ala Leu
5765 5770 5775

Val Tyr Asp Asn Lys Leu Lys Ala His Lys Asp Lys Ser Ala Gln
5780 5785 5790

[0281] Cys Phe Lys Met Phe Tyr Lys Gly Val Ile Thr His Asp Val Ser
5795 5800 5805

Ser Ala Ile Asn Arg Pro Gln Ile Gly Val Val Arg Glu Phe Leu
5810 5815 5820

Thr Arg Asn Pro Ala Trp Arg Lys Ala Val Phe Ile Ser Pro Tyr
5825 5830 5835

Asn Ser Gln Asn Ala Val Ala Ser Lys Ile Leu Gly Leu Pro Thr
5840 5845 5850

Gln Thr Val Asp Ser Ser Gln Gly Ser Glu Tyr Asp Tyr Val Ile
5855 5860 5865

Phe Thr Gln Thr Thr Glu Thr Ala His Ser Cys Asn Val Asn Arg
5870 5875 5880

Phe Asn Val Ala Ile Thr Arg Ala Lys Val Gly Ile Leu Cys Ile
5885 5890 5895

Met Ser Asp Arg Asp Leu Tyr Asp Lys Leu Gln Phe Thr Ser Leu

5900 5905 5910

Glu Ile Pro Arg Arg Asn Val Ala Thr Leu Gln Ala Glu Asn Val
5915 5920 5925

Thr Gly Leu Phe Lys Asp Cys Ser Lys Val Ile Thr Gly Leu His
5930 5935 5940

Pro Thr Gln Ala Pro Thr His Leu Ser Val Asp Thr Lys Phe Lys
5945 5950 5955

Thr Glu Gly Leu Cys Val Asp Ile Pro Gly Ile Pro Lys Asp Met
5960 5965 5970

Thr Tyr Arg Arg Leu Ile Ser Met Met Gly Phe Lys Met Asn Tyr
5975 5980 5985

Gln Val Asn Gly Tyr Pro Asn Met Phe Ile Thr Arg Glu Glu Ala
5990 5995 6000

Ile Arg His Val Arg Ala Trp Ile Gly Phe Asp Val Glu Gly Cys
6005 6010 6015

[0282]

His Ala Thr Arg Glu Ala Val Gly Thr Asn Leu Pro Leu Gln Leu
6020 6025 6030

Gly Phe Ser Thr Gly Val Asn Leu Val Ala Val Pro Thr Gly Tyr
6035 6040 6045

Val Asp Thr Pro Asn Asn Thr Asp Phe Ser Arg Val Ser Ala Lys
6050 6055 6060

Pro Pro Pro Gly Asp Gln Phe Lys His Leu Ile Pro Leu Met Tyr
6065 6070 6075

Lys Gly Leu Pro Trp Asn Val Val Arg Ile Lys Ile Val Gln Met
6080 6085 6090

Leu Ser Asp Thr Leu Lys Asn Leu Ser Asp Arg Val Val Phe Val
6095 6100 6105

Leu Trp Ala His Gly Phe Glu Leu Thr Ser Met Lys Tyr Phe Val
6110 6115 6120

Lys Ile Gly Pro Glu Arg Thr Cys Cys Leu Cys Asp Arg Arg Ala
6125 6130 6135

Thr Cys Phe Ser Thr Ala Ser Asp Thr Tyr Ala Cys Trp His His
6140 6145 6150

Ser Ile Gly Phe Asp Tyr Val Tyr Asn Pro Phe Met Ile Asp Val
6155 6160 6165

Gln Gln Trp Gly Phe Thr Gly Asn Leu Gln Ser Asn His Asp Leu
6170 6175 6180

Tyr Cys Gln Val His Gly Asn Ala His Val Ala Ser Cys Asp Ala
6185 6190 6195

Ile Met Thr Arg Cys Leu Ala Val His Glu Cys Phe Val Lys Arg
6200 6205 6210

Val Asp Trp Thr Ile Glu Tyr Pro Ile Ile Gly Asp Glu Leu Lys
6215 6220 6225

[0283] Ile Asn Ala Ala Cys Arg Lys Val Gln His Met Val Val Lys Ala
6230 6235 6240

Ala Leu Leu Ala Asp Lys Phe Pro Val Leu His Asp Ile Gly Asn
6245 6250 6255

Pro Lys Ala Ile Lys Cys Val Pro Gln Ala Asp Val Glu Trp Lys
6260 6265 6270

Phe Tyr Asp Ala Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala Tyr Lys Ile Glu
6275 6280 6285

Glu Leu Phe Tyr Ser Tyr Ala Thr His Ser Asp Lys Phe Thr Asp
6290 6295 6300

Gly Val Cys Leu Phe Trp Asn Cys Asn Val Asp Arg Tyr Pro Ala
6305 6310 6315

Asn Ser Ile Val Cys Arg Phe Asp Thr Arg Val Leu Ser Asn Leu
6320 6325 6330

Asn Leu Pro Gly Cys Asp Gly Gly Ser Leu Tyr Val Asn Lys His

6335 6340 6345

Ala Phe His Thr Pro Ala Phe Asp Lys Ser Ala Phe Val Asn Leu
6350 6355 6360

Lys Gln Leu Pro Phe Phe Tyr Tyr Ser Asp Ser Pro Cys Glu Ser
6365 6370 6375

His Gly Lys Gln Val Val Ser Asp Ile Asp Tyr Val Pro Leu Lys
6380 6385 6390

Ser Ala Thr Cys Ile Thr Arg Cys Asn Leu Gly Gly Ala Val Cys
6395 6400 6405

Arg His His Ala Asn Glu Tyr Arg Leu Tyr Leu Asp Ala Tyr Asn
6410 6415 6420

Met Met Ile Ser Ala Gly Phe Ser Leu Trp Val Tyr Lys Gln Phe
6425 6430 6435

[0284]

Asp Thr Tyr Asn Leu Trp Asn Thr Phe Thr Arg Leu Gln Ser Leu
6440 6445 6450

Glu Asn Val Ala Phe Asn Val Val Asn Lys Gly His Phe Asp Gly
6455 6460 6465

Gln Gln Gly Glu Val Pro Val Ser Ile Ile Asn Asn Thr Val Tyr
6470 6475 6480

Thr Lys Val Asp Gly Val Asp Val Glu Leu Phe Glu Asn Lys Thr
6485 6490 6495

Thr Leu Pro Val Asn Val Ala Phe Glu Leu Trp Ala Lys Arg Asn
6500 6505 6510

Ile Lys Pro Val Pro Glu Val Lys Ile Leu Asn Asn Leu Gly Val
6515 6520 6525

Asp Ile Ala Ala Asn Thr Val Ile Trp Asp Tyr Lys Arg Asp Ala
6530 6535 6540

Pro Ala His Ile Ser Thr Ile Gly Val Cys Ser Met Thr Asp Ile
6545 6550 6555

Ala Lys Lys Pro Thr Glu Thr Ile Cys Ala Pro Leu Thr Val Phe
6560 6565 6570

Phe Asp Gly Arg Val Asp Gly Gln Val Asp Leu Phe Arg Asn Ala
6575 6580 6585

Arg Asn Gly Val Leu Ile Thr Glu Gly Ser Val Lys Gly Leu Gln
6590 6595 6600

Pro Ser Val Gly Pro Lys Gln Ala Ser Leu Asn Gly Val Thr Leu
6605 6610 6615

Ile Gly Glu Ala Val Lys Thr Gln Phe Asn Tyr Tyr Lys Lys Val
6620 6625 6630

Asp Gly Val Val Gln Gln Leu Pro Glu Thr Tyr Phe Thr Gln Ser
6635 6640 6645

Arg Asn Leu Gln Glu Phe Lys Pro Arg Ser Gln Met Glu Ile Asp
6650 6655 6660

[0285] Phe Leu Glu Leu Ala Met Asp Glu Phe Ile Glu Arg Tyr Lys Leu
6665 6670 6675

Glu Gly Tyr Ala Phe Glu His Ile Val Tyr Gly Asp Phe Ser His
6680 6685 6690

Ser Gln Leu Gly Gly Leu His Leu Leu Ile Gly Leu Ala Lys Arg
6695 6700 6705

Phe Lys Glu Ser Pro Phe Glu Leu Glu Asp Phe Ile Pro Met Asp
6710 6715 6720

Ser Thr Val Lys Asn Tyr Phe Ile Thr Asp Ala Gln Thr Gly Ser
6725 6730 6735

Ser Lys Cys Val Cys Ser Val Ile Asp Leu Leu Leu Asp Asp Phe
6740 6745 6750

Val Glu Ile Ile Lys Ser Gln Asp Leu Ser Val Val Ser Lys Val
6755 6760 6765

Val Lys Val Thr Ile Asp Tyr Thr Glu Ile Ser Phe Met Leu Trp

6770 6775 6780

Cys Lys Asp Gly His Val Glu Thr Phe Tyr Pro Lys Leu Gln Ser
6785 6790 6795

Ser Gln Ala Trp Gln Pro Gly Val Ala Met Pro Asn Leu Tyr Lys
6800 6805 6810

Met Gln Arg Met Leu Leu Glu Lys Cys Asp Leu Gln Asn Tyr Gly
6815 6820 6825

Asp Ser Ala Thr Leu Pro Lys Gly Ile Met Met Asn Val Ala Lys
6830 6835 6840

Tyr Thr Gln Leu Cys Gln Tyr Leu Asn Thr Leu Thr Leu Ala Val
6845 6850 6855

Pro Tyr Asn Met Arg Val Ile His Phe Gly Ala Gly Ser Asp Lys
6860 6865 6870

Gly Val Ala Pro Gly Thr Ala Val Leu Arg Gln Trp Leu Pro Thr
[0286] 6875 6880 6885

Gly Thr Leu Leu Val Asp Ser Asp Leu Asn Asp Phe Val Ser Asp
6890 6895 6900

Ala Asp Ser Thr Leu Ile Gly Asp Cys Ala Thr Val His Thr Ala
6905 6910 6915

Asn Lys Trp Asp Leu Ile Ile Ser Asp Met Tyr Asp Pro Lys Thr
6920 6925 6930

Lys Asn Val Thr Lys Glu Asn Asp Ser Lys Glu Gly Phe Phe Thr
6935 6940 6945

Tyr Ile Cys Gly Phe Ile Gln Gln Lys Leu Ala Leu Gly Gly Ser
6950 6955 6960

Val Ala Ile Lys Ile Thr Glu His Ser Trp Asn Ala Asp Leu Tyr
6965 6970 6975

Lys Leu Met Gly His Phe Ala Trp Trp Thr Ala Phe Val Thr Asn
6980 6985 6990

Val Asn Ala Ser Ser Ser Glu Ala Phe Leu Ile Gly Cys Asn Tyr
6995 7000 7005

Leu Gly Lys Pro Arg Glu Gln Ile Asp Gly Tyr Val Met His Ala
7010 7015 7020

Asn Tyr Ile Phe Trp Arg Asn Thr Asn Pro Ile Gln Leu Ser Ser
7025 7030 7035

Tyr Ser Leu Phe Asp Met Ser Lys Phe Pro Leu Lys Leu Arg Gly
7040 7045 7050

Thr Ala Val Met Ser Leu Lys Glu Gly Gln Ile Asn Asp Met Ile
7055 7060 7065

Leu Ser Leu Leu Ser Lys Gly Arg Leu Ile Ile Arg Glu Asn Asn
7070 7075 7080

Arg Val Val Ile Ser Ser Asp Val Leu Val Asn Asn
7085 7090 7095

[0287]

<210> 388
<211> 4403
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 PP1a 多肽氨基酸序列. (武汉-Hu-1)

<400> 388

Glu Ser Leu Val Pro Gly Phe Asn Glu Lys Thr His Val Gln Leu Ser
1 5 10 15

Leu Pro Val Leu Gln Val Arg Asp Val Leu Val Arg Gly Phe Gly Asp
20 25 30

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

Thr Cys Gly Leu Val Glu Val Glu Lys Gly Val Leu Pro Gln Leu Glu
50 55 60

Gln Pro Tyr Val Phe Ile Lys Arg Ser Asp Ala Arg Thr Ala Pro His

65 70 75 80

Gly His Val Met Val Glu Leu Val Ala Glu Leu Glu Gly Ile Gln Tyr
85 90 95

Gly Arg Ser Gly Glu Thr Leu Gly Val Leu Val Pro His Val Gly Glu
100 105 110

Ile Pro Val Ala Tyr Arg Lys Val Leu Leu Arg Lys Asn Gly Asn Lys
115 120 125

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

Gly Asp Glu Leu Gly Thr Asp Pro Tyr Glu Asp Phe Gln Glu Asn Trp
145 150 155 160

Asn Thr Lys His Ser Ser Gly Val Thr Arg Glu Leu Met Arg Glu Leu
165 170 175

Asn Gly Gly Ala Tyr Thr Arg Tyr Val Asp Asn Asn Phe Cys Gly Pro
[0288] 180 185 190

Asp Gly Tyr Pro Leu Glu Cys Ile Lys Asp Leu Leu Ala Arg Ala Gly
195 200 205

Lys Ala Ser Cys Thr Leu Ser Glu Gln Leu Asp Phe Ile Asp Thr Lys
210 215 220

Arg Gly Val Tyr Cys Cys Arg Glu His Glu His Glu Ile Ala Trp Tyr
225 230 235 240

Thr Glu Arg Ser Glu Lys Ser Tyr Glu Leu Gln Thr Pro Phe Glu Ile
245 250 255

Lys Leu Ala Lys Lys Phe Asp Thr Phe Asn Gly Glu Cys Pro Asn Phe
260 265 270

Val Phe Pro Leu Asn Ser Ile Ile Lys Thr Ile Gln Pro Arg Val Glu
275 280 285

Lys Lys Lys Leu Asp Gly Phe Met Gly Arg Ile Arg Ser Val Tyr Pro
290 295 300

Val Ala Ser Pro Asn Glu Cys Asn Gln Met Cys Leu Ser Thr Leu Met
305 310 315 320

Lys Cys Asp His Cys Gly Glu Thr Ser Trp Gln Thr Gly Asp Phe Val
325 330 335

Lys Ala Thr Cys Glu Phe Cys Gly Thr Glu Asn Leu Thr Lys Glu Gly
340 345 350

Ala Thr Thr Cys Gly Tyr Leu Pro Gln Asn Ala Val Val Lys Ile Tyr
355 360 365

Cys Pro Ala Cys His Asn Ser Glu Val Gly Pro Glu His Ser Leu Ala
370 375 380

Glu Tyr His Asn Glu Ser Gly Leu Lys Thr Ile Leu Arg Lys Gly Gly
385 390 395 400

Arg Thr Ile Ala Phe Gly Gly Cys Val Phe Ser Tyr Val Gly Cys His
405 410 415

[0289]

Asn Lys Cys Ala Tyr Trp Val Pro Arg Ala Ser Ala Asn Ile Gly Cys
420 425 430

Asn His Thr Gly Val Val Gly Glu Gly Ser Glu Gly Leu Asn Asp Asn
435 440 445

Leu Leu Glu Ile Leu Gln Lys Glu Lys Val Asn Ile Asn Ile Val Gly
450 455 460

Asp Phe Lys Leu Asn Glu Glu Ile Ala Ile Ile Leu Ala Ser Phe Ser
465 470 475 480

Ala Ser Thr Ser Ala Phe Val Glu Thr Val Lys Gly Leu Asp Tyr Lys
485 490 495

Ala Phe Lys Gln Ile Val Glu Ser Cys Gly Asn Phe Lys Val Thr Lys
500 505 510

Gly Lys Ala Lys Lys Gly Ala Trp Asn Ile Gly Glu Gln Lys Ser Ile
515 520 525

Leu Ser Pro Leu Tyr Ala Phe Ala Ser Glu Ala Ala Arg Val Val Arg

530 535 540

Ser Ile Phe Ser Arg Thr Leu Glu Thr Ala Gln Asn Ser Val Arg Val
545 550 555 560

Leu Gln Lys Ala Ala Ile Thr Ile Leu Asp Gly Ile Ser Gln Tyr Ser
565 570 575

Leu Arg Leu Ile Asp Ala Met Met Phe Thr Ser Asp Leu Ala Thr Asn
580 585 590

Asn Leu Val Val Met Ala Tyr Ile Thr Gly Gly Val Val Gln Leu Thr
595 600 605

Ser Gln Trp Leu Thr Asn Ile Phe Gly Thr Val Tyr Glu Lys Leu Lys
610 615 620

Pro Val Leu Asp Trp Leu Glu Glu Lys Phe Lys Glu Gly Val Glu Phe
625 630 635 640

Leu Arg Asp Gly Trp Glu Ile Val Lys Phe Ile Ser Thr Cys Ala Cys
[0290] 645 650 655

Glu Ile Val Gly Gly Gln Ile Val Thr Cys Ala Lys Glu Ile Lys Glu
660 665 670

Ser Val Gln Thr Phe Phe Lys Leu Val Asn Lys Phe Leu Ala Leu Cys
675 680 685

Ala Asp Ser Ile Ile Ile Gly Gly Ala Lys Leu Lys Ala Leu Asn Leu
690 695 700

Gly Glu Thr Phe Val Thr His Ser Lys Gly Leu Tyr Arg Lys Cys Val
705 710 715 720

Lys Ser Arg Glu Glu Thr Gly Leu Leu Met Pro Leu Lys Ala Pro Lys
725 730 735

Glu Ile Ile Phe Leu Glu Gly Glu Thr Leu Pro Thr Glu Val Leu Thr
740 745 750

Glu Glu Val Val Leu Lys Thr Gly Asp Leu Gln Pro Leu Glu Gln Pro
755 760 765

Thr Ser Glu Ala Val Glu Ala Pro Leu Val Gly Thr Pro Val Cys Ile
770 775 780

Asn Gly Leu Met Leu Leu Glu Ile Lys Asp Thr Glu Lys Tyr Cys Ala
785 790 795 800

Leu Ala Pro Asn Met Met Val Thr Asn Asn Thr Phe Thr Leu Lys Gly
805 810 815

Gly Ala Pro Thr Lys Val Thr Phe Gly Asp Asp Thr Val Ile Glu Val
820 825 830

Gln Gly Tyr Lys Ser Val Asn Ile Thr Phe Glu Leu Asp Glu Arg Ile
835 840 845

Asp Lys Val Leu Asn Glu Lys Cys Ser Ala Tyr Thr Val Glu Leu Gly
850 855 860

Thr Glu Val Asn Glu Phe Ala Cys Val Val Ala Asp Ala Val Ile Lys
865 870 875 880

[0291] Thr Leu Gln Pro Val Ser Glu Leu Leu Thr Pro Leu Gly Ile Asp Leu
885 890 895

Asp Glu Trp Ser Met Ala Thr Tyr Tyr Leu Phe Asp Glu Ser Gly Glu
900 905 910

Phe Lys Leu Ala Ser His Met Tyr Cys Ser Phe Tyr Pro Pro Asp Glu
915 920 925

Asp Glu Glu Glu Gly Asp Cys Glu Glu Glu Glu Phe Glu Pro Ser Thr
930 935 940

Gln Tyr Glu Tyr Gly Thr Glu Asp Asp Tyr Gln Gly Lys Pro Leu Glu
945 950 955 960

Phe Gly Ala Thr Ser Ala Ala Leu Gln Pro Glu Glu Glu Gln Glu Glu
965 970 975

Asp Trp Leu Asp Asp Asp Ser Gln Gln Thr Val Gly Gln Gln Asp Gly
980 985 990

Ser Glu Asp Asn Gln Thr Thr Thr Ile Gln Thr Ile Val Glu Val Gln
995 1000 1005

Pro Gln Leu Glu Met Glu Leu Thr Pro Val Val Gln Thr Ile Glu
1010 1015 1020

Val Asn Ser Phe Ser Gly Tyr Leu Lys Leu Thr Asp Asn Val Tyr
1025 1030 1035

Ile Lys Asn Ala Asp Ile Val Glu Glu Ala Lys Lys Val Lys Pro
1040 1045 1050

Thr Val Val Val Asn Ala Ala Asn Val Tyr Leu Lys His Gly Gly
1055 1060 1065

Gly Val Ala Gly Ala Leu Asn Lys Ala Thr Asn Asn Ala Met Gln
1070 1075 1080

Val Glu Ser Asp Asp Tyr Ile Ala Thr Asn Gly Pro Leu Lys Val
1085 1090 1095

Gly Gly Ser Cys Val Leu Ser Gly His Asn Leu Ala Lys His Cys
1100 1105 1110

[0292] Leu His Val Val Gly Pro Asn Val Asn Lys Gly Glu Asp Ile Gln
1115 1120 1125

Leu Leu Lys Ser Ala Tyr Glu Asn Phe Asn Gln His Glu Val Leu
1130 1135 1140

Leu Ala Pro Leu Leu Ser Ala Gly Ile Phe Gly Ala Asp Pro Ile
1145 1150 1155

His Ser Leu Arg Val Cys Val Asp Thr Val Arg Thr Asn Val Tyr
1160 1165 1170

Leu Ala Val Phe Asp Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Leu Val Ser Ser
1175 1180 1185

Phe Leu Glu Met Lys Ser Glu Lys Gln Val Glu Gln Lys Ile Ala
1190 1195 1200

Glu Ile Pro Lys Glu Glu Val Lys Pro Phe Ile Thr Glu Ser Lys
1205 1210 1215

Pro Ser Val Glu Gln Arg Lys Gln Asp Asp Lys Lys Ile Lys Ala

1220 1225 1230

Cys Val Glu Glu Val Thr Thr Thr Leu Glu Glu Thr Lys Phe Leu
1235 1240 1245

Thr Glu Asn Leu Leu Leu Tyr Ile Asp Ile Asn Gly Asn Leu His
1250 1255 1260

Pro Asp Ser Ala Thr Leu Val Ser Asp Ile Asp Ile Thr Phe Leu
1265 1270 1275

Lys Lys Asp Ala Pro Tyr Ile Val Gly Asp Val Val Gln Glu Gly
1280 1285 1290

Val Leu Thr Ala Val Val Ile Pro Thr Lys Lys Ala Gly Gly Thr
1295 1300 1305

Thr Glu Met Leu Ala Lys Ala Leu Arg Lys Val Pro Thr Asp Asn
1310 1315 1320

[0293]

Tyr Ile Thr Thr Tyr Pro Gly Gln Gly Leu Asn Gly Tyr Thr Val
1325 1330 1335

Glu Glu Ala Lys Thr Val Leu Lys Lys Cys Lys Ser Ala Phe Tyr
1340 1345 1350

Ile Leu Pro Ser Ile Ile Ser Asn Glu Lys Gln Glu Ile Leu Gly
1355 1360 1365

Thr Val Ser Trp Asn Leu Arg Glu Met Leu Ala His Ala Glu Glu
1370 1375 1380

Thr Arg Lys Leu Met Pro Val Cys Val Glu Thr Lys Ala Ile Val
1385 1390 1395

Ser Thr Ile Gln Arg Lys Tyr Lys Gly Ile Lys Ile Gln Glu Gly
1400 1405 1410

Val Val Asp Tyr Gly Ala Arg Phe Tyr Phe Tyr Thr Ser Lys Thr
1415 1420 1425

Thr Val Ala Ser Leu Ile Asn Thr Leu Asn Asp Leu Asn Glu Thr
1430 1435 1440

Leu Val Thr Met Pro Leu Gly Tyr Val Thr His Gly Leu Asn Leu
1445 1450 1455

Glu Glu Ala Ala Arg Tyr Met Arg Ser Leu Lys Val Pro Ala Thr
1460 1465 1470

Val Ser Val Ser Ser Pro Asp Ala Val Thr Ala Tyr Asn Gly Tyr
1475 1480 1485

Leu Thr Ser Ser Ser Lys Thr Pro Glu Glu His Phe Ile Glu Thr
1490 1495 1500

Ile Ser Leu Ala Gly Ser Tyr Lys Asp Trp Ser Tyr Ser Gly Gln
1505 1510 1515

Ser Thr Gln Leu Gly Ile Glu Phe Leu Lys Arg Gly Asp Lys Ser
1520 1525 1530

Val Tyr Tyr Thr Ser Asn Pro Thr Thr Phe His Leu Asp Gly Glu
1535 1540 1545

[0294]

Val Ile Thr Phe Asp Asn Leu Lys Thr Leu Leu Ser Leu Arg Glu
1550 1555 1560

Val Arg Thr Ile Lys Val Phe Thr Thr Val Asp Asn Ile Asn Leu
1565 1570 1575

His Thr Gln Val Val Asp Met Ser Met Thr Tyr Gly Gln Gln Phe
1580 1585 1590

Gly Pro Thr Tyr Leu Asp Gly Ala Asp Val Thr Lys Ile Lys Pro
1595 1600 1605

His Asn Ser His Glu Gly Lys Thr Phe Tyr Val Leu Pro Asn Asp
1610 1615 1620

Asp Thr Leu Arg Val Glu Ala Phe Glu Tyr Tyr His Thr Thr Asp
1625 1630 1635

Pro Ser Phe Leu Gly Arg Tyr Met Ser Ala Leu Asn His Thr Lys
1640 1645 1650

Lys Trp Lys Tyr Pro Gln Val Asn Gly Leu Thr Ser Ile Lys Trp
1655 1660 1665

Ala Asp Asn Asn Cys Tyr Leu Ala Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gln
1670 1675 1680

Gln Ile Glu Leu Lys Phe Asn Pro Pro Ala Leu Gln Asp Ala Tyr
1685 1690 1695

Tyr Arg Ala Arg Ala Gly Glu Ala Ala Asn Phe Cys Ala Leu Ile
1700 1705 1710

Leu Ala Tyr Cys Asn Lys Thr Val Gly Glu Leu Gly Asp Val Arg
1715 1720 1725

Glu Thr Met Ser Tyr Leu Phe Gln His Ala Asn Leu Asp Ser Cys
1730 1735 1740

Lys Arg Val Leu Asn Val Val Cys Lys Thr Cys Gly Gln Gln Gln
1745 1750 1755

[0295]

Thr Thr Leu Lys Gly Val Glu Ala Val Met Tyr Met Gly Thr Leu
1760 1765 1770

Ser Tyr Glu Gln Phe Lys Lys Gly Val Gln Ile Pro Cys Thr Cys
1775 1780 1785

Gly Lys Gln Ala Thr Lys Tyr Leu Val Gln Gln Glu Ser Pro Phe
1790 1795 1800

Val Met Met Ser Ala Pro Pro Ala Gln Tyr Glu Leu Lys His Gly
1805 1810 1815

Thr Phe Thr Cys Ala Ser Glu Tyr Thr Gly Asn Tyr Gln Cys Gly
1820 1825 1830

His Tyr Lys His Ile Thr Ser Lys Glu Thr Leu Tyr Cys Ile Asp
1835 1840 1845

Gly Ala Leu Leu Thr Lys Ser Ser Glu Tyr Lys Gly Pro Ile Thr
1850 1855 1860

Asp Val Phe Tyr Lys Glu Asn Ser Tyr Thr Thr Thr Ile Lys Pro
1865 1870 1875

Val Thr Tyr Lys Leu Asp Gly Val Val Cys Thr Glu Ile Asp Pro
1880 1885 1890

Lys Leu Asp Asn Tyr Tyr Lys Lys Asp Asn Ser Tyr Phe Thr Glu
1895 1900 1905

Gln Pro Ile Asp Leu Val Pro Asn Gln Pro Tyr Pro Asn Ala Ser
1910 1915 1920

Phe Asp Asn Phe Lys Phe Val Cys Asp Asn Ile Lys Phe Ala Asp
1925 1930 1935

Asp Leu Asn Gln Leu Thr Gly Tyr Lys Lys Pro Ala Ser Arg Glu
1940 1945 1950

Leu Lys Val Thr Phe Phe Pro Asp Leu Asn Gly Asp Val Val Ala
1955 1960 1965

Ile Asp Tyr Lys His Tyr Thr Pro Ser Phe Lys Lys Gly Ala Lys
1970 1975 1980

[0296] Leu Leu His Lys Pro Ile Val Trp His Val Asn Asn Ala Thr Asn
1985 1990 1995

Lys Ala Thr Tyr Lys Pro Asn Thr Trp Cys Ile Arg Cys Leu Trp
2000 2005 2010

Ser Thr Lys Pro Val Glu Thr Ser Asn Ser Phe Asp Val Leu Lys
2015 2020 2025

Ser Glu Asp Ala Gln Gly Met Asp Asn Leu Ala Cys Glu Asp Leu
2030 2035 2040

Lys Pro Val Ser Glu Glu Val Val Glu Asn Pro Thr Ile Gln Lys
2045 2050 2055

Asp Val Leu Glu Cys Asn Val Lys Thr Thr Glu Val Val Gly Asp
2060 2065 2070

Ile Ile Leu Lys Pro Ala Asn Asn Ser Leu Lys Ile Thr Glu Glu
2075 2080 2085

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

2090 2095 2100

Leu Thr Ile Lys Lys Pro Asn Glu Leu Ser Arg Val Leu Gly Leu
2105 2110 2115

Lys Thr Leu Ala Thr His Gly Leu Ala Ala Val Asn Ser Val Pro
2120 2125 2130

Trp Asp Thr Ile Ala Asn Tyr Ala Lys Pro Phe Leu Asn Lys Val
2135 2140 2145

Val Ser Thr Thr Thr Asn Ile Val Thr Arg Cys Leu Asn Arg Val
2150 2155 2160

Cys Thr Asn Tyr Met Pro Tyr Phe Phe Thr Leu Leu Leu Gln Leu
2165 2170 2175

Cys Thr Phe Thr Arg Ser Thr Asn Ser Arg Ile Lys Ala Ser Met
2180 2185 2190

Pro Thr Thr Ile Ala Lys Asn Thr Val Lys Ser Val Gly Lys Phe
[0297] 2195 2200 2205

Cys Leu Glu Ala Ser Phe Asn Tyr Leu Lys Ser Pro Asn Phe Ser
2210 2215 2220

Lys Leu Ile Asn Ile Ile Ile Trp Phe Leu Leu Leu Ser Val Cys
2225 2230 2235

Leu Gly Ser Leu Ile Tyr Ser Thr Ala Ala Leu Gly Val Leu Met
2240 2245 2250

Ser Asn Leu Gly Met Pro Ser Tyr Cys Thr Gly Tyr Arg Glu Gly
2255 2260 2265

Tyr Leu Asn Ser Thr Asn Val Thr Ile Ala Thr Tyr Cys Thr Gly
2270 2275 2280

Ser Ile Pro Cys Ser Val Cys Leu Ser Gly Leu Asp Ser Leu Asp
2285 2290 2295

Thr Tyr Pro Ser Leu Glu Thr Ile Gln Ile Thr Ile Ser Ser Phe
2300 2305 2310

Lys Trp Asp Leu Thr Ala Phe Gly Leu Val Ala Glu Trp Phe Leu
2315 2320 2325

Ala Tyr Ile Leu Phe Thr Arg Phe Phe Tyr Val Leu Gly Leu Ala
2330 2335 2340

Ala Ile Met Gln Leu Phe Phe Ser Tyr Phe Ala Val His Phe Ile
2345 2350 2355

Ser Asn Ser Trp Leu Met Trp Leu Ile Ile Asn Leu Val Gln Met
2360 2365 2370

Ala Pro Ile Ser Ala Met Val Arg Met Tyr Ile Phe Phe Ala Ser
2375 2380 2385

Phe Tyr Tyr Val Trp Lys Ser Tyr Val His Val Val Asp Gly Cys
2390 2395 2400

Asn Ser Ser Thr Cys Met Met Cys Tyr Lys Arg Asn Arg Ala Thr
2405 2410 2415

[0298]

Arg Val Glu Cys Thr Thr Ile Val Asn Gly Val Arg Arg Ser Phe
2420 2425 2430

Tyr Val Tyr Ala Asn Gly Gly Lys Gly Phe Cys Lys Leu His Asn
2435 2440 2445

Trp Asn Cys Val Asn Cys Asp Thr Phe Cys Ala Gly Ser Thr Phe
2450 2455 2460

Ile Ser Asp Glu Val Ala Arg Asp Leu Ser Leu Gln Phe Lys Arg
2465 2470 2475

Pro Ile Asn Pro Thr Asp Gln Ser Ser Tyr Ile Val Asp Ser Val
2480 2485 2490

Thr Val Lys Asn Gly Ser Ile His Leu Tyr Phe Asp Lys Ala Gly
2495 2500 2505

Gln Lys Thr Tyr Glu Arg His Ser Leu Ser His Phe Val Asn Leu
2510 2515 2520

Asp Asn Leu Arg Ala Asn Asn Thr Lys Gly Ser Leu Pro Ile Asn
2525 2530 2535

Val Ile Val Phe Asp Gly Lys Ser Lys Cys Glu Glu Ser Ser Ala
2540 2545 2550

Lys Ser Ala Ser Val Tyr Tyr Ser Gln Leu Met Cys Gln Pro Ile
2555 2560 2565

Leu Leu Leu Asp Gln Ala Leu Val Ser Asp Val Gly Asp Ser Ala
2570 2575 2580

Glu Val Ala Val Lys Met Phe Asp Ala Tyr Val Asn Thr Phe Ser
2585 2590 2595

Ser Thr Phe Asn Val Pro Met Glu Lys Leu Lys Thr Leu Val Ala
2600 2605 2610

Thr Ala Glu Ala Glu Leu Ala Lys Asn Val Ser Leu Asp Asn Val
2615 2620 2625

Leu Ser Thr Phe Ile Ser Ala Ala Arg Gln Gly Phe Val Asp Ser
2630 2635 2640

[0299] Asp Val Glu Thr Lys Asp Val Val Glu Cys Leu Lys Leu Ser His
2645 2650 2655

Gln Ser Asp Ile Glu Val Thr Gly Asp Ser Cys Asn Asn Tyr Met
2660 2665 2670

Leu Thr Tyr Asn Lys Val Glu Asn Met Thr Pro Arg Asp Leu Gly
2675 2680 2685

Ala Cys Ile Asp Cys Ser Ala Arg His Ile Asn Ala Gln Val Ala
2690 2695 2700

Lys Ser His Asn Ile Ala Leu Ile Trp Asn Val Lys Asp Phe Met
2705 2710 2715

Ser Leu Ser Glu Gln Leu Arg Lys Gln Ile Arg Ser Ala Ala Lys
2720 2725 2730

Lys Asn Asn Leu Pro Phe Lys Leu Thr Cys Ala Thr Thr Arg Gln
2735 2740 2745

Val Val Asn Val Val Thr Thr Lys Ile Ala Leu Lys Gly Gly Lys

2750 2755 2760

Ile Val Asn Asn Trp Leu Lys Gln Leu Ile Lys Val Thr Leu Val
2765 2770 2775

Phe Leu Phe Val Ala Ala Ile Phe Tyr Leu Ile Thr Pro Val His
2780 2785 2790

Val Met Ser Lys His Thr Asp Phe Ser Ser Glu Ile Ile Gly Tyr
2795 2800 2805

Lys Ala Ile Asp Gly Gly Val Thr Arg Asp Ile Ala Ser Thr Asp
2810 2815 2820

Thr Cys Phe Ala Asn Lys His Ala Asp Phe Asp Thr Trp Phe Ser
2825 2830 2835

Gln Arg Gly Gly Ser Tyr Thr Asn Asp Lys Ala Cys Pro Leu Ile
2840 2845 2850

Ala Ala Val Ile Thr Arg Glu Val Gly Phe Val Val Pro Gly Leu
[0300] 2855 2860 2865

Pro Gly Thr Ile Leu Arg Thr Thr Asn Gly Asp Phe Leu His Phe
2870 2875 2880

Leu Pro Arg Val Phe Ser Ala Val Gly Asn Ile Cys Tyr Thr Pro
2885 2890 2895

Ser Lys Leu Ile Glu Tyr Thr Asp Phe Ala Thr Ser Ala Cys Val
2900 2905 2910

Leu Ala Ala Glu Cys Thr Ile Phe Lys Asp Ala Ser Gly Lys Pro
2915 2920 2925

Val Pro Tyr Cys Tyr Asp Thr Asn Val Leu Glu Gly Ser Val Ala
2930 2935 2940

Tyr Glu Ser Leu Arg Pro Asp Thr Arg Tyr Val Leu Met Asp Gly
2945 2950 2955

Ser Ile Ile Gln Phe Pro Asn Thr Tyr Leu Glu Gly Ser Val Arg
2960 2965 2970

Val Val Thr Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Cys Arg His Gly Thr Cys
2975 2980 2985

Glu Arg Ser Glu Ala Gly Val Cys Val Ser Thr Ser Gly Arg Trp
2990 2995 3000

Val Leu Asn Asn Asp Tyr Tyr Arg Ser Leu Pro Gly Val Phe Cys
3005 3010 3015

Gly Val Asp Ala Val Asn Leu Leu Thr Asn Met Phe Thr Pro Leu
3020 3025 3030

Ile Gln Pro Ile Gly Ala Leu Asp Ile Ser Ala Ser Ile Val Ala
3035 3040 3045

Gly Gly Ile Val Ala Ile Val Val Thr Cys Leu Ala Tyr Tyr Phe
3050 3055 3060

Met Arg Phe Arg Arg Ala Phe Gly Glu Tyr Ser His Val Val Ala
3065 3070 3075

[0301]

Phe Asn Thr Leu Leu Phe Leu Met Ser Phe Thr Val Leu Cys Leu
3080 3085 3090

Thr Pro Val Tyr Ser Phe Leu Pro Gly Val Tyr Ser Val Ile Tyr
3095 3100 3105

Leu Tyr Leu Thr Phe Tyr Leu Thr Asn Asp Val Ser Phe Leu Ala
3110 3115 3120

His Ile Gln Trp Met Val Met Phe Thr Pro Leu Val Pro Phe Trp
3125 3130 3135

Ile Thr Ile Ala Tyr Ile Ile Cys Ile Ser Thr Lys His Phe Tyr
3140 3145 3150

Trp Phe Phe Ser Asn Tyr Leu Lys Arg Arg Val Val Phe Asn Gly
3155 3160 3165

Val Ser Phe Ser Thr Phe Glu Glu Ala Ala Leu Cys Thr Phe Leu
3170 3175 3180

Leu Asn Lys Glu Met Tyr Leu Lys Leu Arg Ser Asp Val Leu Leu
3185 3190 3195

Pro Leu Thr Gln Tyr Asn Arg Tyr Leu Ala Leu Tyr Asn Lys Tyr
3200 3205 3210

Lys Tyr Phe Ser Gly Ala Met Asp Thr Thr Ser Tyr Arg Glu Ala
3215 3220 3225

Ala Cys Cys His Leu Ala Lys Ala Leu Asn Asp Phe Ser Asn Ser
3230 3235 3240

Gly Ser Asp Val Leu Tyr Gln Pro Pro Gln Thr Ser Ile Thr Ser
3245 3250 3255

Ala Val Leu Gln Ser Gly Phe Arg Lys Met Ala Phe Pro Ser Gly
3260 3265 3270

Lys Val Glu Gly Cys Met Val Gln Val Thr Cys Gly Thr Thr Thr
3275 3280 3285

Leu Asn Gly Leu Trp Leu Asp Asp Val Val Tyr Cys Pro Arg His
3290 3295 3300

[0302]

Val Ile Cys Thr Ser Glu Asp Met Leu Asn Pro Asn Tyr Glu Asp
3305 3310 3315

Leu Leu Ile Arg Lys Ser Asn His Asn Phe Leu Val Gln Ala Gly
3320 3325 3330

Asn Val Gln Leu Arg Val Ile Gly His Ser Met Gln Asn Cys Val
3335 3340 3345

Leu Lys Leu Lys Val Asp Thr Ala Asn Pro Lys Thr Pro Lys Tyr
3350 3355 3360

Lys Phe Val Arg Ile Gln Pro Gly Gln Thr Phe Ser Val Leu Ala
3365 3370 3375

Cys Tyr Asn Gly Ser Pro Ser Gly Val Tyr Gln Cys Ala Met Arg
3380 3385 3390

Pro Asn Phe Thr Ile Lys Gly Ser Phe Leu Asn Gly Ser Cys Gly
3395 3400 3405

Ser Val Gly Phe Asn Ile Asp Tyr Asp Cys Val Ser Phe Cys Tyr
3410 3415 3420

Met His His Met Glu Leu Pro Thr Gly Val His Ala Gly Thr Asp
3425 3430 3435

Leu Glu Gly Asn Phe Tyr Gly Pro Phe Val Asp Arg Gln Thr Ala
3440 3445 3450

Gln Ala Ala Gly Thr Asp Thr Thr Ile Thr Val Asn Val Leu Ala
3455 3460 3465

Trp Leu Tyr Ala Ala Val Ile Asn Gly Asp Arg Trp Phe Leu Asn
3470 3475 3480

Arg Phe Thr Thr Thr Leu Asn Asp Phe Asn Leu Val Ala Met Lys
3485 3490 3495

Tyr Asn Tyr Glu Pro Leu Thr Gln Asp His Val Asp Ile Leu Gly
3500 3505 3510

[0303]

Pro Leu Ser Ala Gln Thr Gly Ile Ala Val Leu Asp Met Cys Ala
3515 3520 3525

Ser Leu Lys Glu Leu Leu Gln Asn Gly Met Asn Gly Arg Thr Ile
3530 3535 3540

Leu Gly Ser Ala Leu Leu Glu Asp Glu Phe Thr Pro Phe Asp Val
3545 3550 3555

Val Arg Gln Cys Ser Gly Val Thr Phe Gln Ser Ala Val Lys Arg
3560 3565 3570

Thr Ile Lys Gly Thr His His Trp Leu Leu Leu Thr Ile Leu Thr
3575 3580 3585

Ser Leu Leu Val Leu Val Gln Ser Thr Gln Trp Ser Leu Phe Phe
3590 3595 3600

Phe Leu Tyr Glu Asn Ala Phe Leu Pro Phe Ala Met Gly Ile Ile
3605 3610 3615

Ala Met Ser Ala Phe Ala Met Met Phe Val Lys His Lys His Ala

3620 3625 3630

Phe Leu Cys Leu Phe Leu Leu Pro Ser Leu Ala Thr Val Ala Tyr
3635 3640 3645

Phe Asn Met Val Tyr Met Pro Ala Ser Trp Val Met Arg Ile Met
3650 3655 3660

Thr Trp Leu Asp Met Val Asp Thr Ser Leu Ser Gly Phe Lys Leu
3665 3670 3675

Lys Asp Cys Val Met Tyr Ala Ser Ala Val Val Leu Leu Ile Leu
3680 3685 3690

Met Thr Ala Arg Thr Val Tyr Asp Asp Gly Ala Arg Arg Val Trp
3695 3700 3705

Thr Leu Met Asn Val Leu Thr Leu Val Tyr Lys Val Tyr Tyr Gly
3710 3715 3720

Asn Ala Leu Asp Gln Ala Ile Ser Met Trp Ala Leu Ile Ile Ser
[0304] 3725 3730 3735

Val Thr Ser Asn Tyr Ser Gly Val Val Thr Thr Val Met Phe Leu
3740 3745 3750

Ala Arg Gly Ile Val Phe Met Cys Val Glu Tyr Cys Pro Ile Phe
3755 3760 3765

Phe Ile Thr Gly Asn Thr Leu Gln Cys Ile Met Leu Val Tyr Cys
3770 3775 3780

Phe Leu Gly Tyr Phe Cys Thr Cys Tyr Phe Gly Leu Phe Cys Leu
3785 3790 3795

Leu Asn Arg Tyr Phe Arg Leu Thr Leu Gly Val Tyr Asp Tyr Leu
3800 3805 3810

Val Ser Thr Gln Glu Phe Arg Tyr Met Asn Ser Gln Gly Leu Leu
3815 3820 3825

Pro Pro Lys Asn Ser Ile Asp Ala Phe Lys Leu Asn Ile Lys Leu
3830 3835 3840

Leu Gly Val Gly Gly Lys Pro Cys Ile Lys Val Ala Thr Val Gln
3845 3850 3855

Ser Lys Met Ser Asp Val Lys Cys Thr Ser Val Val Leu Leu Ser
3860 3865 3870

Val Leu Gln Gln Leu Arg Val Glu Ser Ser Ser Lys Leu Trp Ala
3875 3880 3885

Gln Cys Val Gln Leu His Asn Asp Ile Leu Leu Ala Lys Asp Thr
3890 3895 3900

Thr Glu Ala Phe Glu Lys Met Val Ser Leu Leu Ser Val Leu Leu
3905 3910 3915

Ser Met Gln Gly Ala Val Asp Ile Asn Lys Leu Cys Glu Glu Met
3920 3925 3930

Leu Asp Asn Arg Ala Thr Leu Gln Ala Ile Ala Ser Glu Phe Ser
3935 3940 3945

[0305]

Ser Leu Pro Ser Tyr Ala Ala Phe Ala Thr Ala Gln Glu Ala Tyr
3950 3955 3960

Glu Gln Ala Val Ala Asn Gly Asp Ser Glu Val Val Leu Lys Lys
3965 3970 3975

Leu Lys Lys Ser Leu Asn Val Ala Lys Ser Glu Phe Asp Arg Asp
3980 3985 3990

Ala Ala Met Gln Arg Lys Leu Glu Lys Met Ala Asp Gln Ala Met
3995 4000 4005

Thr Gln Met Tyr Lys Gln Ala Arg Ser Glu Asp Lys Arg Ala Lys
4010 4015 4020

Val Thr Ser Ala Met Gln Thr Met Leu Phe Thr Met Leu Arg Lys
4025 4030 4035

Leu Asp Asn Asp Ala Leu Asn Asn Ile Ile Asn Asn Ala Arg Asp
4040 4045 4050

Gly Cys Val Pro Leu Asn Ile Ile Pro Leu Thr Thr Ala Ala Lys
4055 4060 4065

Leu Met Val Val Ile Pro Asp Tyr Asn Thr Tyr Lys Asn Thr Cys
4070 4075 4080

Asp Gly Thr Thr Phe Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Trp Glu Ile Gln
4085 4090 4095

Gln Val Val Asp Ala Asp Ser Lys Ile Val Gln Leu Ser Glu Ile
4100 4105 4110

Ser Met Asp Asn Ser Pro Asn Leu Ala Trp Pro Leu Ile Val Thr
4115 4120 4125

Ala Leu Arg Ala Asn Ser Ala Val Lys Leu Gln Asn Asn Glu Leu
4130 4135 4140

Ser Pro Val Ala Leu Arg Gln Met Ser Cys Ala Ala Gly Thr Thr
4145 4150 4155

Gln Thr Ala Cys Thr Asp Asp Asn Ala Leu Ala Tyr Tyr Asn Thr
4160 4165 4170

[0306] Thr Lys Gly Gly Arg Phe Val Leu Ala Leu Leu Ser Asp Leu Gln
4175 4180 4185

Asp Leu Trp Ala Arg Phe Pro Lys Ser Asp Gly Thr Gly Thr Ile
4190 4195 4200

Tyr Thr Glu Leu Glu Pro Pro Cys Arg Phe Val Thr Asp Thr Pro
4205 4210 4215

Lys Gly Pro Lys Val Lys Tyr Leu Tyr Phe Ile Lys Gly Leu Asn
4220 4225 4230

Asn Leu Asn Arg Gly Met Val Leu Gly Ser Leu Ala Ala Thr Val
4235 4240 4245

Arg Leu Gln Ala Gly Asn Ala Thr Glu Val Pro Ala Asn Ser Thr
4250 4255 4260

Val Leu Ser Phe Cys Ala Phe Ala Val Asp Ala Ala Lys Ala Tyr
4265 4270 4275

Lys Asp Tyr Leu Ala Ser Gly Gly Gln Pro Ile Thr Asn Cys Val

4280 4285 4290

Lys Met Leu Cys Thr His Thr Gly Thr Gly Gln Ala Ile Thr Val
4295 4300 4305

Thr Pro Glu Ala Asn Met Asp Gln Glu Ser Phe Gly Gly Ala Ser
4310 4315 4320

Cys Cys Leu Tyr Cys Arg Cys His Ile Asp His Pro Asn Pro Lys
4325 4330 4335

Gly Phe Cys Asp Leu Lys Gly Lys Tyr Val Gln Ile Pro Thr Thr
4340 4345 4350

Cys Ala Asn Asp Pro Val Gly Phe Thr Leu Lys Asn Thr Val Cys
4355 4360 4365

Thr Val Cys Gly Met Trp Lys Gly Tyr Gly Cys Ser Cys Asp Gln
4370 4375 4380

Leu Arg Glu Pro Met Leu Gln Ser Ala Asp Ala Gln Ser Phe Leu
4385 4390 4395

[0307]

Asn Gly Phe Ala Val
4400

<210> 389
<211> 2762
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 NSP1-3 氨基酸序列(武汉 Hu1)

<400> 389

Glu Ser Leu Val Pro Gly Phe Asn Glu Lys Thr His Val Gln Leu Ser
1 5 10 15

Leu Pro Val Leu Gln Val Arg Asp Val Leu Val Arg Gly Phe Gly Asp
20 25 30

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

35 40 45

Thr Cys Gly Leu Val Glu Val Glu Lys Gly Val Leu Pro Gln Leu Glu
50 55 60

Gln Pro Tyr Val Phe Ile Lys Arg Ser Asp Ala Arg Thr Ala Pro His
65 70 75 80

Gly His Val Met Val Glu Leu Val Ala Glu Leu Glu Gly Ile Gln Tyr
85 90 95

Gly Arg Ser Gly Glu Thr Leu Gly Val Leu Val Pro His Val Gly Glu
100 105 110

Ile Pro Val Ala Tyr Arg Lys Val Leu Leu Arg Lys Asn Gly Asn Lys
115 120 125

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

Gly Asp Glu Leu Gly Thr Asp Pro Tyr Glu Asp Phe Gln Glu Asn Trp
[0308] 145 150 155 160

Asn Thr Lys His Ser Ser Gly Val Thr Arg Glu Leu Met Arg Glu Leu
165 170 175

Asn Gly Gly Ala Tyr Thr Arg Tyr Val Asp Asn Asn Phe Cys Gly Pro
180 185 190

Asp Gly Tyr Pro Leu Glu Cys Ile Lys Asp Leu Leu Ala Arg Ala Gly
195 200 205

Lys Ala Ser Cys Thr Leu Ser Glu Gln Leu Asp Phe Ile Asp Thr Lys
210 215 220

Arg Gly Val Tyr Cys Cys Arg Glu His Glu His Glu Ile Ala Trp Tyr
225 230 235 240

Thr Glu Arg Ser Glu Lys Ser Tyr Glu Leu Gln Thr Pro Phe Glu Ile
245 250 255

Lys Leu Ala Lys Lys Phe Asp Thr Phe Asn Gly Glu Cys Pro Asn Phe
260 265 270

Val Phe Pro Leu Asn Ser Ile Ile Lys Thr Ile Gln Pro Arg Val Glu
275 280 285

Lys Lys Lys Leu Asp Gly Phe Met Gly Arg Ile Arg Ser Val Tyr Pro
290 295 300

Val Ala Ser Pro Asn Glu Cys Asn Gln Met Cys Leu Ser Thr Leu Met
305 310 315 320

Lys Cys Asp His Cys Gly Glu Thr Ser Trp Gln Thr Gly Asp Phe Val
325 330 335

Lys Ala Thr Cys Glu Phe Cys Gly Thr Glu Asn Leu Thr Lys Glu Gly
340 345 350

Ala Thr Thr Cys Gly Tyr Leu Pro Gln Asn Ala Val Val Lys Ile Tyr
355 360 365

Cys Pro Ala Cys His Asn Ser Glu Val Gly Pro Glu His Ser Leu Ala
370 375 380

[0309]

Glu Tyr His Asn Glu Ser Gly Leu Lys Thr Ile Leu Arg Lys Gly Gly
385 390 395 400

Arg Thr Ile Ala Phe Gly Gly Cys Val Phe Ser Tyr Val Gly Cys His
405 410 415

Asn Lys Cys Ala Tyr Trp Val Pro Arg Ala Ser Ala Asn Ile Gly Cys
420 425 430

Asn His Thr Gly Val Val Gly Glu Gly Ser Glu Gly Leu Asn Asp Asn
435 440 445

Leu Leu Glu Ile Leu Gln Lys Glu Lys Val Asn Ile Asn Ile Val Gly
450 455 460

Asp Phe Lys Leu Asn Glu Glu Ile Ala Ile Ile Leu Ala Ser Phe Ser
465 470 475 480

Ala Ser Thr Ser Ala Phe Val Glu Thr Val Lys Gly Leu Asp Tyr Lys
485 490 495

Ala Phe Lys Gln Ile Val Glu Ser Cys Gly Asn Phe Lys Val Thr Lys
500 505 510

Gly Lys Ala Lys Lys Gly Ala Trp Asn Ile Gly Glu Gln Lys Ser Ile
515 520 525

Leu Ser Pro Leu Tyr Ala Phe Ala Ser Glu Ala Ala Arg Val Val Arg
530 535 540

Ser Ile Phe Ser Arg Thr Leu Glu Thr Ala Gln Asn Ser Val Arg Val
545 550 555 560

Leu Gln Lys Ala Ala Ile Thr Ile Leu Asp Gly Ile Ser Gln Tyr Ser
565 570 575

Leu Arg Leu Ile Asp Ala Met Met Phe Thr Ser Asp Leu Ala Thr Asn
580 585 590

Asn Leu Val Val Met Ala Tyr Ile Thr Gly Gly Val Val Gln Leu Thr
595 600 605

Ser Gln Trp Leu Thr Asn Ile Phe Gly Thr Val Tyr Glu Lys Leu Lys
610 615 620

[0310]

Pro Val Leu Asp Trp Leu Glu Glu Lys Phe Lys Glu Gly Val Glu Phe
625 630 635 640

Leu Arg Asp Gly Trp Glu Ile Val Lys Phe Ile Ser Thr Cys Ala Cys
645 650 655

Glu Ile Val Gly Gly Gln Ile Val Thr Cys Ala Lys Glu Ile Lys Glu
660 665 670

Ser Val Gln Thr Phe Phe Lys Leu Val Asn Lys Phe Leu Ala Leu Cys
675 680 685

Ala Asp Ser Ile Ile Ile Gly Gly Ala Lys Leu Lys Ala Leu Asn Leu
690 695 700

Gly Glu Thr Phe Val Thr His Ser Lys Gly Leu Tyr Arg Lys Cys Val
705 710 715 720

Lys Ser Arg Glu Glu Thr Gly Leu Leu Met Pro Leu Lys Ala Pro Lys
725 730 735

Glu Ile Ile Phe Leu Glu Gly Glu Thr Leu Pro Thr Glu Val Leu Thr
740 745 750

Glu Glu Val Val Leu Lys Thr Gly Asp Leu Gln Pro Leu Glu Gln Pro
755 760 765

Thr Ser Glu Ala Val Glu Ala Pro Leu Val Gly Thr Pro Val Cys Ile
770 775 780

Asn Gly Leu Met Leu Leu Glu Ile Lys Asp Thr Glu Lys Tyr Cys Ala
785 790 795 800

Leu Ala Pro Asn Met Met Val Thr Asn Asn Thr Phe Thr Leu Lys Gly
805 810 815

Gly Ala Pro Thr Lys Val Thr Phe Gly Asp Asp Thr Val Ile Glu Val
820 825 830

Gln Gly Tyr Lys Ser Val Asn Ile Thr Phe Glu Leu Asp Glu Arg Ile
835 840 845

[0311] Asp Lys Val Leu Asn Glu Lys Cys Ser Ala Tyr Thr Val Glu Leu Gly
850 855 860

Thr Glu Val Asn Glu Phe Ala Cys Val Val Ala Asp Ala Val Ile Lys
865 870 875 880

Thr Leu Gln Pro Val Ser Glu Leu Leu Thr Pro Leu Gly Ile Asp Leu
885 890 895

Asp Glu Trp Ser Met Ala Thr Tyr Tyr Leu Phe Asp Glu Ser Gly Glu
900 905 910

Phe Lys Leu Ala Ser His Met Tyr Cys Ser Phe Tyr Pro Pro Asp Glu
915 920 925

Asp Glu Glu Glu Gly Asp Cys Glu Glu Glu Glu Phe Glu Pro Ser Thr
930 935 940

Gln Tyr Glu Tyr Gly Thr Glu Asp Asp Tyr Gln Gly Lys Pro Leu Glu
945 950 955 960

Phe Gly Ala Thr Ser Ala Ala Leu Gln Pro Glu Glu Glu Gln Glu Glu
965 970 975

```
Asp Trp Leu Asp Asp Asp Ser Gln Gln Thr Val Gly Gln Gln Asp Gly
            980                 985                 990

Ser Glu Asp Asn Gln Thr Thr Thr  Ile Gln Thr Ile Val  Glu Val Gln
        995                 1000                1005

Pro Gln  Leu Glu Met Glu Leu  Thr Pro Val Val Gln  Thr Ile Glu
    1010                1015                1020

Val Asn  Ser Phe Ser Gly Tyr  Leu Lys Leu Thr Asp  Asn Val Tyr
    1025                1030                1035

Ile Lys  Asn Ala Asp Ile Val  Glu Glu Ala Lys Lys  Val Lys Pro
    1040                1045                1050


Thr Val  Val Val Asn Ala Ala  Asn Val Tyr Leu Lys  His Gly Gly
    1055                1060                1065

Gly Val  Ala Gly Ala Leu Asn  Lys Ala Thr Asn Asn  Ala Met Gln
    1070                1075                1080
```

[0312]

```
Val Glu  Ser Asp Asp Tyr Ile  Ala Thr Asn Gly Pro  Leu Lys Val
    1085                1090                1095

Gly Gly  Ser Cys Val Leu Ser  Gly His Asn Leu Ala  Lys His Cys
    1100                1105                1110

Leu His  Val Val Gly Pro Asn  Val Asn Lys Gly Glu  Asp Ile Gln
    1115                1120                1125

Leu Leu  Lys Ser Ala Tyr Glu  Asn Phe Asn Gln His  Glu Val Leu
    1130                1135                1140

Leu Ala  Pro Leu Leu Ser Ala  Gly Ile Phe Gly Ala  Asp Pro Ile
    1145                1150                1155

His Ser  Leu Arg Val Cys Val  Asp Thr Val Arg Thr  Asn Val Tyr
    1160                1165                1170

Leu Ala  Val Phe Asp Lys Asn  Leu Tyr Asp Lys Leu  Val Ser Ser
    1175                1180                1185
```

Phe Leu Glu Met Lys Ser Glu Lys Gln Val Glu Gln Lys Ile Ala
1190 1195 1200

Glu Ile Pro Lys Glu Glu Val Lys Pro Phe Ile Thr Glu Ser Lys
1205 1210 1215

Pro Ser Val Glu Gln Arg Lys Gln Asp Asp Lys Lys Ile Lys Ala
1220 1225 1230

Cys Val Glu Glu Val Thr Thr Thr Leu Glu Glu Thr Lys Phe Leu
1235 1240 1245

Thr Glu Asn Leu Leu Leu Tyr Ile Asp Ile Asn Gly Asn Leu His
1250 1255 1260

Pro Asp Ser Ala Thr Leu Val Ser Asp Ile Asp Ile Thr Phe Leu
1265 1270 1275

Lys Lys Asp Ala Pro Tyr Ile Val Gly Asp Val Val Gln Glu Gly
1280 1285 1290

[0313]

Val Leu Thr Ala Val Val Ile Pro Thr Lys Lys Ala Gly Gly Thr
1295 1300 1305

Thr Glu Met Leu Ala Lys Ala Leu Arg Lys Val Pro Thr Asp Asn
1310 1315 1320

Tyr Ile Thr Thr Tyr Pro Gly Gln Gly Leu Asn Gly Tyr Thr Val
1325 1330 1335

Glu Glu Ala Lys Thr Val Leu Lys Lys Cys Lys Ser Ala Phe Tyr
1340 1345 1350

Ile Leu Pro Ser Ile Ile Ser Asn Glu Lys Gln Glu Ile Leu Gly
1355 1360 1365

Thr Val Ser Trp Asn Leu Arg Glu Met Leu Ala His Ala Glu Glu
1370 1375 1380

Thr Arg Lys Leu Met Pro Val Cys Val Glu Thr Lys Ala Ile Val
1385 1390 1395

Ser Thr Ile Gln Arg Lys Tyr Lys Gly Ile Lys Ile Gln Glu Gly
1400 1405 1410

Val Val Asp Tyr Gly Ala Arg Phe Tyr Phe Tyr Thr Ser Lys Thr
1415 1420 1425

Thr Val Ala Ser Leu Ile Asn Thr Leu Asn Asp Leu Asn Glu Thr
1430 1435 1440

Leu Val Thr Met Pro Leu Gly Tyr Val Thr His Gly Leu Asn Leu
1445 1450 1455

Glu Glu Ala Ala Arg Tyr Met Arg Ser Leu Lys Val Pro Ala Thr
1460 1465 1470

Val Ser Val Ser Ser Pro Asp Ala Val Thr Ala Tyr Asn Gly Tyr
1475 1480 1485

Leu Thr Ser Ser Ser Lys Thr Pro Glu Glu His Phe Ile Glu Thr
1490 1495 1500

Ile Ser Leu Ala Gly Ser Tyr Lys Asp Trp Ser Tyr Ser Gly Gln
1505 1510 1515

[0314] Ser Thr Gln Leu Gly Ile Glu Phe Leu Lys Arg Gly Asp Lys Ser
1520 1525 1530

Val Tyr Tyr Thr Ser Asn Pro Thr Thr Phe His Leu Asp Gly Glu
1535 1540 1545

Val Ile Thr Phe Asp Asn Leu Lys Thr Leu Leu Ser Leu Arg Glu
1550 1555 1560

Val Arg Thr Ile Lys Val Phe Thr Thr Val Asp Asn Ile Asn Leu
1565 1570 1575

His Thr Gln Val Val Asp Met Ser Met Thr Tyr Gly Gln Gln Phe
1580 1585 1590

Gly Pro Thr Tyr Leu Asp Gly Ala Asp Val Thr Lys Ile Lys Pro
1595 1600 1605

His Asn Ser His Glu Gly Lys Thr Phe Tyr Val Leu Pro Asn Asp
1610 1615 1620

Asp Thr Leu Arg Val Glu Ala Phe Glu Tyr Tyr His Thr Thr Asp

1625 1630 1635

Pro Ser Phe Leu Gly Arg Tyr Met Ser Ala Leu Asn His Thr Lys
1640 1645 1650

Lys Trp Lys Tyr Pro Gln Val Asn Gly Leu Thr Ser Ile Lys Trp
1655 1660 1665

Ala Asp Asn Asn Cys Tyr Leu Ala Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gln
1670 1675 1680

Gln Ile Glu Leu Lys Phe Asn Pro Pro Ala Leu Gln Asp Ala Tyr
1685 1690 1695

Tyr Arg Ala Arg Ala Gly Glu Ala Ala Asn Phe Cys Ala Leu Ile
1700 1705 1710

Leu Ala Tyr Cys Asn Lys Thr Val Gly Glu Leu Gly Asp Val Arg
1715 1720 1725

Glu Thr Met Ser Tyr Leu Phe Gln His Ala Asn Leu Asp Ser Cys
[0315] 1730 1735 1740

Lys Arg Val Leu Asn Val Val Cys Lys Thr Cys Gly Gln Gln Gln
1745 1750 1755

Thr Thr Leu Lys Gly Val Glu Ala Val Met Tyr Met Gly Thr Leu
1760 1765 1770

Ser Tyr Glu Gln Phe Lys Lys Gly Val Gln Ile Pro Cys Thr Cys
1775 1780 1785

Gly Lys Gln Ala Thr Lys Tyr Leu Val Gln Gln Glu Ser Pro Phe
1790 1795 1800

Val Met Met Ser Ala Pro Pro Ala Gln Tyr Glu Leu Lys His Gly
1805 1810 1815

Thr Phe Thr Cys Ala Ser Glu Tyr Thr Gly Asn Tyr Gln Cys Gly
1820 1825 1830

His Tyr Lys His Ile Thr Ser Lys Glu Thr Leu Tyr Cys Ile Asp
1835 1840 1845

Gly Ala Leu Leu Thr Lys Ser Ser Glu Tyr Lys Gly Pro Ile Thr
1850 1855 1860

Asp Val Phe Tyr Lys Glu Asn Ser Tyr Thr Thr Thr Ile Lys Pro
1865 1870 1875

Val Thr Tyr Lys Leu Asp Gly Val Val Cys Thr Glu Ile Asp Pro
1880 1885 1890

Lys Leu Asp Asn Tyr Tyr Lys Lys Asp Asn Ser Tyr Phe Thr Glu
1895 1900 1905

Gln Pro Ile Asp Leu Val Pro Asn Gln Pro Tyr Pro Asn Ala Ser
1910 1915 1920

Phe Asp Asn Phe Lys Phe Val Cys Asp Asn Ile Lys Phe Ala Asp
1925 1930 1935

Asp Leu Asn Gln Leu Thr Gly Tyr Lys Lys Pro Ala Ser Arg Glu
1940 1945 1950

[0316]

Leu Lys Val Thr Phe Phe Pro Asp Leu Asn Gly Asp Val Val Ala
1955 1960 1965

Ile Asp Tyr Lys His Tyr Thr Pro Ser Phe Lys Lys Gly Ala Lys
1970 1975 1980

Leu Leu His Lys Pro Ile Val Trp His Val Asn Asn Ala Thr Asn
1985 1990 1995

Lys Ala Thr Tyr Lys Pro Asn Thr Trp Cys Ile Arg Cys Leu Trp
2000 2005 2010

Ser Thr Lys Pro Val Glu Thr Ser Asn Ser Phe Asp Val Leu Lys
2015 2020 2025

Ser Glu Asp Ala Gln Gly Met Asp Asn Leu Ala Cys Glu Asp Leu
2030 2035 2040

Lys Pro Val Ser Glu Glu Val Val Glu Asn Pro Thr Ile Gln Lys
2045 2050 2055

Asp Val Leu Glu Cys Asn Val Lys Thr Thr Glu Val Val Gly Asp
2060 2065 2070

Ile Ile Leu Lys Pro Ala Asn Asn Ser Leu Lys Ile Thr Glu Glu
2075 2080 2085

Val Gly His Thr Asp Leu Met Ala Ala Tyr Val Asp Asn Ser Ser
2090 2095 2100

Leu Thr Ile Lys Lys Pro Asn Glu Leu Ser Arg Val Leu Gly Leu
2105 2110 2115

Lys Thr Leu Ala Thr His Gly Leu Ala Ala Val Asn Ser Val Pro
2120 2125 2130

Trp Asp Thr Ile Ala Asn Tyr Ala Lys Pro Phe Leu Asn Lys Val
2135 2140 2145

Val Ser Thr Thr Thr Asn Ile Val Thr Arg Cys Leu Asn Arg Val
2150 2155 2160

Cys Thr Asn Tyr Met Pro Tyr Phe Phe Thr Leu Leu Leu Gln Leu
2165 2170 2175

[0317] Cys Thr Phe Thr Arg Ser Thr Asn Ser Arg Ile Lys Ala Ser Met
2180 2185 2190

Pro Thr Thr Ile Ala Lys Asn Thr Val Lys Ser Val Gly Lys Phe
2195 2200 2205

Cys Leu Glu Ala Ser Phe Asn Tyr Leu Lys Ser Pro Asn Phe Ser
2210 2215 2220

Lys Leu Ile Asn Ile Ile Ile Trp Phe Leu Leu Leu Ser Val Cys
2225 2230 2235

Leu Gly Ser Leu Ile Tyr Ser Thr Ala Ala Leu Gly Val Leu Met
2240 2245 2250

Ser Asn Leu Gly Met Pro Ser Tyr Cys Thr Gly Tyr Arg Glu Gly
2255 2260 2265

Tyr Leu Asn Ser Thr Asn Val Thr Ile Ala Thr Tyr Cys Thr Gly
2270 2275 2280

Ser Ile Pro Cys Ser Val Cys Leu Ser Gly Leu Asp Ser Leu Asp

2285 2290 2295

Thr Tyr Pro Ser Leu Glu Thr Ile Gln Ile Thr Ile Ser Ser Phe
2300 2305 2310

Lys Trp Asp Leu Thr Ala Phe Gly Leu Val Ala Glu Trp Phe Leu
2315 2320 2325

Ala Tyr Ile Leu Phe Thr Arg Phe Phe Tyr Val Leu Gly Leu Ala
2330 2335 2340

Ala Ile Met Gln Leu Phe Phe Ser Tyr Phe Ala Val His Phe Ile
2345 2350 2355

Ser Asn Ser Trp Leu Met Trp Leu Ile Ile Asn Leu Val Gln Met
2360 2365 2370

Ala Pro Ile Ser Ala Met Val Arg Met Tyr Ile Phe Phe Ala Ser
2375 2380 2385

Phe Tyr Tyr Val Trp Lys Ser Tyr Val His Val Val Asp Gly Cys
[0318] 2390 2395 2400

Asn Ser Ser Thr Cys Met Met Cys Tyr Lys Arg Asn Arg Ala Thr
2405 2410 2415

Arg Val Glu Cys Thr Thr Ile Val Asn Gly Val Arg Arg Ser Phe
2420 2425 2430

Tyr Val Tyr Ala Asn Gly Gly Lys Gly Phe Cys Lys Leu His Asn
2435 2440 2445

Trp Asn Cys Val Asn Cys Asp Thr Phe Cys Ala Gly Ser Thr Phe
2450 2455 2460

Ile Ser Asp Glu Val Ala Arg Asp Leu Ser Leu Gln Phe Lys Arg
2465 2470 2475

Pro Ile Asn Pro Thr Asp Gln Ser Ser Tyr Ile Val Asp Ser Val
2480 2485 2490

Thr Val Lys Asn Gly Ser Ile His Leu Tyr Phe Asp Lys Ala Gly
2495 2500 2505

Gln Lys Thr Tyr Glu Arg His Ser Leu Ser His Phe Val Asn Leu
2510 2515 2520

Asp Asn Leu Arg Ala Asn Asn Thr Lys Gly Ser Leu Pro Ile Asn
2525 2530 2535

Val Ile Val Phe Asp Gly Lys Ser Lys Cys Glu Glu Ser Ser Ala
2540 2545 2550

Lys Ser Ala Ser Val Tyr Tyr Ser Gln Leu Met Cys Gln Pro Ile
2555 2560 2565

Leu Leu Leu Asp Gln Ala Leu Val Ser Asp Val Gly Asp Ser Ala
2570 2575 2580

Glu Val Ala Val Lys Met Phe Asp Ala Tyr Val Asn Thr Phe Ser
2585 2590 2595

Ser Thr Phe Asn Val Pro Met Glu Lys Leu Lys Thr Leu Val Ala
2600 2605 2610

[0319]

Thr Ala Glu Ala Glu Leu Ala Lys Asn Val Ser Leu Asp Asn Val
2615 2620 2625

Leu Ser Thr Phe Ile Ser Ala Ala Arg Gln Gly Phe Val Asp Ser
2630 2635 2640

Asp Val Glu Thr Lys Asp Val Val Glu Cys Leu Lys Leu Ser His
2645 2650 2655

Gln Ser Asp Ile Glu Val Thr Gly Asp Ser Cys Asn Asn Tyr Met
2660 2665 2670

Leu Thr Tyr Asn Lys Val Glu Asn Met Thr Pro Arg Asp Leu Gly
2675 2680 2685

Ala Cys Ile Asp Cys Ser Ala Arg His Ile Asn Ala Gln Val Ala
2690 2695 2700

Lys Ser His Asn Ile Ala Leu Ile Trp Asn Val Lys Asp Phe Met
2705 2710 2715

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

2720 2725 2730

Lys Asn Asn Leu Pro Phe Lys Leu Thr Cys Ala Thr Thr Arg Gln
2735 2740 2745

Val Val Asn Val Val Thr Thr Lys Ile Ala Leu Lys Gly Gly
2750 2755 2760

<210> 390
<211> 1642
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 NSP4-11 氨基酸序列(武汉 Hu1)

<400> 390

Lys Ile Val Asn Asn Trp Leu Lys Gln Leu Ile Lys Val Thr Leu Val
1 5 10 15

[0320]

Phe Leu Phe Val Ala Ala Ile Phe Tyr Leu Ile Thr Pro Val His Val
20 25 30

Met Ser Lys His Thr Asp Phe Ser Ser Glu Ile Ile Gly Tyr Lys Ala
35 40 45

Ile Asp Gly Gly Val Thr Arg Asp Ile Ala Ser Thr Asp Thr Cys Phe
50 55 60

Ala Asn Lys His Ala Asp Phe Asp Thr Trp Phe Ser Gln Arg Gly Gly
65 70 75 80

Ser Tyr Thr Asn Asp Lys Ala Cys Pro Leu Ile Ala Ala Val Ile Thr
85 90 95

Arg Glu Val Gly Phe Val Val Pro Gly Leu Pro Gly Thr Ile Leu Arg
100 105 110

Thr Thr Asn Gly Asp Phe Leu His Phe Leu Pro Arg Val Phe Ser Ala
115 120 125

Val Gly Asn Ile Cys Tyr Thr Pro Ser Lys Leu Ile Glu Tyr Thr Asp
130 135 140

Phe Ala Thr Ser Ala Cys Val Leu Ala Ala Glu Cys Thr Ile Phe Lys
145 150 155 160

Asp Ala Ser Gly Lys Pro Val Pro Tyr Cys Tyr Asp Thr Asn Val Leu
165 170 175

Glu Gly Ser Val Ala Tyr Glu Ser Leu Arg Pro Asp Thr Arg Tyr Val
180 185 190

Leu Met Asp Gly Ser Ile Ile Gln Phe Pro Asn Thr Tyr Leu Glu Gly
195 200 205

Ser Val Arg Val Val Thr Thr Phe Asp Ser Glu Tyr Cys Arg His Gly
210 215 220

Thr Cys Glu Arg Ser Glu Ala Gly Val Cys Val Ser Thr Ser Gly Arg
225 230 235 240

Trp Val Leu Asn Asn Asp Tyr Tyr Arg Ser Leu Pro Gly Val Phe Cys
245 250 255

[0321] Gly Val Asp Ala Val Asn Leu Leu Thr Asn Met Phe Thr Pro Leu Ile
260 265 270

Gln Pro Ile Gly Ala Leu Asp Ile Ser Ala Ser Ile Val Ala Gly Gly
275 280 285

Ile Val Ala Ile Val Val Thr Cys Leu Ala Tyr Tyr Phe Met Arg Phe
290 295 300

Arg Arg Ala Phe Gly Glu Tyr Ser His Val Val Ala Phe Asn Thr Leu
305 310 315 320

Leu Phe Leu Met Ser Phe Thr Val Leu Cys Leu Thr Pro Val Tyr Ser
325 330 335

Phe Leu Pro Gly Val Tyr Ser Val Ile Tyr Leu Tyr Leu Thr Phe Tyr
340 345 350

Leu Thr Asn Asp Val Ser Phe Leu Ala His Ile Gln Trp Met Val Met
355 360 365

Phe Thr Pro Leu Val Pro Phe Trp Ile Thr Ile Ala Tyr Ile Ile Cys

370 375 380

Ile Ser Thr Lys His Phe Tyr Trp Phe Phe Ser Asn Tyr Leu Lys Arg
385 390 395 400

Arg Val Val Phe Asn Gly Val Ser Phe Ser Thr Phe Glu Glu Ala Ala
405 410 415

Leu Cys Thr Phe Leu Leu Asn Lys Glu Met Tyr Leu Lys Leu Arg Ser
420 425 430

Asp Val Leu Leu Pro Leu Thr Gln Tyr Asn Arg Tyr Leu Ala Leu Tyr
435 440 445

Asn Lys Tyr Lys Tyr Phe Ser Gly Ala Met Asp Thr Thr Ser Tyr Arg
450 455 460

Glu Ala Ala Cys Cys His Leu Ala Lys Ala Leu Asn Asp Phe Ser Asn
465 470 475 480

Ser Gly Ser Asp Val Leu Tyr Gln Pro Pro Gln Thr Ser Ile Thr Ser
[0322] 485 490 495

Ala Val Leu Gln Ser Gly Phe Arg Lys Met Ala Phe Pro Ser Gly Lys
500 505 510

Val Glu Gly Cys Met Val Gln Val Thr Cys Gly Thr Thr Thr Leu Asn
515 520 525

Gly Leu Trp Leu Asp Asp Val Val Tyr Cys Pro Arg His Val Ile Cys
530 535 540

Thr Ser Glu Asp Met Leu Asn Pro Asn Tyr Glu Asp Leu Leu Ile Arg
545 550 555 560

Lys Ser Asn His Asn Phe Leu Val Gln Ala Gly Asn Val Gln Leu Arg
565 570 575

Val Ile Gly His Ser Met Gln Asn Cys Val Leu Lys Leu Lys Val Asp
580 585 590

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

Gly Gln Thr Phe Ser Val Leu Ala Cys Tyr Asn Gly Ser Pro Ser Gly
610 615 620

Val Tyr Gln Cys Ala Met Arg Pro Asn Phe Thr Ile Lys Gly Ser Phe
625 630 635 640

Leu Asn Gly Ser Cys Gly Ser Val Gly Phe Asn Ile Asp Tyr Asp Cys
645 650 655

Val Ser Phe Cys Tyr Met His His Met Glu Leu Pro Thr Gly Val His
660 665 670

Ala Gly Thr Asp Leu Glu Gly Asn Phe Tyr Gly Pro Phe Val Asp Arg
675 680 685

Gln Thr Ala Gln Ala Ala Gly Thr Asp Thr Thr Ile Thr Val Asn Val
690 695 700

Leu Ala Trp Leu Tyr Ala Ala Val Ile Asn Gly Asp Arg Trp Phe Leu
705 710 715 720

[0323] Asn Arg Phe Thr Thr Thr Leu Asn Asp Phe Asn Leu Val Ala Met Lys
725 730 735

Tyr Asn Tyr Glu Pro Leu Thr Gln Asp His Val Asp Ile Leu Gly Pro
740 745 750

Leu Ser Ala Gln Thr Gly Ile Ala Val Leu Asp Met Cys Ala Ser Leu
755 760 765

Lys Glu Leu Leu Gln Asn Gly Met Asn Gly Arg Thr Ile Leu Gly Ser
770 775 780

Ala Leu Leu Glu Asp Glu Phe Thr Pro Phe Asp Val Val Arg Gln Cys
785 790 795 800

Ser Gly Val Thr Phe Gln Ser Ala Val Lys Arg Thr Ile Lys Gly Thr
805 810 815

His His Trp Leu Leu Leu Thr Ile Leu Thr Ser Leu Leu Val Leu Val
820 825 830

Gln Ser Thr Gln Trp Ser Leu Phe Phe Phe Leu Tyr Glu Asn Ala Phe
835 840 845

Leu Pro Phe Ala Met Gly Ile Ile Ala Met Ser Ala Phe Ala Met Met
850 855 860

Phe Val Lys His Lys His Ala Phe Leu Cys Leu Phe Leu Leu Pro Ser
865 870 875 880

Leu Ala Thr Val Ala Tyr Phe Asn Met Val Tyr Met Pro Ala Ser Trp
885 890 895

Val Met Arg Ile Met Thr Trp Leu Asp Met Val Asp Thr Ser Leu Ser
900 905 910

Gly Phe Lys Leu Lys Asp Cys Val Met Tyr Ala Ser Ala Val Val Leu
915 920 925

Leu Ile Leu Met Thr Ala Arg Thr Val Tyr Asp Asp Gly Ala Arg Arg
930 935 940

Val Trp Thr Leu Met Asn Val Leu Thr Leu Val Tyr Lys Val Tyr Tyr
945 950 955 960

[0324] Gly Asn Ala Leu Asp Gln Ala Ile Ser Met Trp Ala Leu Ile Ile Ser
965 970 975

Val Thr Ser Asn Tyr Ser Gly Val Val Thr Thr Val Met Phe Leu Ala
980 985 990

Arg Gly Ile Val Phe Met Cys Val Glu Tyr Cys Pro Ile Phe Phe Ile
995 1000 1005

Thr Gly Asn Thr Leu Gln Cys Ile Met Leu Val Tyr Cys Phe Leu
1010 1015 1020

Gly Tyr Phe Cys Thr Cys Tyr Phe Gly Leu Phe Cys Leu Leu Asn
1025 1030 1035

Arg Tyr Phe Arg Leu Thr Leu Gly Val Tyr Asp Tyr Leu Val Ser
1040 1045 1050

Thr Gln Glu Phe Arg Tyr Met Asn Ser Gln Gly Leu Leu Pro Pro
1055 1060 1065

Lys Asn Ser Ile Asp Ala Phe Lys Leu Asn Ile Lys Leu Leu Gly

1070 1075 1080

Val Gly Gly Lys Pro Cys Ile Lys Val Ala Thr Val Gln Ser Lys
1085 1090 1095

Met Ser Asp Val Lys Cys Thr Ser Val Val Leu Leu Ser Val Leu
1100 1105 1110

Gln Gln Leu Arg Val Glu Ser Ser Ser Lys Leu Trp Ala Gln Cys
1115 1120 1125

Val Gln Leu His Asn Asp Ile Leu Leu Ala Lys Asp Thr Thr Glu
1130 1135 1140

Ala Phe Glu Lys Met Val Ser Leu Leu Ser Val Leu Leu Ser Met
1145 1150 1155

Gln Gly Ala Val Asp Ile Asn Lys Leu Cys Glu Glu Met Leu Asp
1160 1165 1170

Asn Arg Ala Thr Leu Gln Ala Ile Ala Ser Glu Phe Ser Ser Leu
[0325] 1175 1180 1185

Pro Ser Tyr Ala Ala Phe Ala Thr Ala Gln Glu Ala Tyr Glu Gln
1190 1195 1200

Ala Val Ala Asn Gly Asp Ser Glu Val Val Leu Lys Lys Leu Lys
1205 1210 1215

Lys Ser Leu Asn Val Ala Lys Ser Glu Phe Asp Arg Asp Ala Ala
1220 1225 1230

Met Gln Arg Lys Leu Glu Lys Met Ala Asp Gln Ala Met Thr Gln
1235 1240 1245

Met Tyr Lys Gln Ala Arg Ser Glu Asp Lys Arg Ala Lys Val Thr
1250 1255 1260

Ser Ala Met Gln Thr Met Leu Phe Thr Met Leu Arg Lys Leu Asp
1265 1270 1275

Asn Asp Ala Leu Asn Asn Ile Ile Asn Asn Ala Arg Asp Gly Cys
1280 1285 1290

Val Pro Leu Asn Ile Ile Pro Leu Thr Thr Ala Ala Lys Leu Met
1295 1300 1305

Val Val Ile Pro Asp Tyr Asn Thr Tyr Lys Asn Thr Cys Asp Gly
1310 1315 1320

Thr Thr Phe Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Trp Glu Ile Gln Gln Val
1325 1330 1335

Val Asp Ala Asp Ser Lys Ile Val Gln Leu Ser Glu Ile Ser Met
1340 1345 1350

Asp Asn Ser Pro Asn Leu Ala Trp Pro Leu Ile Val Thr Ala Leu
1355 1360 1365

Arg Ala Asn Ser Ala Val Lys Leu Gln Asn Asn Glu Leu Ser Pro
1370 1375 1380

Val Ala Leu Arg Gln Met Ser Cys Ala Ala Gly Thr Thr Gln Thr
1385 1390 1395

[0326]

Ala Cys Thr Asp Asp Asn Ala Leu Ala Tyr Tyr Asn Thr Thr Lys
1400 1405 1410

Gly Gly Arg Phe Val Leu Ala Leu Leu Ser Asp Leu Gln Asp Leu
1415 1420 1425

Lys Trp Ala Arg Phe Pro Lys Ser Asp Gly Thr Gly Thr Ile Tyr
1430 1435 1440

Thr Glu Leu Glu Pro Pro Cys Arg Phe Val Thr Asp Thr Pro Lys
1445 1450 1455

Gly Pro Lys Val Lys Tyr Leu Tyr Phe Ile Lys Gly Leu Asn Asn
1460 1465 1470

Leu Asn Arg Gly Met Val Leu Gly Ser Leu Ala Ala Thr Val Arg
1475 1480 1485

Leu Gln Ala Gly Asn Ala Thr Glu Val Pro Ala Asn Ser Thr Val
1490 1495 1500

Leu Ser Phe Cys Ala Phe Ala Val Asp Ala Ala Lys Ala Tyr Lys
1505 1510 1515

Asp Tyr Leu Ala Ser Gly Gly Gln Pro Ile Thr Asn Cys Val Lys
1520 1525 1530

Met Leu Cys Thr His Thr Gly Thr Gly Gln Ala Ile Thr Val Thr
1535 1540 1545

Pro Glu Ala Asn Met Asp Gln Glu Ser Phe Gly Gly Ala Ser Cys
1550 1555 1560

Cys Leu Tyr Cys Arg Cys His Ile Asp His Pro Asn Pro Lys Gly
1565 1570 1575

Phe Cys Asp Leu Lys Gly Lys Tyr Val Gln Ile Pro Thr Thr Cys
1580 1585 1590

Ala Asn Asp Pro Val Gly Phe Thr Leu Lys Asn Thr Val Cys Thr
1595 1600 1605

Val Cys Gly Met Trp Lys Gly Tyr Gly Cys Ser Cys Asp Gln Leu
1610 1615 1620

[0327]

Arg Glu Pro Met Leu Gln Ser Ala Asp Ala Gln Ser Phe Leu Asn
1625 1630 1635

Gly Phe Ala Val
1640

<210> 391
<211> 2704
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 ORF1b 多蛋白 NSP12-16 氨基酸序列(武汉 Hu1)

<400> 391

Ser Ala Asp Ala Gln Ser Phe Leu Asn Arg Val Cys Gly Val Ser Ala
1 5 10 15

Ala Arg Leu Thr Pro Cys Gly Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Val Tyr
20 25 30

Arg Ala Phe Asp Ile Tyr Asn Asp Lys Val Ala Gly Phe Ala Lys Phe
35 40 45

Leu Lys Thr Asn Cys Cys Arg Phe Gln Glu Lys Asp Glu Asp Asp Asn
50 55 60

Leu Ile Asp Ser Tyr Phe Val Val Lys Arg His Thr Phe Ser Asn Tyr
65 70 75 80

Gln His Glu Glu Thr Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Asp Cys Pro Ala Val
85 90 95

Ala Lys His Asp Phe Phe Lys Phe Arg Ile Asp Gly Asp Met Val Pro
100 105 110

His Ile Ser Arg Gln Arg Leu Thr Lys Tyr Thr Met Ala Asp Leu Val
115 120 125

Tyr Ala Leu Arg His Phe Asp Glu Gly Asn Cys Asp Thr Leu Lys Glu
130 135 140

[0328]

Ile Leu Val Thr Tyr Asn Cys Cys Asp Asp Asp Tyr Phe Asn Lys Lys
145 150 155 160

Asp Trp Tyr Asp Phe Val Glu Asn Pro Asp Ile Leu Arg Val Tyr Ala
165 170 175

Asn Leu Gly Glu Arg Val Arg Gln Ala Leu Leu Lys Thr Val Gln Phe
180 185 190

Cys Asp Ala Met Arg Asn Ala Gly Ile Val Gly Val Leu Thr Leu Asp
195 200 205

Asn Gln Asp Leu Asn Gly Asn Trp Tyr Asp Phe Gly Asp Phe Ile Gln
210 215 220

Thr Thr Pro Gly Ser Gly Val Pro Val Val Asp Ser Tyr Tyr Ser Leu
225 230 235 240

Leu Met Pro Ile Leu Thr Leu Thr Arg Ala Leu Thr Ala Glu Ser His
245 250 255

Val Asp Thr Asp Leu Thr Lys Pro Tyr Ile Lys Trp Asp Leu Leu Lys
260 265 270

Tyr Asp Phe Thr Glu Glu Arg Leu Lys Leu Phe Asp Arg Tyr Phe Lys
275 280 285

Tyr Trp Asp Gln Thr Tyr His Pro Asn Cys Val Asn Cys Leu Asp Asp
290 295 300

Arg Cys Ile Leu His Cys Ala Asn Phe Asn Val Leu Phe Ser Thr Val
305 310 315 320

Phe Pro Pro Thr Ser Phe Gly Pro Leu Val Arg Lys Ile Phe Val Asp
325 330 335

Gly Val Pro Phe Val Val Ser Thr Gly Tyr His Phe Arg Glu Leu Gly
340 345 350

Val Val His Asn Gln Asp Val Asn Leu His Ser Ser Arg Leu Ser Phe
355 360 365

Lys Glu Leu Leu Val Tyr Ala Ala Asp Pro Ala Met His Ala Ala Ser
370 375 380

[0329] Gly Asn Leu Leu Leu Asp Lys Arg Thr Thr Cys Phe Ser Val Ala Ala
385 390 395 400

Leu Thr Asn Asn Val Ala Phe Gln Thr Val Lys Pro Gly Asn Phe Asn
405 410 415

Lys Asp Phe Tyr Asp Phe Ala Val Ser Lys Gly Phe Phe Lys Glu Gly
420 425 430

Ser Ser Val Glu Leu Lys His Phe Phe Phe Ala Gln Asp Gly Asn Ala
435 440 445

Ala Ile Ser Asp Tyr Asp Tyr Tyr Arg Tyr Asn Leu Pro Thr Met Cys
450 455 460

Asp Ile Arg Gln Leu Leu Phe Val Val Glu Val Val Asp Lys Tyr Phe
465 470 475 480

Asp Cys Tyr Asp Gly Gly Cys Ile Asn Ala Asn Gln Val Ile Val Asn
485 490 495

Asn Leu Asp Lys Ser Ala Gly Phe Pro Phe Asn Lys Trp Gly Lys Ala

500 505 510

Arg Leu Tyr Tyr Asp Ser Met Ser Tyr Glu Asp Gln Asp Ala Leu Phe
515 520 525

Ala Tyr Thr Lys Arg Asn Val Ile Pro Thr Ile Thr Gln Met Asn Leu
530 535 540

Lys Tyr Ala Ile Ser Ala Lys Asn Arg Ala Arg Thr Val Ala Gly Val
545 550 555 560

Ser Ile Cys Ser Thr Met Thr Asn Arg Gln Phe His Gln Lys Leu Leu
565 570 575

Lys Ser Ile Ala Ala Thr Arg Gly Ala Thr Val Val Ile Gly Thr Ser
580 585 590

Lys Phe Tyr Gly Gly Trp His Asn Met Leu Lys Thr Val Tyr Ser Asp
595 600 605

Val Glu Asn Pro His Leu Met Gly Trp Asp Tyr Pro Lys Cys Asp Arg
[0330] 610 615 620

Ala Met Pro Asn Met Leu Arg Ile Met Ala Ser Leu Val Leu Ala Arg
625 630 635 640

Lys His Thr Thr Cys Cys Ser Leu Ser His Arg Phe Tyr Arg Leu Ala
645 650 655

Asn Glu Cys Ala Gln Val Leu Ser Glu Met Val Met Cys Gly Gly Ser
660 665 670

Leu Tyr Val Lys Pro Gly Gly Thr Ser Ser Gly Asp Ala Thr Thr Ala
675 680 685

Tyr Ala Asn Ser Val Phe Asn Ile Cys Gln Ala Val Thr Ala Asn Val
690 695 700

Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asp Gly Asn Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Val
705 710 715 720

Arg Asn Leu Gln His Arg Leu Tyr Glu Cys Leu Tyr Arg Asn Arg Asp
725 730 735

Val Asp Thr Asp Phe Val Asn Glu Phe Tyr Ala Tyr Leu Arg Lys His
740 745 750

Phe Ser Met Met Ile Leu Ser Asp Asp Ala Val Val Cys Phe Asn Ser
755 760 765

Thr Tyr Ala Ser Gln Gly Leu Val Ala Ser Ile Lys Asn Phe Lys Ser
770 775 780

Val Leu Tyr Tyr Gln Asn Asn Val Phe Met Ser Glu Ala Lys Cys Trp
785 790 795 800

Thr Glu Thr Asp Leu Thr Lys Gly Pro His Glu Phe Cys Ser Gln His
805 810 815

Thr Met Leu Val Lys Gln Gly Asp Asp Tyr Val Tyr Leu Pro Tyr Pro
820 825 830

Asp Pro Ser Arg Ile Leu Gly Ala Gly Cys Phe Val Asp Asp Ile Val
835 840 845

[0331]

Lys Thr Asp Gly Thr Leu Met Ile Glu Arg Phe Val Ser Leu Ala Ile
850 855 860

Asp Ala Tyr Pro Leu Thr Lys His Pro Asn Gln Glu Tyr Ala Asp Val
865 870 875 880

Phe His Leu Tyr Leu Gln Tyr Ile Arg Lys Leu His Asp Glu Leu Thr
885 890 895

Gly His Met Leu Asp Met Tyr Ser Val Met Leu Thr Asn Asp Asn Thr
900 905 910

Ser Arg Tyr Trp Glu Pro Glu Phe Tyr Glu Ala Met Tyr Thr Pro His
915 920 925

Thr Val Leu Gln Ala Val Gly Ala Cys Val Leu Cys Asn Ser Gln Thr
930 935 940

Ser Leu Arg Cys Gly Ala Cys Ile Arg Arg Pro Phe Leu Cys Cys Lys
945 950 955 960

Cys Cys Tyr Asp His Val Ile Ser Thr Ser His Lys Leu Val Leu Ser
965 970 975

```
Val Asn Pro Tyr Val Cys Asn Ala Pro Gly Cys Asp Val Thr Asp Val
            980                 985                 990

Thr Gln Leu Tyr Leu Gly Gly Met  Ser Tyr Tyr Cys Lys  Ser His Lys
        995                1000                1005

Pro Pro  Ile Ser Phe Pro Leu  Cys Ala Asn Gly Gln  Val Phe Gly
    1010                1015                1020

Leu Tyr  Lys Asn Thr Cys Val  Gly Ser Asp Asn Val  Thr Asp Phe
    1025                1030                1035

Asn Ala  Ile Ala Thr Cys Asp  Trp Thr Asn Ala Gly  Asp Tyr Ile
    1040                1045                1050

Leu Ala  Asn Thr Cys Thr Glu  Arg Leu Lys Leu Phe  Ala Ala Glu
    1055                1060                1065

Thr Leu  Lys Ala Thr Glu Glu  Thr Phe Lys Leu Ser  Tyr Gly Ile
    1070                1075                1080
```

[0332]

```
Ala Thr  Val Arg Glu Val Leu  Ser Asp Arg Glu Leu  His Leu Ser
    1085                1090                1095

Trp Glu  Val Gly Lys Pro Arg  Pro Pro Leu Asn Arg  Asn Tyr Val
    1100                1105                1110

Phe Thr  Gly Tyr Arg Val Thr  Lys Asn Ser Lys Val  Gln Ile Gly
    1115                1120                1125

Glu Tyr  Thr Phe Glu Lys Gly  Asp Tyr Gly Asp Ala  Val Val Tyr
    1130                1135                1140

Arg Gly  Thr Thr Thr Tyr Lys  Leu Asn Val Gly Asp  Tyr Phe Val
    1145                1150                1155

Leu Thr  Ser His Thr Val Met  Pro Leu Ser Ala Pro  Thr Leu Val
    1160                1165                1170

Pro Gln  Glu His Tyr Val Arg  Ile Thr Gly Leu Tyr  Pro Thr Leu
    1175                1180                1185

Asn Ile  Ser Asp Glu Phe Ser  Ser Asn Val Ala Asn  Tyr Gln Lys
```

1190 1195 1200

Val Gly Met Gln Lys Tyr Ser Thr Leu Gln Gly Pro Pro Gly Thr
1205 1210 1215

Gly Lys Ser His Phe Ala Ile Gly Leu Ala Leu Tyr Tyr Pro Ser
1220 1225 1230

Ala Arg Ile Val Tyr Thr Ala Cys Ser His Ala Ala Val Asp Ala
1235 1240 1245

Leu Cys Glu Lys Ala Leu Lys Tyr Leu Pro Ile Asp Lys Cys Ser
1250 1255 1260

Arg Ile Ile Pro Ala Arg Ala Arg Val Glu Cys Phe Asp Lys Phe
1265 1270 1275

Lys Val Asn Ser Thr Leu Glu Gln Tyr Val Phe Cys Thr Val Asn
1280 1285 1290

Ala Leu Pro Glu Thr Thr Ala Asp Ile Val Val Phe Asp Glu Ile
[0333] 1295 1300 1305

Ser Met Ala Thr Asn Tyr Asp Leu Ser Val Val Asn Ala Arg Leu
1310 1315 1320

Arg Ala Lys His Tyr Val Tyr Ile Gly Asp Pro Ala Gln Leu Pro
1325 1330 1335

Ala Pro Arg Thr Leu Leu Thr Lys Gly Thr Leu Glu Pro Glu Tyr
1340 1345 1350

Phe Asn Ser Val Cys Arg Leu Met Lys Thr Ile Gly Pro Asp Met
1355 1360 1365

Phe Leu Gly Thr Cys Arg Arg Cys Pro Ala Glu Ile Val Asp Thr
1370 1375 1380

Val Ser Ala Leu Val Tyr Asp Asn Lys Leu Lys Ala His Lys Asp
1385 1390 1395

Lys Ser Ala Gln Cys Phe Lys Met Phe Tyr Lys Gly Val Ile Thr
1400 1405 1410

His Asp Val Ser Ser Ala Ile Asn Arg Pro Gln Ile Gly Val Val
1415 1420 1425

Arg Glu Phe Leu Thr Arg Asn Pro Ala Trp Arg Lys Ala Val Phe
1430 1435 1440

Ile Ser Pro Tyr Asn Ser Gln Asn Ala Val Ala Ser Lys Ile Leu
1445 1450 1455

Gly Leu Pro Thr Gln Thr Val Asp Ser Ser Gln Gly Ser Glu Tyr
1460 1465 1470

Asp Tyr Val Ile Phe Thr Gln Thr Thr Glu Thr Ala His Ser Cys
1475 1480 1485

Asn Val Asn Arg Phe Asn Val Ala Ile Thr Arg Ala Lys Val Gly
1490 1495 1500

Ile Leu Cys Ile Met Ser Asp Arg Asp Leu Tyr Asp Lys Leu Gln
1505 1510 1515

[0334]

Phe Thr Ser Leu Glu Ile Pro Arg Arg Asn Val Ala Thr Leu Gln
1520 1525 1530

Ala Glu Asn Val Thr Gly Leu Phe Lys Asp Cys Ser Lys Val Ile
1535 1540 1545

Thr Gly Leu His Pro Thr Gln Ala Pro Thr His Leu Ser Val Asp
1550 1555 1560

Thr Lys Phe Lys Thr Glu Gly Leu Cys Val Asp Ile Pro Gly Ile
1565 1570 1575

Pro Lys Asp Met Thr Tyr Arg Arg Leu Ile Ser Met Met Gly Phe
1580 1585 1590

Lys Met Asn Tyr Gln Val Asn Gly Tyr Pro Asn Met Phe Ile Thr
1595 1600 1605

Arg Glu Glu Ala Ile Arg His Val Arg Ala Trp Ile Gly Phe Asp
1610 1615 1620

Val Glu Gly Cys His Ala Thr Arg Glu Ala Val Gly Thr Asn Leu
1625 1630 1635

Pro Leu Gln Leu Gly Phe Ser Thr Gly Val Asn Leu Val Ala Val
1640 1645 1650

Pro Thr Gly Tyr Val Asp Thr Pro Asn Asn Thr Asp Phe Ser Arg
1655 1660 1665

Val Ser Ala Lys Pro Pro Pro Gly Asp Gln Phe Lys His Leu Ile
1670 1675 1680

Pro Leu Met Tyr Lys Gly Leu Pro Trp Asn Val Val Arg Ile Lys
1685 1690 1695

Ile Val Gln Met Leu Ser Asp Thr Leu Lys Asn Leu Ser Asp Arg
1700 1705 1710

Val Val Phe Val Leu Trp Ala His Gly Phe Glu Leu Thr Ser Met
1715 1720 1725

Lys Tyr Phe Val Lys Ile Gly Pro Glu Arg Thr Cys Cys Leu Cys
1730 1735 1740

[0335] Asp Arg Arg Ala Thr Cys Phe Ser Thr Ala Ser Asp Thr Tyr Ala
1745 1750 1755

Cys Trp His His Ser Ile Gly Phe Asp Tyr Val Tyr Asn Pro Phe
1760 1765 1770

Met Ile Asp Val Gln Gln Trp Gly Phe Thr Gly Asn Leu Gln Ser
1775 1780 1785

Asn His Asp Leu Tyr Cys Gln Val His Gly Asn Ala His Val Ala
1790 1795 1800

Ser Cys Asp Ala Ile Met Thr Arg Cys Leu Ala Val His Glu Cys
1805 1810 1815

Phe Val Lys Arg Val Asp Trp Thr Ile Glu Tyr Pro Ile Ile Gly
1820 1825 1830

Asp Glu Leu Lys Ile Asn Ala Ala Cys Arg Lys Val Gln His Met
1835 1840 1845

Val Val Lys Ala Ala Leu Leu Ala Asp Lys Phe Pro Val Leu His

1850 1855 1860

Asp Ile Gly Asn Pro Lys Ala Ile Lys Cys Val Pro Gln Ala Asp
1865 1870 1875

Val Glu Trp Lys Phe Tyr Asp Ala Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala
1880 1885 1890

Tyr Lys Ile Glu Glu Leu Phe Tyr Ser Tyr Ala Thr His Ser Asp
1895 1900 1905

Lys Phe Thr Asp Gly Val Cys Leu Phe Trp Asn Cys Asn Val Asp
1910 1915 1920

Arg Tyr Pro Ala Asn Ser Ile Val Cys Arg Phe Asp Thr Arg Val
1925 1930 1935

Leu Ser Asn Leu Asn Leu Pro Gly Cys Asp Gly Gly Ser Leu Tyr
1940 1945 1950

Val Asn Lys His Ala Phe His Thr Pro Ala Phe Asp Lys Ser Ala
[0336] 1955 1960 1965

Phe Val Asn Leu Lys Gln Leu Pro Phe Phe Tyr Tyr Ser Asp Ser
1970 1975 1980

Pro Cys Glu Ser His Gly Lys Gln Val Val Ser Asp Ile Asp Tyr
1985 1990 1995

Val Pro Leu Lys Ser Ala Thr Cys Ile Thr Arg Cys Asn Leu Gly
2000 2005 2010

Gly Ala Val Cys Arg His His Ala Asn Glu Tyr Arg Leu Tyr Leu
2015 2020 2025

Asp Ala Tyr Asn Met Met Ile Ser Ala Gly Phe Ser Leu Trp Val
2030 2035 2040

Tyr Lys Gln Phe Asp Thr Tyr Asn Leu Trp Asn Thr Phe Thr Arg
2045 2050 2055

Leu Gln Ser Leu Glu Asn Val Ala Phe Asn Val Val Asn Lys Gly
2060 2065 2070

His Phe Asp Gly Gln Gln Gly Glu Val Pro Val Ser Ile Ile Asn
2075 2080 2085

Asn Thr Val Tyr Thr Lys Val Asp Gly Val Asp Val Glu Leu Phe
2090 2095 2100

Glu Asn Lys Thr Thr Leu Pro Val Asn Val Ala Phe Glu Leu Trp
2105 2110 2115

Ala Lys Arg Asn Ile Lys Pro Val Pro Glu Val Lys Ile Leu Asn
2120 2125 2130

Asn Leu Gly Val Asp Ile Ala Ala Asn Thr Val Ile Trp Asp Tyr
2135 2140 2145

Lys Arg Asp Ala Pro Ala His Ile Ser Thr Ile Gly Val Cys Ser
2150 2155 2160

Met Thr Asp Ile Ala Lys Lys Pro Thr Glu Thr Ile Cys Ala Pro
2165 2170 2175

[0337]

Leu Thr Val Phe Phe Asp Gly Arg Val Asp Gly Gln Val Asp Leu
2180 2185 2190

Phe Arg Asn Ala Arg Asn Gly Val Leu Ile Thr Glu Gly Ser Val
2195 2200 2205

Lys Gly Leu Gln Pro Ser Val Gly Pro Lys Gln Ala Ser Leu Asn
2210 2215 2220

Gly Val Thr Leu Ile Gly Glu Ala Val Lys Thr Gln Phe Asn Tyr
2225 2230 2235

Tyr Lys Lys Val Asp Gly Val Val Gln Gln Leu Pro Glu Thr Tyr
2240 2245 2250

Phe Thr Gln Ser Arg Asn Leu Gln Glu Phe Lys Pro Arg Ser Gln
2255 2260 2265

Met Glu Ile Asp Phe Leu Glu Leu Ala Met Asp Glu Phe Ile Glu
2270 2275 2280

Arg Tyr Lys Leu Glu Gly Tyr Ala Phe Glu His Ile Val Tyr Gly
2285 2290 2295

Asp Phe Ser His Ser Gln Leu Gly Gly Leu His Leu Leu Ile Gly
2300 2305 2310

Leu Ala Lys Arg Phe Lys Glu Ser Pro Phe Glu Leu Glu Asp Phe
2315 2320 2325

Ile Pro Met Asp Ser Thr Val Lys Asn Tyr Phe Ile Thr Asp Ala
2330 2335 2340

Gln Thr Gly Ser Ser Lys Cys Val Cys Ser Val Ile Asp Leu Leu
2345 2350 2355

Leu Asp Asp Phe Val Glu Ile Ile Lys Ser Gln Asp Leu Ser Val
2360 2365 2370

Val Ser Lys Val Val Lys Val Thr Ile Asp Tyr Thr Glu Ile Ser
2375 2380 2385

Phe Met Leu Trp Cys Lys Asp Gly His Val Glu Thr Phe Tyr Pro
2390 2395 2400

[0338] Lys Leu Gln Ser Ser Gln Ala Trp Gln Pro Gly Val Ala Met Pro
2405 2410 2415

Asn Leu Tyr Lys Met Gln Arg Met Leu Leu Glu Lys Cys Asp Leu
2420 2425 2430

Gln Asn Tyr Gly Asp Ser Ala Thr Leu Pro Lys Gly Ile Met Met
2435 2440 2445

Asn Val Ala Lys Tyr Thr Gln Leu Cys Gln Tyr Leu Asn Thr Leu
2450 2455 2460

Thr Leu Ala Val Pro Tyr Asn Met Arg Val Ile His Phe Gly Ala
2465 2470 2475

Gly Ser Asp Lys Gly Val Ala Pro Gly Thr Ala Val Leu Arg Gln
2480 2485 2490

Trp Leu Pro Thr Gly Thr Leu Leu Val Asp Ser Asp Leu Asn Asp
2495 2500 2505

Phe Val Ser Asp Ala Asp Ser Thr Leu Ile Gly Asp Cys Ala Thr

2510 2515 2520

Val His Thr Ala Asn Lys Trp Asp Leu Ile Ile Ser Asp Met Tyr
2525 2530 2535

Asp Pro Lys Thr Lys Asn Val Thr Lys Glu Asn Asp Ser Lys Glu
2540 2545 2550

Gly Phe Phe Thr Tyr Ile Cys Gly Phe Ile Gln Gln Lys Leu Ala
2555 2560 2565

Leu Gly Gly Ser Val Ala Ile Lys Ile Thr Glu His Ser Trp Asn
2570 2575 2580

Ala Asp Leu Tyr Lys Leu Met Gly His Phe Ala Trp Trp Thr Ala
2585 2590 2595

Phe Val Thr Asn Val Asn Ala Ser Ser Ser Glu Ala Phe Leu Ile
2600 2605 2610

Gly Cys Asn Tyr Leu Gly Lys Pro Arg Glu Gln Ile Asp Gly Tyr
2615 2620 2625

[0339]

Val Met His Ala Asn Tyr Ile Phe Trp Arg Asn Thr Asn Pro Ile
2630 2635 2640

Gln Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Phe Asp Met Ser Lys Phe Pro Leu
2645 2650 2655

Lys Leu Arg Gly Thr Ala Val Met Ser Leu Lys Glu Gly Gln Ile
2660 2665 2670

Asn Asp Met Ile Leu Ser Leu Leu Ser Lys Gly Arg Leu Ile Ile
2675 2680 2685

Arg Glu Asn Asn Arg Val Val Ile Ser Ser Asp Val Leu Val Asn
2690 2695 2700

Asn

<210> 392
<211> 932
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 NSP12 氨基酸序列(武汉 Hu1)

<400> 392

Ser Ala Asp Ala Gln Ser Phe Leu Asn Arg Val Cys Gly Val Ser Ala
1 5 10 15

Ala Arg Leu Thr Pro Cys Gly Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Val Tyr
20 25 30

Arg Ala Phe Asp Ile Tyr Asn Asp Lys Val Ala Gly Phe Ala Lys Phe
35 40 45

Leu Lys Thr Asn Cys Cys Arg Phe Gln Glu Lys Asp Glu Asp Asp Asn
50 55 60

Leu Ile Asp Ser Tyr Phe Val Val Lys Arg His Thr Phe Ser Asn Tyr
65 70 75 80

[0340]

Gln His Glu Glu Thr Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Asp Cys Pro Ala Val
85 90 95

Ala Lys His Asp Phe Phe Lys Phe Arg Ile Asp Gly Asp Met Val Pro
100 105 110

His Ile Ser Arg Gln Arg Leu Thr Lys Tyr Thr Met Ala Asp Leu Val
115 120 125

Tyr Ala Leu Arg His Phe Asp Glu Gly Asn Cys Asp Thr Leu Lys Glu
130 135 140

Ile Leu Val Thr Tyr Asn Cys Cys Asp Asp Asp Tyr Phe Asn Lys Lys
145 150 155 160

Asp Trp Tyr Asp Phe Val Glu Asn Pro Asp Ile Leu Arg Val Tyr Ala
165 170 175

Asn Leu Gly Glu Arg Val Arg Gln Ala Leu Leu Lys Thr Val Gln Phe
180 185 190

Cys Asp Ala Met Arg Asn Ala Gly Ile Val Gly Val Leu Thr Leu Asp

195 200 205

Asn Gln Asp Leu Asn Gly Asn Trp Tyr Asp Phe Gly Asp Phe Ile Gln
210 215 220

Thr Thr Pro Gly Ser Gly Val Pro Val Val Asp Ser Tyr Tyr Ser Leu
225 230 235 240

Leu Met Pro Ile Leu Thr Leu Thr Arg Ala Leu Thr Ala Glu Ser His
245 250 255

Val Asp Thr Asp Leu Thr Lys Pro Tyr Ile Lys Trp Asp Leu Leu Lys
260 265 270

Tyr Asp Phe Thr Glu Glu Arg Leu Lys Leu Phe Asp Arg Tyr Phe Lys
275 280 285

Tyr Trp Asp Gln Thr Tyr His Pro Asn Cys Val Asn Cys Leu Asp Asp
290 295 300

Arg Cys Ile Leu His Cys Ala Asn Phe Asn Val Leu Phe Ser Thr Val
[0341] 305 310 315 320

Phe Pro Pro Thr Ser Phe Gly Pro Leu Val Arg Lys Ile Phe Val Asp
325 330 335

Gly Val Pro Phe Val Val Ser Thr Gly Tyr His Phe Arg Glu Leu Gly
340 345 350

Val Val His Asn Gln Asp Val Asn Leu His Ser Ser Arg Leu Ser Phe
355 360 365

Lys Glu Leu Leu Val Tyr Ala Ala Asp Pro Ala Met His Ala Ala Ser
370 375 380

Gly Asn Leu Leu Leu Asp Lys Arg Thr Thr Cys Phe Ser Val Ala Ala
385 390 395 400

Leu Thr Asn Asn Val Ala Phe Gln Thr Val Lys Pro Gly Asn Phe Asn
405 410 415

Lys Asp Phe Tyr Asp Phe Ala Val Ser Lys Gly Phe Phe Lys Glu Gly
420 425 430

Ser Ser Val Glu Leu Lys His Phe Phe Phe Ala Gln Asp Gly Asn Ala
435 440 445

Ala Ile Ser Asp Tyr Asp Tyr Tyr Arg Tyr Asn Leu Pro Thr Met Cys
450 455 460

Asp Ile Arg Gln Leu Leu Phe Val Val Glu Val Val Asp Lys Tyr Phe
465 470 475 480

Asp Cys Tyr Asp Gly Gly Cys Ile Asn Ala Asn Gln Val Ile Val Asn
485 490 495

Asn Leu Asp Lys Ser Ala Gly Phe Pro Phe Asn Lys Trp Gly Lys Ala
500 505 510

Arg Leu Tyr Tyr Asp Ser Met Ser Tyr Glu Asp Gln Asp Ala Leu Phe
515 520 525

Ala Tyr Thr Lys Arg Asn Val Ile Pro Thr Ile Thr Gln Met Asn Leu
530 535 540

[0342]

Lys Tyr Ala Ile Ser Ala Lys Asn Arg Ala Arg Thr Val Ala Gly Val
545 550 555 560

Ser Ile Cys Ser Thr Met Thr Asn Arg Gln Phe His Gln Lys Leu Leu
565 570 575

Lys Ser Ile Ala Ala Thr Arg Gly Ala Thr Val Val Ile Gly Thr Ser
580 585 590

Lys Phe Tyr Gly Gly Trp His Asn Met Leu Lys Thr Val Tyr Ser Asp
595 600 605

Val Glu Asn Pro His Leu Met Gly Trp Asp Tyr Pro Lys Cys Asp Arg
610 615 620

Ala Met Pro Asn Met Leu Arg Ile Met Ala Ser Leu Val Leu Ala Arg
625 630 635 640

Lys His Thr Thr Cys Cys Ser Leu Ser His Arg Phe Tyr Arg Leu Ala
645 650 655

Asn Glu Cys Ala Gln Val Leu Ser Glu Met Val Met Cys Gly Gly Ser
660 665 670

Leu Tyr Val Lys Pro Gly Gly Thr Ser Ser Gly Asp Ala Thr Thr Ala
675 680 685

Tyr Ala Asn Ser Val Phe Asn Ile Cys Gln Ala Val Thr Ala Asn Val
690 695 700

Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asp Gly Asn Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Val
705 710 715 720

Arg Asn Leu Gln His Arg Leu Tyr Glu Cys Leu Tyr Arg Asn Arg Asp
725 730 735

Val Asp Thr Asp Phe Val Asn Glu Phe Tyr Ala Tyr Leu Arg Lys His
740 745 750

Phe Ser Met Met Ile Leu Ser Asp Asp Ala Val Val Cys Phe Asn Ser
755 760 765

Thr Tyr Ala Ser Gln Gly Leu Val Ala Ser Ile Lys Asn Phe Lys Ser
770 775 780

[0343] Val Leu Tyr Tyr Gln Asn Asn Val Phe Met Ser Glu Ala Lys Cys Trp
785 790 795 800

Thr Glu Thr Asp Leu Thr Lys Gly Pro His Glu Phe Cys Ser Gln His
805 810 815

Thr Met Leu Val Lys Gln Gly Asp Asp Tyr Val Tyr Leu Pro Tyr Pro
820 825 830

Asp Pro Ser Arg Ile Leu Gly Ala Gly Cys Phe Val Asp Asp Ile Val
835 840 845

Lys Thr Asp Gly Thr Leu Met Ile Glu Arg Phe Val Ser Leu Ala Ile
850 855 860

Asp Ala Tyr Pro Leu Thr Lys His Pro Asn Gln Glu Tyr Ala Asp Val
865 870 875 880

Phe His Leu Tyr Leu Gln Tyr Ile Arg Lys Leu His Asp Glu Leu Thr
885 890 895

Gly His Met Leu Asp Met Tyr Ser Val Met Leu Thr Asn Asp Asn Thr

900 905 910

Ser Arg Tyr Trp Glu Pro Glu Phe Tyr Glu Ala Met Tyr Thr Pro His
915 920 925

Thr Val Leu Gln
930

<210> 393
<211> 1128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 NSP13-14 氨基酸序列(武汉 Hu1)

<400> 393

Ala Val Gly Ala Cys Val Leu Cys Asn Ser Gln Thr Ser Leu Arg Cys
1 5 10 15

[0344]

Gly Ala Cys Ile Arg Arg Pro Phe Leu Cys Cys Lys Cys Cys Tyr Asp
20 25 30

His Val Ile Ser Thr Ser His Lys Leu Val Leu Ser Val Asn Pro Tyr
35 40 45

Val Cys Asn Ala Pro Gly Cys Asp Val Thr Asp Val Thr Gln Leu Tyr
50 55 60

Leu Gly Gly Met Ser Tyr Tyr Cys Lys Ser His Lys Pro Pro Ile Ser
65 70 75 80

Phe Pro Leu Cys Ala Asn Gly Gln Val Phe Gly Leu Tyr Lys Asn Thr
85 90 95

Cys Val Gly Ser Asp Asn Val Thr Asp Phe Asn Ala Ile Ala Thr Cys
100 105 110

Asp Trp Thr Asn Ala Gly Asp Tyr Ile Leu Ala Asn Thr Cys Thr Glu
115 120 125

Arg Leu Lys Leu Phe Ala Ala Glu Thr Leu Lys Ala Thr Glu Glu Thr
130 135 140

Phe Lys Leu Ser Tyr Gly Ile Ala Thr Val Arg Glu Val Leu Ser Asp
145 150 155 160

Arg Glu Leu His Leu Ser Trp Glu Val Gly Lys Pro Arg Pro Pro Leu
165 170 175

Asn Arg Asn Tyr Val Phe Thr Gly Tyr Arg Val Thr Lys Asn Ser Lys
180 185 190

Val Gln Ile Gly Glu Tyr Thr Phe Glu Lys Gly Asp Tyr Gly Asp Ala
195 200 205

Val Val Tyr Arg Gly Thr Thr Thr Tyr Lys Leu Asn Val Gly Asp Tyr
210 215 220

Phe Val Leu Thr Ser His Thr Val Met Pro Leu Ser Ala Pro Thr Leu
225 230 235 240

Val Pro Gln Glu His Tyr Val Arg Ile Thr Gly Leu Tyr Pro Thr Leu
245 250 255

[0345] Asn Ile Ser Asp Glu Phe Ser Ser Asn Val Ala Asn Tyr Gln Lys Val
260 265 270

Gly Met Gln Lys Tyr Ser Thr Leu Gln Gly Pro Pro Gly Thr Gly Lys
275 280 285

Ser His Phe Ala Ile Gly Leu Ala Leu Tyr Tyr Pro Ser Ala Arg Ile
290 295 300

Val Tyr Thr Ala Cys Ser His Ala Ala Val Asp Ala Leu Cys Glu Lys
305 310 315 320

Ala Leu Lys Tyr Leu Pro Ile Asp Lys Cys Ser Arg Ile Ile Pro Ala
325 330 335

Arg Ala Arg Val Glu Cys Phe Asp Lys Phe Lys Val Asn Ser Thr Leu
340 345 350

Glu Gln Tyr Val Phe Cys Thr Val Asn Ala Leu Pro Glu Thr Thr Ala
355 360 365

Asp Ile Val Val Phe Asp Glu Ile Ser Met Ala Thr Asn Tyr Asp Leu

370 375 380

Ser Val Val Asn Ala Arg Leu Arg Ala Lys His Tyr Val Tyr Ile Gly
385 390 395 400

Asp Pro Ala Gln Leu Pro Ala Pro Arg Thr Leu Leu Thr Lys Gly Thr
405 410 415

Leu Glu Pro Glu Tyr Phe Asn Ser Val Cys Arg Leu Met Lys Thr Ile
420 425 430

Gly Pro Asp Met Phe Leu Gly Thr Cys Arg Arg Cys Pro Ala Glu Ile
435 440 445

Val Asp Thr Val Ser Ala Leu Val Tyr Asp Asn Lys Leu Lys Ala His
450 455 460

Lys Asp Lys Ser Ala Gln Cys Phe Lys Met Phe Tyr Lys Gly Val Ile
465 470 475 480

Thr His Asp Val Ser Ser Ala Ile Asn Arg Pro Gln Ile Gly Val Val
[0346] 485 490 495

Arg Glu Phe Leu Thr Arg Asn Pro Ala Trp Arg Lys Ala Val Phe Ile
500 505 510

Ser Pro Tyr Asn Ser Gln Asn Ala Val Ala Ser Lys Ile Leu Gly Leu
515 520 525

Pro Thr Gln Thr Val Asp Ser Ser Gln Gly Ser Glu Tyr Asp Tyr Val
530 535 540

Ile Phe Thr Gln Thr Thr Glu Thr Ala His Ser Cys Asn Val Asn Arg
545 550 555 560

Phe Asn Val Ala Ile Thr Arg Ala Lys Val Gly Ile Leu Cys Ile Met
565 570 575

Ser Asp Arg Asp Leu Tyr Asp Lys Leu Gln Phe Thr Ser Leu Glu Ile
580 585 590

Pro Arg Arg Asn Val Ala Thr Leu Gln Ala Glu Asn Val Thr Gly Leu
595 600 605

Phe Lys Asp Cys Ser Lys Val Ile Thr Gly Leu His Pro Thr Gln Ala
610 615 620

Pro Thr His Leu Ser Val Asp Thr Lys Phe Lys Thr Glu Gly Leu Cys
625 630 635 640

Val Asp Ile Pro Gly Ile Pro Lys Asp Met Thr Tyr Arg Arg Leu Ile
645 650 655

Ser Met Met Gly Phe Lys Met Asn Tyr Gln Val Asn Gly Tyr Pro Asn
660 665 670

Met Phe Ile Thr Arg Glu Glu Ala Ile Arg His Val Arg Ala Trp Ile
675 680 685

Gly Phe Asp Val Glu Gly Cys His Ala Thr Arg Glu Ala Val Gly Thr
690 695 700

Asn Leu Pro Leu Gln Leu Gly Phe Ser Thr Gly Val Asn Leu Val Ala
705 710 715 720

[0347] Val Pro Thr Gly Tyr Val Asp Thr Pro Asn Asn Thr Asp Phe Ser Arg
725 730 735

Val Ser Ala Lys Pro Pro Pro Gly Asp Gln Phe Lys His Leu Ile Pro
740 745 750

Leu Met Tyr Lys Gly Leu Pro Trp Asn Val Val Arg Ile Lys Ile Val
755 760 765

Gln Met Leu Ser Asp Thr Leu Lys Asn Leu Ser Asp Arg Val Val Phe
770 775 780

Val Leu Trp Ala His Gly Phe Glu Leu Thr Ser Met Lys Tyr Phe Val
785 790 795 800

Lys Ile Gly Pro Glu Arg Thr Cys Cys Leu Cys Asp Arg Arg Ala Thr
805 810 815

Cys Phe Ser Thr Ala Ser Asp Thr Tyr Ala Cys Trp His His Ser Ile
820 825 830

Gly Phe Asp Tyr Val Tyr Asn Pro Phe Met Ile Asp Val Gln Gln Trp
835 840 845

Gly Phe Thr Gly Asn Leu Gln Ser Asn His Asp Leu Tyr Cys Gln Val
850 855 860

His Gly Asn Ala His Val Ala Ser Cys Asp Ala Ile Met Thr Arg Cys
865 870 875 880

Leu Ala Val His Glu Cys Phe Val Lys Arg Val Asp Trp Thr Ile Glu
885 890 895

Tyr Pro Ile Ile Gly Asp Glu Leu Lys Ile Asn Ala Ala Cys Arg Lys
900 905 910

Val Gln His Met Val Val Lys Ala Ala Leu Leu Ala Asp Lys Phe Pro
915 920 925

Val Leu His Asp Ile Gly Asn Pro Lys Ala Ile Lys Cys Val Pro Gln
930 935 940

Ala Asp Val Glu Trp Lys Phe Tyr Asp Ala Gln Pro Cys Ser Asp Lys
945 950 955 960

[0348] Ala Tyr Lys Ile Glu Glu Leu Phe Tyr Ser Tyr Ala Thr His Ser Asp
965 970 975

Lys Phe Thr Asp Gly Val Cys Leu Phe Trp Asn Cys Asn Val Asp Arg
980 985 990

Tyr Pro Ala Asn Ser Ile Val Cys Arg Phe Asp Thr Arg Val Leu Ser
995 1000 1005

Asn Leu Asn Leu Pro Gly Cys Asp Gly Gly Ser Leu Tyr Val Asn
1010 1015 1020

Lys His Ala Phe His Thr Pro Ala Phe Asp Lys Ser Ala Phe Val
1025 1030 1035

Asn Leu Lys Gln Leu Pro Phe Phe Tyr Tyr Ser Asp Ser Pro Cys
1040 1045 1050

Glu Ser His Gly Lys Gln Val Val Ser Asp Ile Asp Tyr Val Pro
1055 1060 1065

Leu Lys Ser Ala Thr Cys Ile Thr Arg Cys Asn Leu Gly Gly Ala

1070 1075 1080

Val Cys Arg His His Ala Asn Glu Tyr Arg Leu Tyr Leu Asp Ala
1085 1090 1095

Tyr Asn Met Met Ile Ser Ala Gly Phe Ser Leu Trp Val Tyr Lys
1100 1105 1110

Gln Phe Asp Thr Tyr Asn Leu Trp Asn Thr Phe Thr Arg Leu Gln
1115 1120 1125

<210> 394
<211> 644
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SARS-CoV2 NSP15-16 氨基酸序列(武汉 Hu1)

<400> 394

[0349]

Ser Leu Glu Asn Val Ala Phe Asn Val Val Asn Lys Gly His Phe Asp
1 5 10 15

Gly Gln Gln Gly Glu Val Pro Val Ser Ile Ile Asn Asn Thr Val Tyr
20 25 30

Thr Lys Val Asp Gly Val Asp Val Glu Leu Phe Glu Asn Lys Thr Thr
35 40 45

Leu Pro Val Asn Val Ala Phe Glu Leu Trp Ala Lys Arg Asn Ile Lys
50 55 60

Pro Val Pro Glu Val Lys Ile Leu Asn Asn Leu Gly Val Asp Ile Ala
65 70 75 80

Ala Asn Thr Val Ile Trp Asp Tyr Lys Arg Asp Ala Pro Ala His Ile
85 90 95

Ser Thr Ile Gly Val Cys Ser Met Thr Asp Ile Ala Lys Lys Pro Thr
100 105 110

Glu Thr Ile Cys Ala Pro Leu Thr Val Phe Phe Asp Gly Arg Val Asp
115 120 125

Gly Gln Val Asp Leu Phe Arg Asn Ala Arg Asn Gly Val Leu Ile Thr
130 135 140

Glu Gly Ser Val Lys Gly Leu Gln Pro Ser Val Gly Pro Lys Gln Ala
145 150 155 160

Ser Leu Asn Gly Val Thr Leu Ile Gly Glu Ala Val Lys Thr Gln Phe
165 170 175

Asn Tyr Tyr Lys Lys Val Asp Gly Val Val Gln Gln Leu Pro Glu Thr
180 185 190

Tyr Phe Thr Gln Ser Arg Asn Leu Gln Glu Phe Lys Pro Arg Ser Gln
195 200 205

Met Glu Ile Asp Phe Leu Glu Leu Ala Met Asp Glu Phe Ile Glu Arg
210 215 220

Tyr Lys Leu Glu Gly Tyr Ala Phe Glu His Ile Val Tyr Gly Asp Phe
225 230 235 240

[0350]

Ser His Ser Gln Leu Gly Gly Leu His Leu Leu Ile Gly Leu Ala Lys
245 250 255

Arg Phe Lys Glu Ser Pro Phe Glu Leu Glu Asp Phe Ile Pro Met Asp
260 265 270

Ser Thr Val Lys Asn Tyr Phe Ile Thr Asp Ala Gln Thr Gly Ser Ser
275 280 285

Lys Cys Val Cys Ser Val Ile Asp Leu Leu Leu Asp Asp Phe Val Glu
290 295 300

Ile Ile Lys Ser Gln Asp Leu Ser Val Val Ser Lys Val Val Lys Val
305 310 315 320

Thr Ile Asp Tyr Thr Glu Ile Ser Phe Met Leu Trp Cys Lys Asp Gly
325 330 335

His Val Glu Thr Phe Tyr Pro Lys Leu Gln Ser Ser Gln Ala Trp Gln
340 345 350

Pro Gly Val Ala Met Pro Asn Leu Tyr Lys Met Gln Arg Met Leu Leu
355 360 365

Glu Lys Cys Asp Leu Gln Asn Tyr Gly Asp Ser Ala Thr Leu Pro Lys
370 375 380

Gly Ile Met Met Asn Val Ala Lys Tyr Thr Gln Leu Cys Gln Tyr Leu
385 390 395 400

Asn Thr Leu Thr Leu Ala Val Pro Tyr Asn Met Arg Val Ile His Phe
405 410 415

Gly Ala Gly Ser Asp Lys Gly Val Ala Pro Gly Thr Ala Val Leu Arg
420 425 430

Gln Trp Leu Pro Thr Gly Thr Leu Leu Val Asp Ser Asp Leu Asn Asp
435 440 445

Phe Val Ser Asp Ala Asp Ser Thr Leu Ile Gly Asp Cys Ala Thr Val
450 455 460

[0351]

His Thr Ala Asn Lys Trp Asp Leu Ile Ile Ser Asp Met Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Lys Thr Lys Asn Val Thr Lys Glu Asn Asp Ser Lys Glu Gly Phe Phe
485 490 495

Thr Tyr Ile Cys Gly Phe Ile Gln Gln Lys Leu Ala Leu Gly Gly Ser
500 505 510

Val Ala Ile Lys Ile Thr Glu His Ser Trp Asn Ala Asp Leu Tyr Lys
515 520 525

Leu Met Gly His Phe Ala Trp Trp Thr Ala Phe Val Thr Asn Val Asn
530 535 540

Ala Ser Ser Ser Glu Ala Phe Leu Ile Gly Cys Asn Tyr Leu Gly Lys
545 550 555 560

Pro Arg Glu Gln Ile Asp Gly Tyr Val Met His Ala Asn Tyr Ile Phe
565 570 575

Trp Arg Asn Thr Asn Pro Ile Gln Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Phe Asp
580 585 590

Met Ser Lys Phe Pro Leu Lys Leu Arg Gly Thr Ala Val Met Ser Leu
595 600 605

Lys Glu Gly Gln Ile Asn Asp Met Ile Leu Ser Leu Leu Ser Lys Gly
610 615 620

Arg Leu Ile Ile Arg Glu Asn Asn Arg Val Val Ile Ser Ser Asp Val
625 630 635 640

Leu Val Asn Asn

<210> 395
<211> 680
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GP MARV 氨基酸序列

[0352]

<400> 395

Trp Thr Thr Cys Phe Phe Ile Ser Leu Ile Leu Ile Gln Gly Ile Lys
1 5 10 15

Thr Leu Pro Ile Leu Glu Ile Ala Ser Asn Asp Gln Pro Gln Asn Val
20 25 30

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

Met Gly Phe Thr Leu Ser Gly Gln Lys Val Ala Asp Ser Pro Leu Glu
50 55 60

Ala Ser Lys Arg Trp Ala Phe Arg Thr Gly Val Pro Pro Lys Asn Val
65 70 75 80

Glu Tyr Thr Glu Gly Glu Glu Ala Lys Thr Cys Tyr Asn Ile Ser Val
85 90 95

Thr Asp Pro Ser Gly Lys Ser Leu Leu Leu Asp Pro Pro Thr Asn Val
100 105 110

Arg Asp Tyr Pro Lys Cys Lys Thr Ile His His Ile Gln Gly Gln Asn
115 120 125

Pro His Ala Gln Gly Ile Ala Leu His Leu Trp Gly Ala Phe Phe Leu
130 135 140

Tyr Asp Arg Ile Ala Ser Thr Thr Met Tyr Arg Gly Lys Val Phe Thr
145 150 155 160

Glu Gly Asn Ile Ala Ala Met Ile Val Asn Lys Thr Val His Lys Met
165 170 175

Ile Phe Ser Arg Gln Gly Gln Gly Tyr Arg His Met Asn Leu Thr Ser
180 185 190

Thr Asn Lys Tyr Trp Thr Ser Ser Asn Gly Thr Gln Thr Asn Asp Thr
195 200 205

Gly Cys Phe Gly Thr Leu Gln Glu Tyr Asn Ser Thr Lys Asn Gln Thr
210 215 220

[0353]

Cys Ala Pro Ser Lys Thr Pro Pro Pro Pro Pro Thr Ala His Pro Glu
225 230 235 240

Ile Lys Pro Thr Ser Thr Pro Thr Asp Ala Thr Arg Leu Asn Thr Thr
245 250 255

Asn Pro Asn Ser Asp Asp Glu Asp Leu Thr Thr Ser Gly Ser Gly Ser
260 265 270

Gly Glu Gln Glu Pro Tyr Thr Thr Ser Asp Ala Val Thr Lys Gln Gly
275 280 285

Leu Ser Ser Thr Met Pro Pro Thr Leu Ser Pro Gln Pro Gly Thr Pro
290 295 300

Gln Gln Gly Gly Asn Asn Thr Asn His Ser Gln Asp Ala Ala Thr Glu
305 310 315 320

Leu Asp Asn Thr Asn Thr Thr Ala Gln Pro Pro Met Pro Ser His Asn
325 330 335

Thr Thr Thr Ile Ser Thr Asn Asn Thr Ser Lys His Asn Leu Ser Thr
340 345 350

Leu Ser Glu Pro Pro Gln Asn Thr Thr Asn Pro Asn Thr Gln Ser Met
355 360 365

Ala Thr Glu Asn Glu Lys Thr Ser Ala Pro Pro Lys Thr Thr Leu Pro
370 375 380

Pro Thr Glu Ser Pro Thr Thr Glu Lys Ser Thr Asn Asn Thr Lys Ser
385 390 395 400

Pro Thr Thr Met Glu Pro Asn Thr Thr Asn Gly His Phe Thr Ser Pro
405 410 415

Ser Ser Thr Pro Asn Ser Thr Thr Gln His Leu Ile Tyr Phe Arg Arg
420 425 430

Lys Arg Ser Ile Leu Trp Arg Glu Gly Asp Met Phe Pro Phe Leu Asp
435 440 445

Gly Leu Ile Asn Ala Pro Ile Asp Phe Asp Pro Val Pro Asn Thr Lys
450 455 460

[0354] Thr Ile Phe Asp Glu Ser Ser Ser Ser Gly Ala Ser Ala Glu Glu Asp
465 470 475 480

Gln His Ala Ser Ser Asn Ile Ser Leu Thr Leu Ser Tyr Leu Pro His
485 490 495

Thr Ser Glu Asn Thr Ala Tyr Ser Gly Glu Asn Glu Asn Asp Cys Asp
500 505 510

Ala Glu Leu Arg Ile Trp Ser Val Gln Glu Asp Asp Leu Ala Ala Gly
515 520 525

Leu Ser Trp Ile Pro Phe Phe Gly Pro Gly Ile Glu Gly Leu Tyr Thr
530 535 540

Ala Gly Leu Ile Lys Asn Gln Asn Asn Leu Val Cys Arg Leu Arg Arg
545 550 555 560

Leu Ala Asn Gln Thr Ala Lys Ser Leu Glu Leu Leu Leu Arg Val Thr
565 570 575

Thr Glu Glu Arg Thr Phe Ser Leu Ile Asn Arg His Ala Ile Asp Phe

580 585 590

Leu Leu Thr Arg Trp Gly Gly Thr Cys Lys Val Leu Gly Pro Asp Cys
595 600 605

Cys Ile Gly Ile Glu Asp Leu Ser Arg Asn Ile Ser Glu Gln Ile Asp
610 615 620

Gln Ile Lys Lys Asp Glu Gln Lys Glu Gly Thr Gly Trp Gly Leu Gly
625 630 635 640

Gly Lys Trp Trp Thr Ser Asp Trp Gly Val Leu Thr Asn Leu Gly Ile
645 650 655

Leu Leu Leu Leu Ser Ile Ala Val Leu Ile Ala Leu Ser Cys Ile Cys
660 665 670

Arg Ile Phe Thr Lys Tyr Ile Gly
675 680

[0355] <210> 396
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GP MARV 信号肽核酸序列

<400> 396

Trp Thr Thr Cys Phe Phe Ile Ser Leu Ile Leu Ile Gln Gly Ile Lys
1 5 10 15

Thr Leu

<210> 397
<211> 54
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GP MARV 信号肽核酸序列 - 优化

<400> 397
tggacgacct gcttcttcat ctccctaatc ctaatccagg gaatcaagac ccta 54

<210> 398
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> GP MARV 跨膜结构域氨基酸序列

<400> 398

Trp Trp Thr Ser Asp Trp Gly Val Leu Thr Asn Leu Gly Ile Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Ser Ile Ala Val Leu Ile Ala Leu Ser Cys Ile Cys Arg Ile
20 25 30

Phe Thr Lys Tyr Ile Gly
35

[0356]
<210> 399
<211> 114
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GP MARV 跨膜结构域核酸序列 - 优化

<400> 399
tggtggacat ctgactgggg agtcctaacg aacctaggaa tcctactact attgtcgatc 60

gcggtcctaa tcgcgctatc ctgtatctgt agaatcttca ccaagtacat cgga 114

<210> 400
<211> 302
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MARVVP 40 氨基酸序列

<400> 400

Ala Ser Ser Ser Asn Tyr Asn Thr Tyr Met Gln Tyr Leu Asn Pro Pro
1 5 10 15

Pro Tyr Ala Asp His Gly Ala Asn Gln Leu Ile Pro Ala Asp Gln Leu
20 25 30

Ser Asn Gln His Gly Ile Thr Pro Asn Tyr Val Gly Asp Leu Asn Leu
35 40 45

Asp Asp Gln Phe Lys Gly Asn Val Cys His Ala Phe Thr Leu Glu Ala
50 55 60

Ile Ile Asp Ile Ser Ala Tyr Asn Glu Arg Thr Val Lys Gly Val Pro
65 70 75 80

Ala Trp Leu Pro Leu Gly Ile Met Ser Asn Phe Glu Tyr Pro Leu Ala
85 90 95

His Thr Val Ala Ala Leu Leu Thr Gly Ser Tyr Thr Ile Thr Gln Phe
100 105 110

[0357] Thr His Asn Gly Gln Lys Phe Val Arg Val Asn Arg Leu Gly Thr Gly
115 120 125

Ile Pro Ala His Pro Leu Arg Met Leu Arg Glu Gly Asn Gln Ala Phe
130 135 140

Ile Gln Asn Met Val Ile Pro Arg Asn Phe Ser Thr Asn Gln Phe Thr
145 150 155 160

Tyr Asn Leu Thr Asn Leu Val Leu Ser Val Gln Lys Leu Pro Asp Asp
165 170 175

Ala Trp Arg Pro Ser Lys Asp Lys Leu Ile Gly Asn Thr Met His Pro
180 185 190

Ala Ile Ser Ile His Pro Asn Leu Pro Pro Ile Val Leu Pro Thr Val
195 200 205

Lys Lys Gln Ala Tyr Arg Gln His Lys Asn Pro Asn Asn Gly Pro Leu
210 215 220

Leu Ala Ile Ser Gly Ile Leu His Gln Leu Arg Val Glu Lys Val Pro

225 230 235 240

Glu Lys Thr Ser Leu Phe Arg Ile Ser Leu Pro Ala Asp Met Phe Ser
245 250 255

Val Lys Glu Gly Met Met Lys Lys Arg Gly Glu Ser Ser Pro Val Val
260 265 270

Tyr Phe Gln Ala Pro Glu Asn Phe Pro Leu Asn Gly Phe Asn Asn Arg
275 280 285

Gln Val Val Leu Ala Tyr Ala Asn Pro Thr Leu Ser Ala Ile
290 295 300

<210> 401
<211> 912
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> MARVVP 40 核酸序列 - 优化

[0358]

<400> 401
gcgtctagtt ctaattataa tacttatatg caatatctaa atccaccacc atatgcggat 60

catggtgcta atcaactaat tccagcggat caactatcta atcaacatgg aattacacca 120

aattatgttg gagatctaaa tctagatgat cagtttaaag gaaatgtttg tcatgcgttt 180

acactagaag cgattattga tatttctgcg tataatgaaa gaacagtaaa aggtgtacca 240

gcttggctac cactaggaat tatgtctaat tttgaatatc cactagcgca tacagtagcg 300

gcgctattga caggatctta tacaattaca cagtttacac ataatggaca aaagtttgtt 360

agagtaaata gactaggaac tggaatacca gcgcatccac taagaatgct aagagaagga 420

aatcaagctt ttattcaaaa tatggttatt ccaagaaatt tctctacaaa tcagtttact 480

tataatctaa ctaatctagt actatctgta caaaagctac cagatgatgc ttggagacca 540

tctaaagata aactaattgg aaatacaatg catccagcga tttctattca tccaaatcta 600

ccaccaatag tactaccaac tgtaaagaaa caagcgtata gacaacataa gaatccaaat 660

aatggaccac tattggcgat ttctggaatt ctacatcaac taagagtaga aaaggtacca 720

gaaaagacat ctttgtttag aatttctcta ccagcggata tgttttctgt aaaagaagga 780

atgatgaaga aaagaggaga atcttctcca gtagtatatt ttcaagcgcc agaaaatttt 840

ccattgaatg gttttaataa tagacaagta gtactagcgt atgcgaatcc aacactatct 900

gcgatataat aa 912

<210> 402
<211> 1608
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> MUC-1- MARV GPTM- 优选核酸序列

<400> 402
atgacacctg gaacacaatc tccattcttc ctactactac tattgacagt actaacagta 60

[0359]

gtaacaggat ctggacatgc gtctagtaca ccaggtggag agaaggaaac atctgcgact 120

caaagatctt ctgtaccatc ttctacagag aagaatgcgg tatctatgac atctagtgta 180

ctatcttctc attctcctgg atctggatct tctactacac aaggacaaga tgtaacacta 240

gcgccagcta cagaaccagc ttctggatct gctgctactt ggggtcaaga tgttacttct 300

gttccagtaa caagaccagc gctaggatct acaacaccac cagcgcatga tgtaacaagt 360

gcgccagata ataagccagc gcctggttct actgctccac cagctcatgg tgttacttca 420

gcgcctgata caagacccgc acccggatct accgctccgc ctgcacacgg cgtcacatct 480

gctcccgaca ctcgtccagc tcctggtagc acagcacctc cagcgcatgg agtaaccagt 540

gcaccagata cccgacctgc gccgggcagt actgccccac cggcccacgg ggtgacgagc 600

gccccggaca cgcgcccagc tccagggtca acggcgcccc ctgctcatgg tgttacaagt 660

gcacctgata atagacctgc gttgggatct actgcgcctc cagttcataa tgtaacatca 720

gcgtctggaa gtgcgtctgg ttctgcgtct acattggttc ataatggtac atctgcgaga 780

gcgacaacaa ctccagcgtc taagtctaca ccattctcta ttccatctca tcattctgat 840

acaccaacaa cattggcgag tcattctaca aagacagatg cgagttctac acatcattct 900

actgtaccac cactaacatc ttctaatcat agtacatctc cacaactatc tactggtgta 960

tctttcttct tcctatcctt tcatatttct aatctacagt tcaattctag tttggaagat 1020

ccatctacag attattatca agaactacaa agagatattt ctgaaatgtt tctacaaata 1080

tataaacaag gaggatttct aggactatct aatattaagt ttagaccagg atctgtagta 1140

gttcaactaa ctctagcgtt tagagaaggt actattaatg tacatgatgt tgaaacacag 1200

tttaatcaat ataagacaga agcggcgtct agatataatc taacaatttc tgatgtatct 1260

gtatctgatg ttccatttcc attctctgcg caatctggtg ctggtgtatg gtggacatct 1320

gattggggag tactaactaa tctaggaatt ctactattgc tatctattgc ggtactaatt 1380

[0360]

gcgctatctt gtatatgtag aagaaagaat tatggacaac tagatatttt cccagcgaga 1440

gatacttatc atccaatgtc tgaatatcca acatatcata cacatggaag atatgtacca 1500

ccttcttcaa cagatagatc tccatatgag aaggtatctg cgggaaatgg tggttcttct 1560

ctatcttata caaatccagc ggtagcggcg acttctgcga atctataa 1608

<210> 403
<211> 535
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MUC-1 - MARV GPTM-氨基酸序列

<400> 403

Met Thr Pro Gly Thr Gln Ser Pro Phe Phe Leu Leu Leu Leu Thr
1 5 10 15

Val Leu Thr Val Val Thr Gly Ser Gly His Ala Ser Ser Thr Pro Gly

20 25 30

Gly Glu Lys Glu Thr Ser Ala Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Ser Ser
35 40 45

Thr Glu Lys Asn Ala Val Ser Met Thr Ser Ser Val Leu Ser Ser His
50 55 60

Ser Pro Gly Ser Gly Ser Ser Thr Thr Gln Gly Gln Asp Val Thr Leu
65 70 75 80

Ala Pro Ala Thr Glu Pro Ala Ser Gly Ser Ala Ala Thr Trp Gly Gln
85 90 95

Asp Val Thr Ser Val Pro Val Thr Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Thr
100 105 110

Pro Pro Ala His Asp Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn Lys Pro Ala Pro
115 120 125

Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr
[0361] 130 135 140

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

Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His
165 170 175

Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Thr Arg Pro Ala Pro Gly Ser Thr Ala
180 185 190

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

Gly Ser Thr Ala Pro Pro Ala His Gly Val Thr Ser Ala Pro Asp Asn
210 215 220

Arg Pro Ala Leu Gly Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val Thr Ser
225 230 235 240

Ala Ser Gly Ser Ala Ser Gly Ser Ala Ser Thr Leu Val His Asn Gly
245 250 255

Thr Ser Ala Arg Ala Thr Thr Thr Pro Ala Ser Lys Ser Thr Pro Phe
260 265 270

Ser Ile Pro Ser His His Ser Asp Thr Pro Thr Thr Leu Ala Ser His
275 280 285

Ser Thr Lys Thr Asp Ala Ser Ser Thr His His Ser Thr Val Pro Pro
290 295 300

Leu Thr Ser Ser Asn His Ser Thr Ser Pro Gln Leu Ser Thr Gly Val
305 310 315 320

Ser Phe Phe Phe Leu Ser Phe His Ile Ser Asn Leu Gln Phe Asn Ser
325 330 335

Ser Leu Glu Asp Pro Ser Thr Asp Tyr Tyr Gln Glu Leu Gln Arg Asp
340 345 350

Ile Ser Glu Met Phe Leu Gln Ile Tyr Lys Gln Gly Gly Phe Leu Gly
355 360 365

[0362] Leu Ser Asn Ile Lys Phe Arg Pro Gly Ser Val Val Val Gln Leu Thr
370 375 380

Leu Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ile Asn Val His Asp Val Glu Thr Gln
385 390 395 400

Phe Asn Gln Tyr Lys Thr Glu Ala Ala Ser Arg Tyr Asn Leu Thr Ile
405 410 415

Ser Asp Val Ser Val Ser Asp Val Pro Phe Pro Phe Ser Ala Gln Ser
420 425 430

Gly Ala Gly Val Trp Trp Thr Ser Asp Trp Gly Val Leu Thr Asn Leu
435 440 445

Gly Ile Leu Leu Leu Leu Ser Ile Ala Val Leu Ile Ala Leu Ser Cys
450 455 460

Ile Cys Arg Arg Lys Asn Tyr Gly Gln Leu Asp Ile Phe Pro Ala Arg
465 470 475 480

Asp Thr Tyr His Pro Met Ser Glu Tyr Pro Thr Tyr His Thr His Gly
485 490 495

Arg Tyr Val Pro Pro Ser Ser Thr Asp Arg Ser Pro Tyr Glu Lys Val
500 505 510

Ser Ala Gly Asn Gly Gly Ser Ser Leu Ser Tyr Thr Asn Pro Ala Val
515 520 525

Ala Ala Thr Ser Ala Asn Leu
530 535

<210> 404
<211> 912
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 马尔堡病毒 VP40 核酸序列

<400> 404
atggcgtcta gttctaatta taatacttat atgcaatatc taaatccacc accatatgcg 60

gatcatggtg ctaatcaact aattccagcg gatcaactat ctaatcaaca tggaattaca 120

[0363]

ccaaattatg ttggagatct aaatctagat gatcagttta aaggaaatgt ttgtcatgcg 180

tttacactag aagcgattat tgatatttct gcgtataatg aaagaacagt aaaaggtgta 240

ccagcttggc taccactagg aattatgtct aattttgaat atccactagc gcatacagta 300

gcggcgctat tgacaggatc ttatacaatt acacagttta cacataatgg acaaaagttt 360

gttagagtaa atagactagg aactggaata ccagcgcatc cactaagaat gctaagagaa 420

ggaaatcaag cttttattca aaatatggtt attccaagaa atttctctac aaatcagttt 480

acttataatc taactaatct agtactatct gtacaaaagc taccagatga tgcttggaga 540

ccatctaaag ataaactaat tggaaataca atgcatccag cgatttctat tcatccaaat 600

ctaccaccaa tagtactacc aactgtaaag aaacaagcgt atagacaaca taagaatcca 660

aataatggac cactattggc gatttctgga attctacatc aactaagagt agaaaaggta 720

ccagaaaaga catctttgtt tagaatttct ctaccagcgg atatgttttc tgtaaaagaa 780

ggaatgatga agaaaagagg agaatcttct ccagtagtat attttcaagc gccagaaaat 840

tttccattga atggttttaa taatagacaa gtagtactag cgtatgcgaa tccaacacta 900

tctgcgatat aa 912

<210> 405
<211> 303
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 马尔堡病毒 VP40 氨基酸序列

<400> 405

Met Ala Ser Ser Ser Asn Tyr Asn Thr Tyr Met Gln Tyr Leu Asn Pro
1 5 10 15

Pro Pro Tyr Ala Asp His Gly Ala Asn Gln Leu Ile Pro Ala Asp Gln
20 25 30

[0364]

Leu Ser Asn Gln His Gly Ile Thr Pro Asn Tyr Val Gly Asp Leu Asn
35 40 45

Leu Asp Asp Gln Phe Lys Gly Asn Val Cys His Ala Phe Thr Leu Glu
50 55 60

Ala Ile Ile Asp Ile Ser Ala Tyr Asn Glu Arg Thr Val Lys Gly Val
65 70 75 80

Pro Ala Trp Leu Pro Leu Gly Ile Met Ser Asn Phe Glu Tyr Pro Leu
85 90 95

Ala His Thr Val Ala Ala Leu Leu Thr Gly Ser Tyr Thr Ile Thr Gln
100 105 110

Phe Thr His Asn Gly Gln Lys Phe Val Arg Val Asn Arg Leu Gly Thr
115 120 125

Gly Ile Pro Ala His Pro Leu Arg Met Leu Arg Glu Gly Asn Gln Ala
130 135 140

```
Phe Ile Gln Asn Met Val Ile Pro Arg Asn Phe Ser Thr Asn Gln Phe
145                 150                 155                 160

Thr Tyr Asn Leu Thr Asn Leu Val Leu Ser Val Gln Lys Leu Pro Asp
                165                 170                 175

Asp Ala Trp Arg Pro Ser Lys Asp Lys Leu Ile Gly Asn Thr Met His
            180                 185                 190

Pro Ala Ile Ser Ile His Pro Asn Leu Pro Pro Ile Val Leu Pro Thr
        195                 200                 205

Val Lys Lys Gln Ala Tyr Arg Gln His Lys Asn Pro Asn Asn Gly Pro
    210                 215                 220

Leu Leu Ala Ile Ser Gly Ile Leu His Gln Leu Arg Val Glu Lys Val
225                 230                 235                 240

Pro Glu Lys Thr Ser Leu Phe Arg Ile Ser Leu Pro Ala Asp Met Phe
                245                 250                 255
```

[0365]

```
Ser Val Lys Glu Gly Met Met Lys Lys Arg Gly Glu Ser Ser Pro Val
            260                 265                 270

Val Tyr Phe Gln Ala Pro Glu Asn Phe Pro Leu Asn Gly Phe Asn Asn
        275                 280                 285

Arg Gln Val Val Leu Ala Tyr Ala Asn Pro Thr Leu Ser Ala Ile
    290                 295                 300
```

<210> 406
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成 9 聚体肽

<400> 406

```
Ser Tyr Val Pro Ser Ala Glu Gln Ile
1               5
```

<210> 407
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成 9 聚体肽

<400> 407

Tyr Leu Asn Lys Ile Gln Asn Ser Leu
1 5

<210> 408
<211> 1158
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5xLD01

[0366] <400> 408

atggacgcca tgaagagagg actttgttgc gtcctactac tatgcggagc ggtattcgta 60

tctccgtcgc aagaaattca cgcgagattc agaagaggtg ccagatgcag aagaacatct 120

accggacaga tctccacctt gagagtaaat atcacagcgc cgctatctca gagagccaag 180

agaggatcgg gagcgacaaa cttctcgcta ttgaaacaag cgggagatgt cgaagagaac 240

ccaggaccag atgctatgaa gagaggactt tgctgcgtat tgctattgtg cggagccgtc 300

ttcgtctcac catctcaaga aatccatgcc agattcagaa gaggtgctag atgtagaaga 360

acctccacgg gacaaatcag taccctaaga gttaacatca ccgcgccgtt gagtcaaaga 420

gctaagagag gttccggagc caccaacttc agtttgctaa agcaggcggg agatgtggaa 480

gagaatcctg gtcctgacgc aatgaagaga ggactttgct gcgttctatt gctatgcggt 540

gccgtctttg tttctccgag tcaagagata cacgctagat tcagaagagg tgcaagatgt 600

agaagaacct cgaccggtca aatctcgacg cttagagtca atattaccgc gccattgtcg 660

cagagagcga agagaggatc gggagccact aatttcagtc tacttaagca agcgggagat 720

gtagaggaga atcctggacc ggatgccatg aagagaggac tttgttgcgt tctgttgctt 780

tgcggagctg tgttcgtcag tccttctcaa gagattcatg caagattcag aagaggtgca 840

agatgcagaa gaaccagtac gggacagatt tcgacattaa gagtgaacat tactgcgcct 900

ttgtctcaaa gagcgaagag aggttccgga gcgacgaatt tctcgttgct caagcaagcg 960

ggagatgtag aagagaaccc aggacctgat gcaatgaaga gaggactttg ttgcgtatta 1020

cttctttgcg gtgcagtgtt tgtctcgccg tcacaagaga tccacgcaag attcagaaga 1080

ggtgccagat gtagaagaac tagtacagga caaatctcca cgctaagagt aaacataacg 1140

gcaccactat ctcaataa 1158

<210> 409
<211> 1101
<212> DNA
<213> 人工序列

[0367]

<220>
<223> 5xLD10

<400> 409
atggacgcca tgaagagagg actttgttgc gtcctactac tatgcggagc ggtattcgta 60

tctccgtcgc aagaaattca cgcgagattc agaagaggtg ccagatctac aggacagatc 120

tctaccctaa gagtcaatat cacagcgccg ctatctcaga gagcgaagag aggatcggga 180

gcgacaaact tctcgctatt gaaacaagcg ggagatgtcg aggagaaccc aggaccagat 240

gctatgaaga gaggactttg ctgcgtattg ctattgtgcg gagccgtgtt cgtctcgcca 300

tctcaagaaa tccatgccag attcagaaga ggtgctagaa gtaccggaca aatctccacg 360

ttgagagtaa acattaccgc gccgttgtcg caaagagcta agagaggttc cggagccact 420

aacttcagtt tgctaaagca ggcgggagat gtggaagaga atcctggtcc tgacgcaatg 480

aagagaggac tttgctgcgt tctattgcta tgcggtgccg tctttgtttc tccgagtcaa 540

gagatacacg ctagattcag aagaggtgct agatccacgg gacaaatcag tacccttaga 600

gtgaacatca cggcgccact ttctcaaaga gccaagagag gttccggagc gaccaatttc 660

tcgttgctaa agcaagcggg agatgtagaa gagaatcccg gaccggatgc catgaagaga 720

ggactttgtt gcgtgctgtt gctttgcgga gctgtgttcg tcagtccttc tcaagagatt 780

catgcaagat tcagaagagg tgcaagatcg accggtcaaa tttcgacgct aagagttaac 840

ataacggcgc ccttgagtca gagagccaag agaggatcgg gagccactaa cttctcgttg 900

ttgaagcagg cgggagatgt agaagagaat ccgggtccag atgcaatgaa gagaggactt 960

tgttgcgtat tacttctttg cggtgcagtg tttgtctcgc cgtcacaaga gatccacgca 1020

agattcagaa gaggtgccag aagtacgggt caaattagta ccttgagagt caatattacg 1080

gcgcctttgt cacagtaatg a 1101

<210> 410
[0368] <211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p55 LD10 F 引物

<400> 410
agatcggaga tgactgcgat g 21

<210> 411
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p54 LD10R/ GFP R primer

<400> 411
cgatggatgg tcagattgtc c 21

<210> 412

<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p35 MUC-1 F 引物

<400> 412
gagaggacgg gagaattaac ta 22

<210> 413
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p36 MUC-1 R

<400> 413
tggtaggaat accagatacg ac 22

[0369]
<210> 414
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p44 VP40 F 引物

<400> 414
ggagcagagt ttacatcttc caa 23

<210> 415
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p10 VP40 R 引物

<400> 415
ctccgtgaga atatccttgc tc 22

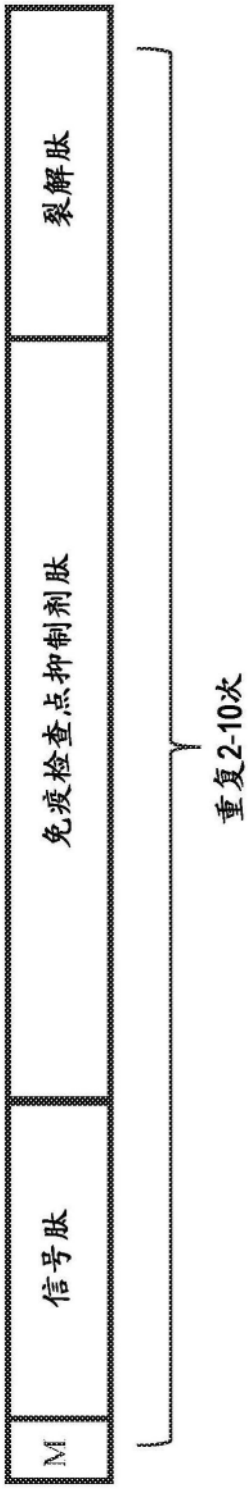


图1A

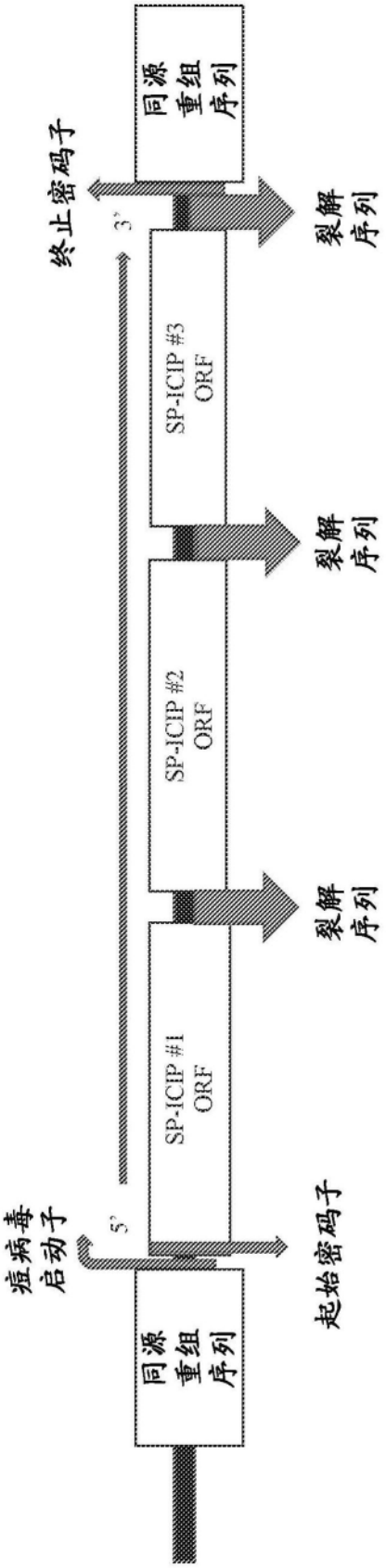

同源
重组
序列
终止密码子
3'
裂解
序列
SP-ICIP #3
ORF
裂解
序列
SP-ICIP #2
ORF
裂解
序列
SP-ICIP #1
ORF
痘病毒
启动子
5'
起始密码子
同源
重组
序列

图1B

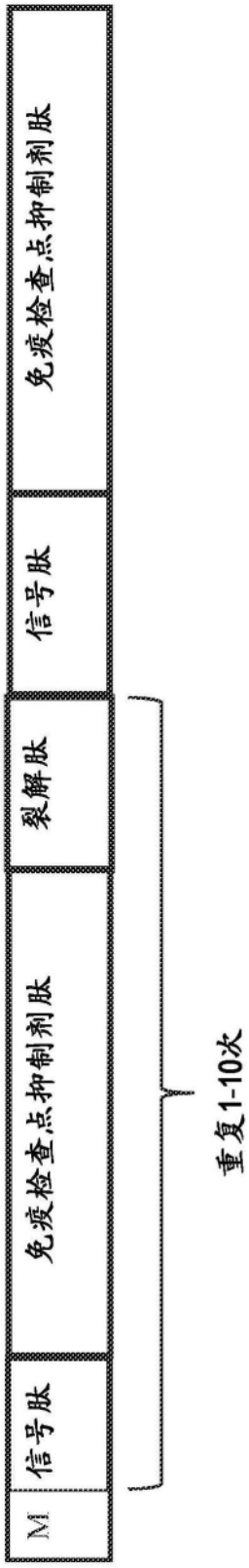


图2A

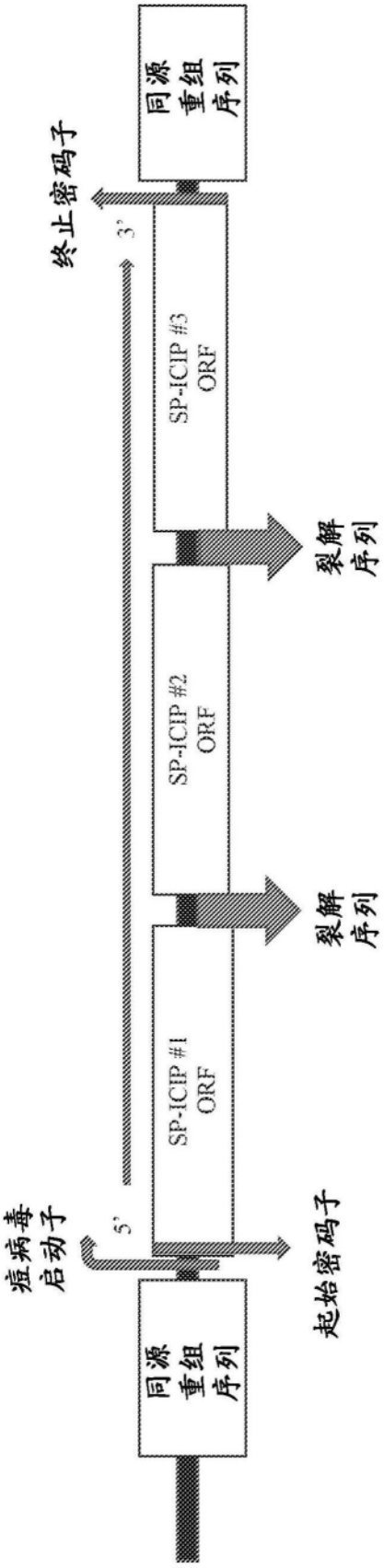

同源重组序列
终止密码子
3'
SP-ICIP #3 ORF
SP-ICIP #2 ORF
SP-ICIP #1 ORF
裂解序列
裂解序列
5'
痘病毒启动子
起始密码子
同源重组序列

图2B

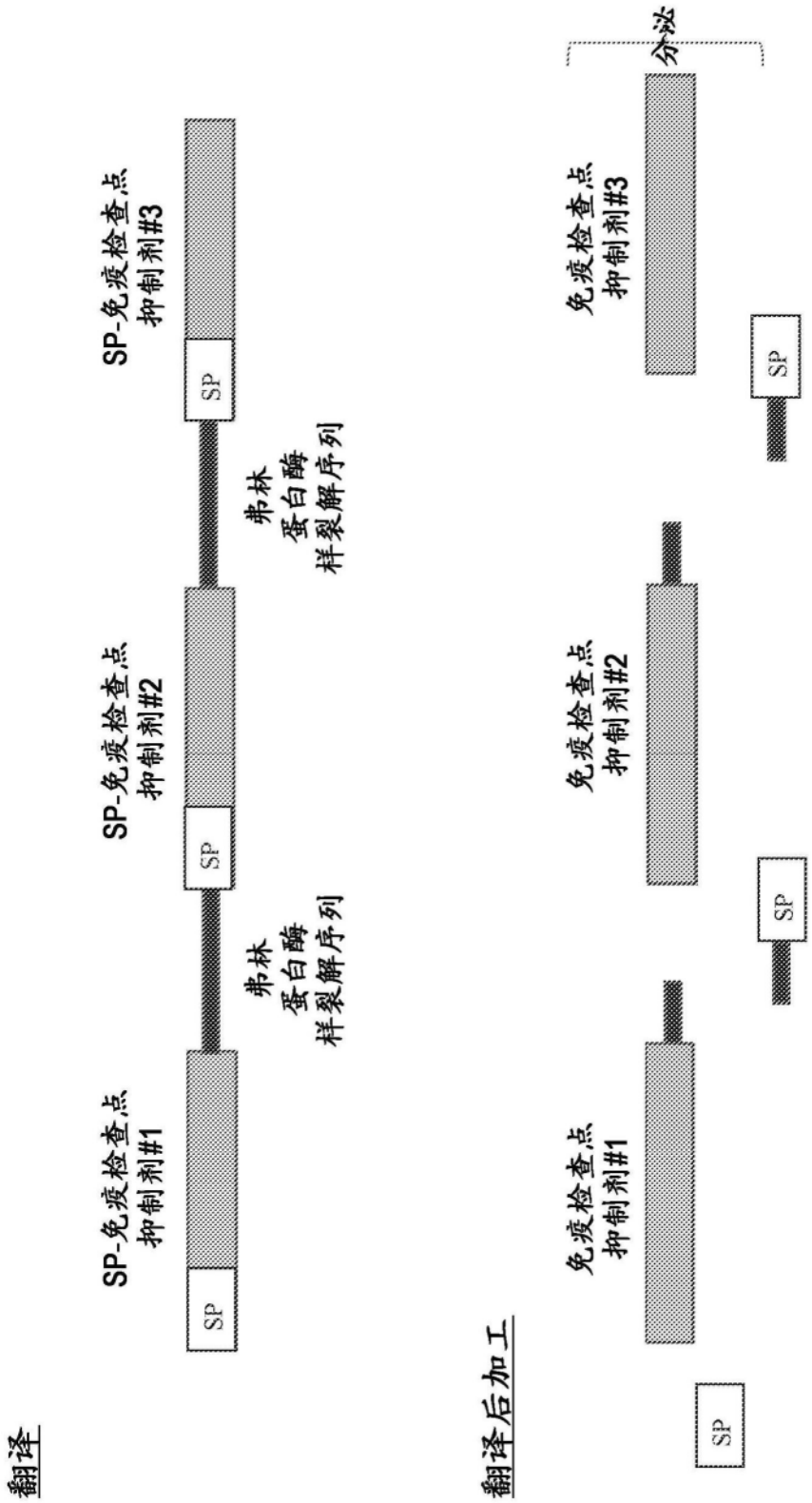

翻译
SP-免疫检查点
抑制剂#1
SP
弗林
蛋白酶
样裂解序列
SP-免疫检查点
抑制剂#2
SP
弗林
蛋白酶
样裂解序列
SP-免疫检查点
抑制剂#3
SP
翻译后加工
免疫检查点
抑制剂#1
SP
免疫检查点
抑制剂#2
SP
免疫检查点
抑制剂#3
分泌
SP

图3A

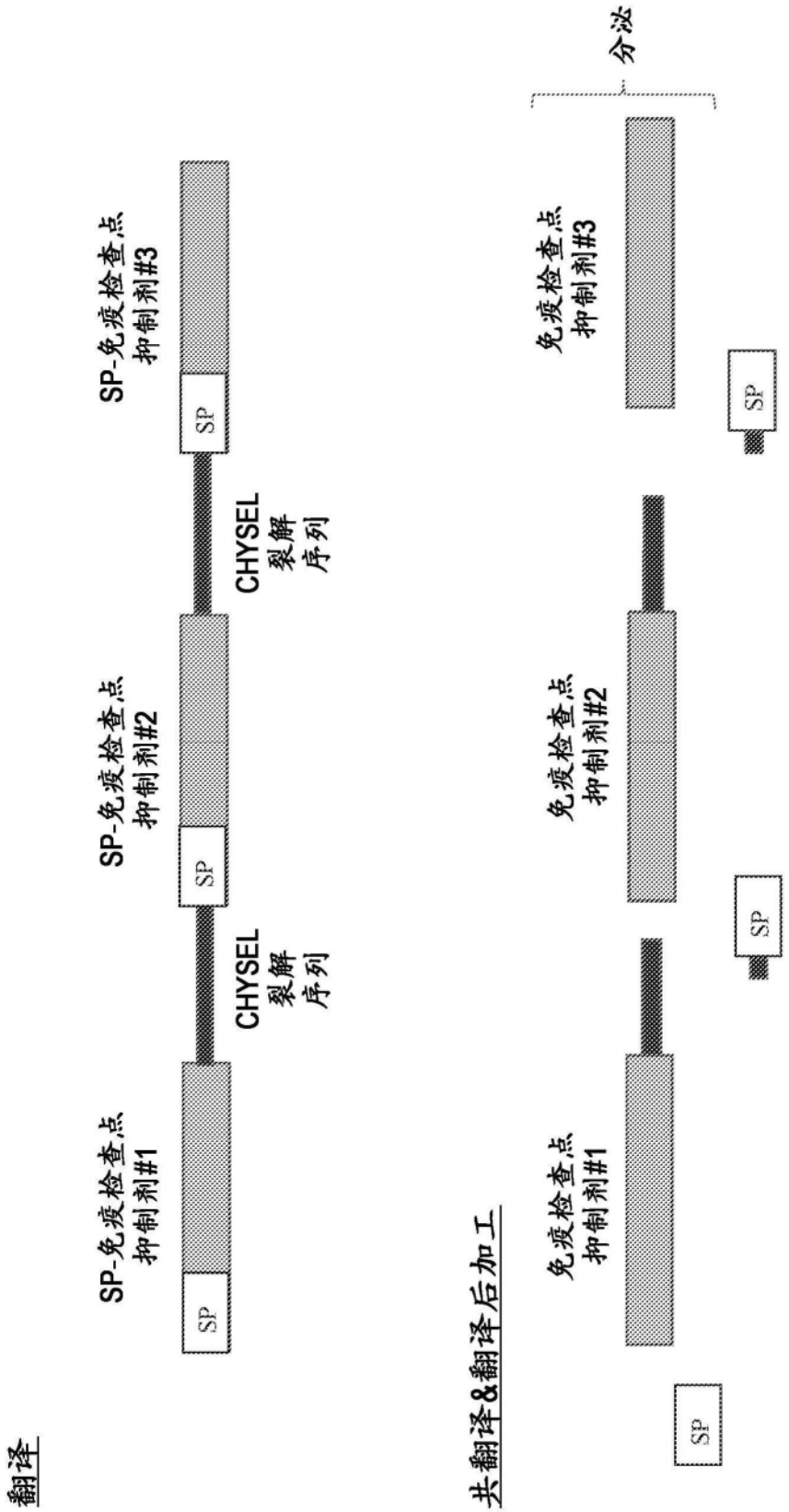

翻译
SP-免疫检查点
抑制剂#1
SP
CHYSEL
裂解
序列
SP-免疫检查点
抑制剂#2
SP
CHYSEL
裂解
序列
SP-免疫检查点
抑制剂#3
SP
共翻译&翻译后加工
免疫检查点
抑制剂#1
SP
免疫检查点
抑制剂#2
SP
免疫检查点
抑制剂#3
SP
分泌

图3B

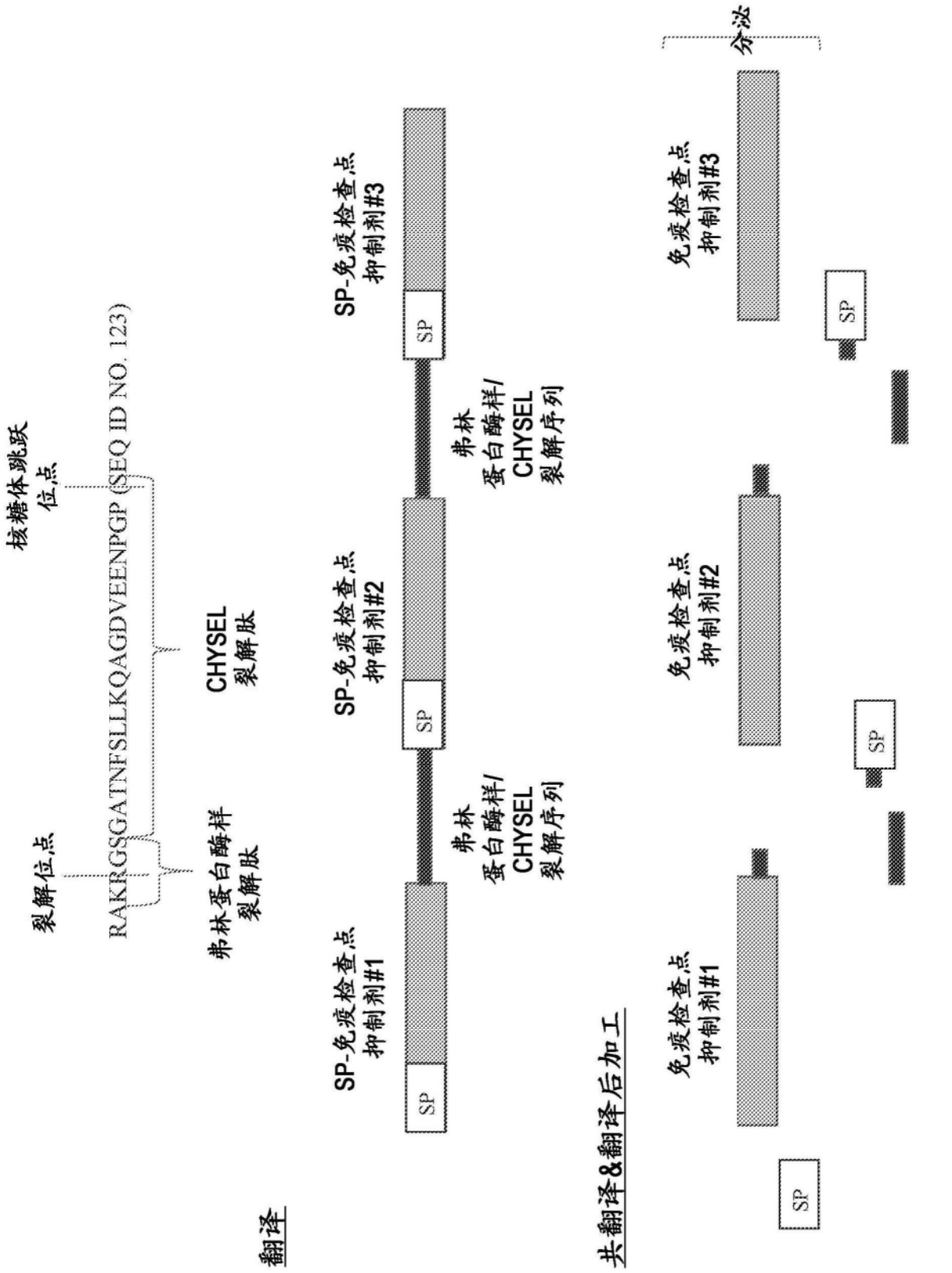

翻译
共翻译&翻译后加工
分泌
SP
SP-免疫检查点
抑制剂#1
弗林
蛋白酶样/
CHYSEL
裂解序列
SP-免疫检查点
抑制剂#2
SP-免疫检查点
抑制剂#3
免疫检查点
抑制剂#1
免疫检查点
抑制剂#2
免疫检查点
抑制剂#3
弗林蛋白酶样
裂解肽
CHYSEL
裂解肽
裂解位点
核糖体跳跃
位点
RAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO. 123)

图3C

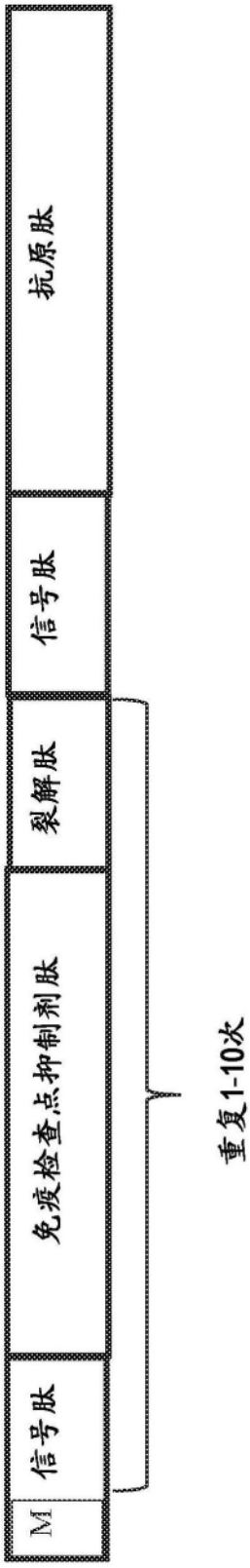


图4A

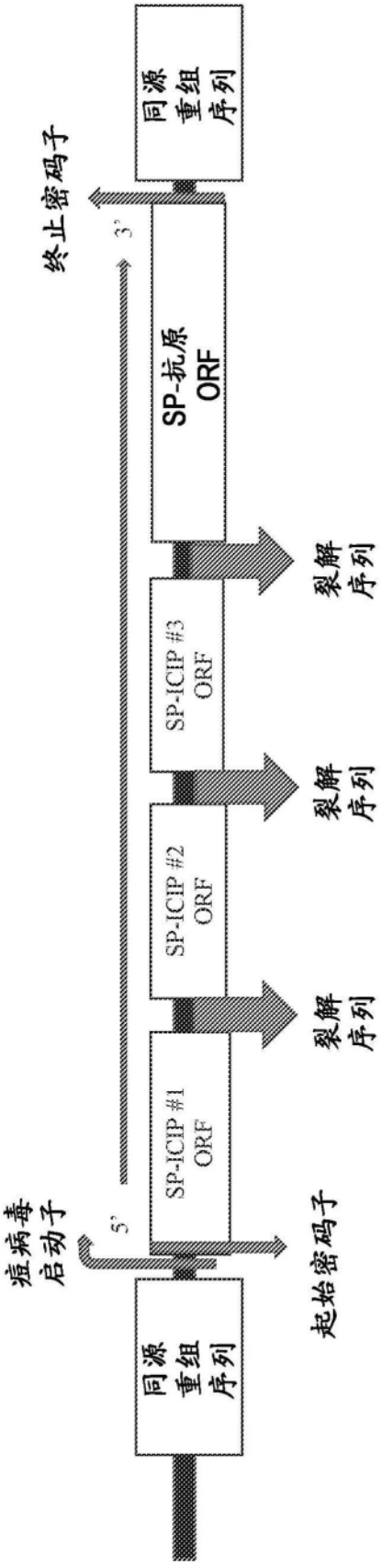

痘病毒
启动子
5'
同源
重组
序列
SP-ICIP #1
ORF
SP-ICIP #2
ORF
SP-ICIP #3
ORF
SP-抗原
ORF
3'
终止密码子
同源
重组
序列
起始密码子
裂解
序列
裂解
序列
裂解
序列

图4B

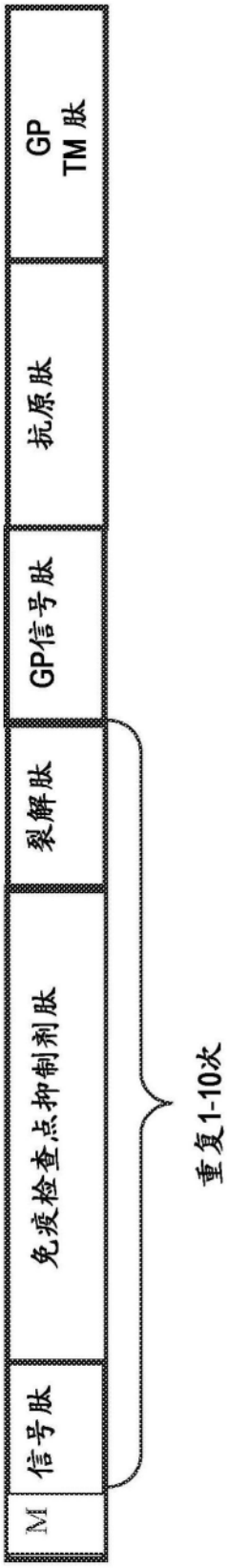


图5A

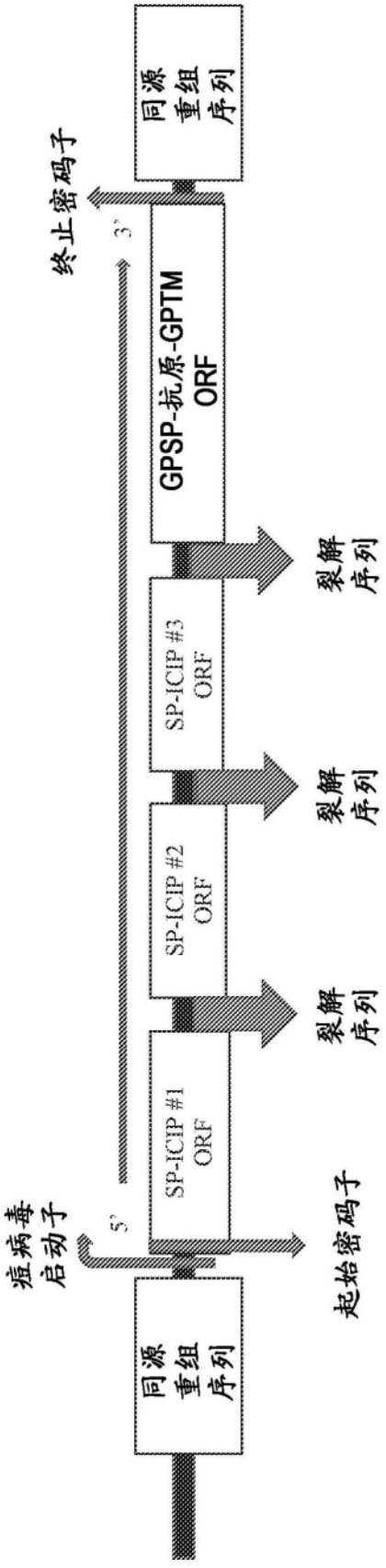

痘病毒
启动子
5'
同源
重组
序列
SP-ICIP #1
ORF
SP-ICIP #2
ORF
SP-ICIP #3
ORF
GPSP-抗原-GPTM
ORF
3'
终止密码子
同源
重组
序列
起始密码子
裂解
序列
裂解
序列
裂解
序列

图5B

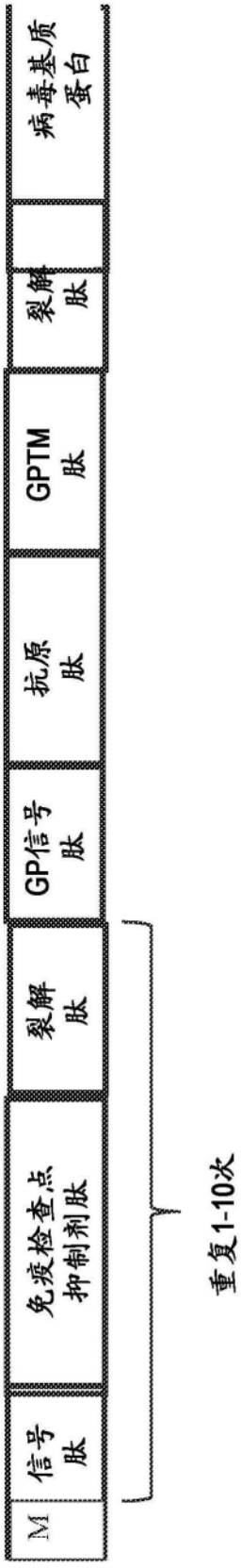


图6A

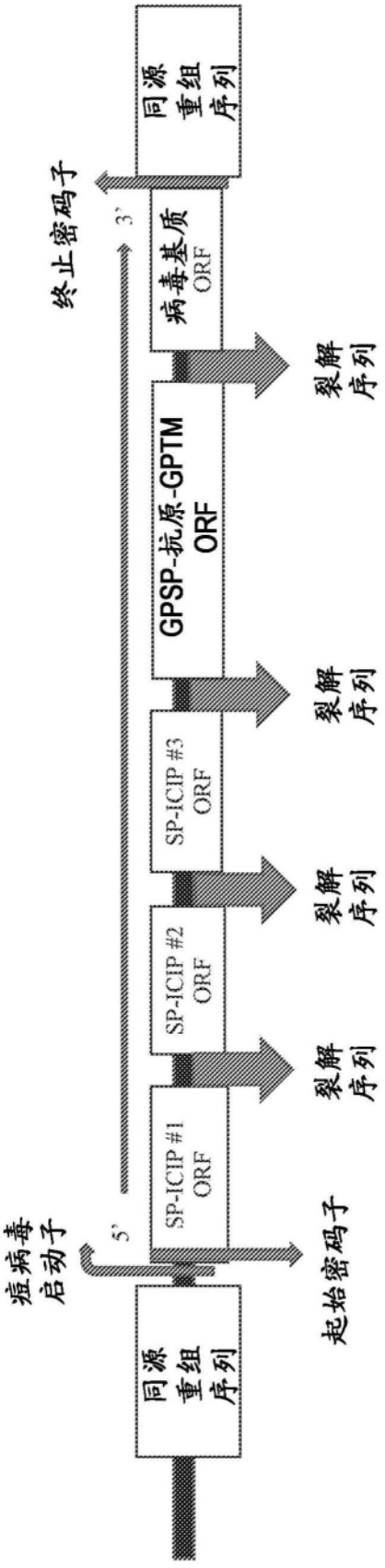

同源重组序列
终止密码子
3'
病毒基质 ORF
GPSP-抗原-GPTM ORF
SP-ICIP #3 ORF
SP-ICIP #2 ORF
SP-ICIP #1 ORF
裂解序列
裂解序列
裂解序列
裂解序列
痘病毒启动子
5'
起始密码子
同源重组序列

图6B

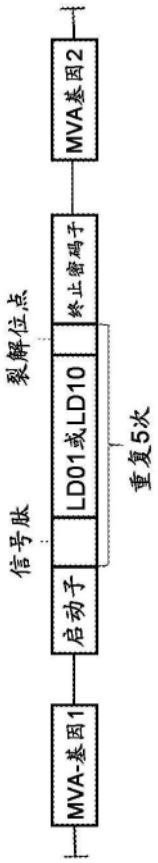


图7

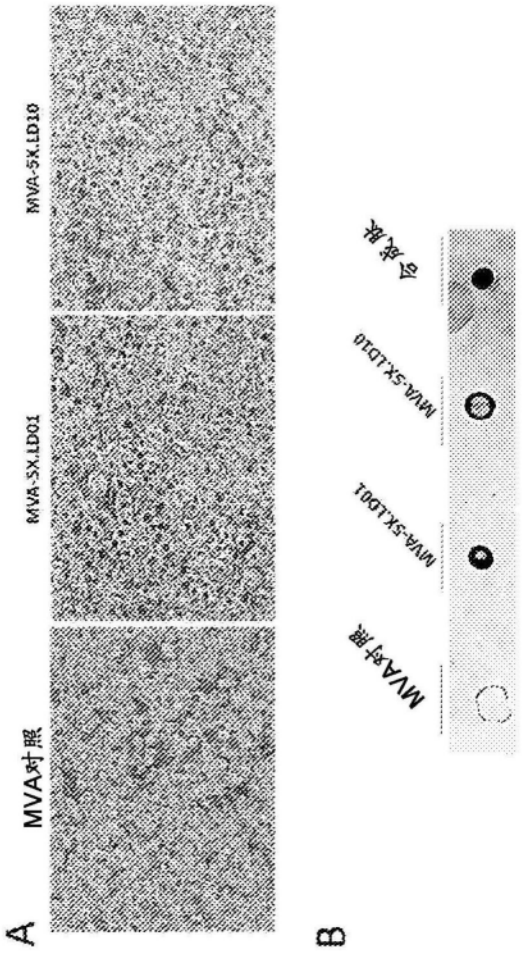

A
MVA对照
MVA-SX.LD01
MVA-SX.LD10
B
MVA对照
MVA-SX.LD01
MVA-SX.LD10
白炭黑

图8

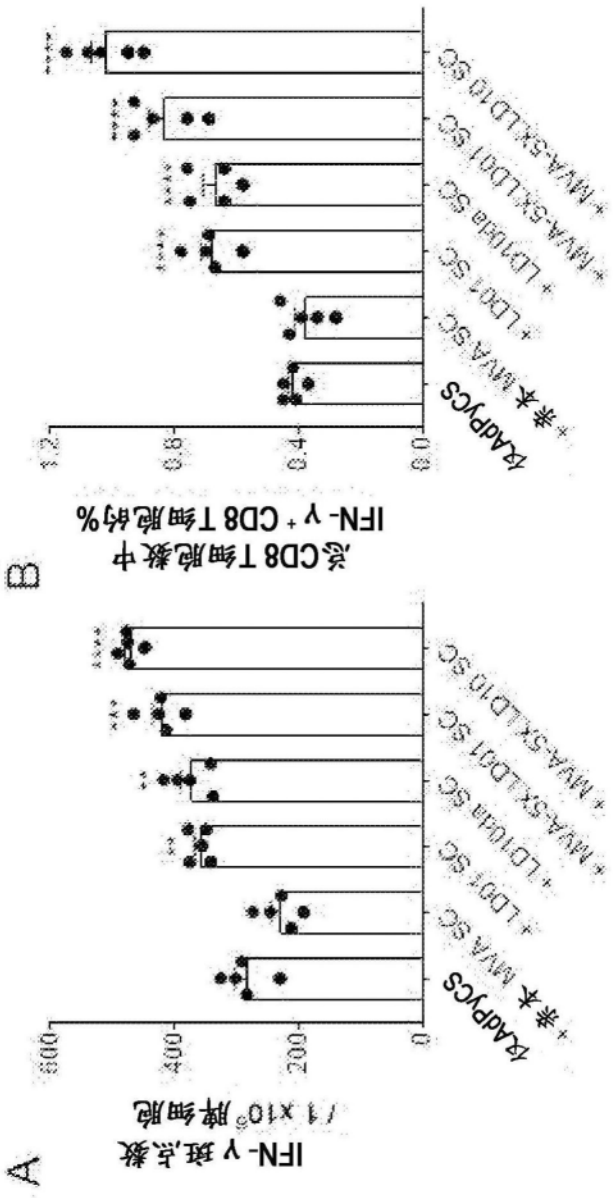

A
IFN-γ 斑点数
/1 x10⁵ 脾细胞
800
400
200
0
Ad4pyCS
+未来 MVA SC
+ LD1 SC
+ LD10da SC
+ MVA-5XLD01 SC
+ MVA-5XLD10 SC
B
总CD8 T细胞数中
IFN-γ⁺ CD8 T细胞的%
1.2
0.8
0.4
0.0
Ad4pyCS
+未来 MVA SC
+ LD01 SC
+ LD10da SC
+ MVA-5XLD01 SC
+ MVA-5XLD10 SC

图9

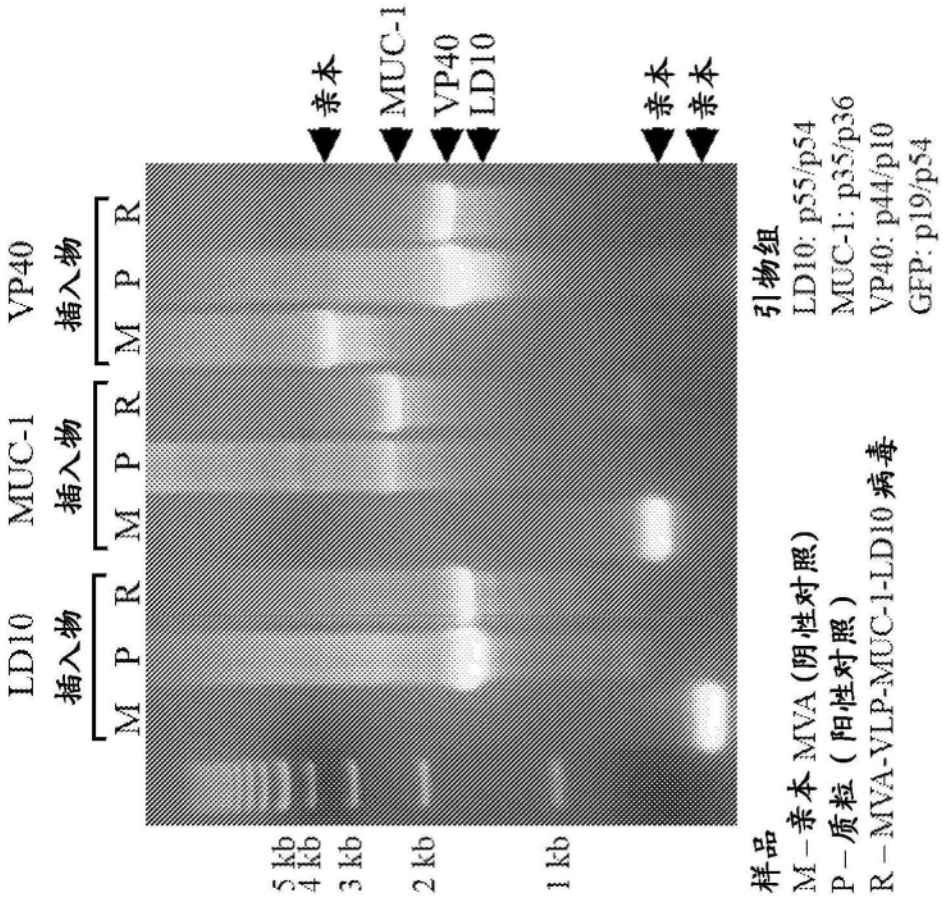

LD10 插入物
MUC-1 插入物
VP40 插入物
M P R M P R M P R
亲本
MUC-1
VP40
LD10
亲本
亲本
5 kb
4 kb
3 kb
2 kb
1 kb
样品
M－亲本 MVA（阴性对照）
P－质粒（阳性对照）
R－MVA-VLP-MUC-1-LD10 病毒
引物组
LD10: p55/p54
MUC-1: p35/p36
VP40: p44/p10
GFP: p19/p54

图10

PCR 预期片段			
插入物(抗原)	LD10	Muc1	VP40
MVA 亲本 (M)	337 bp	553 bp	3302 bp
pGeo-5xLD10 (P)	1631 bp	2273 bp	1700 bp
Muc1-5xLD10 (R)	1631 bp	2273 bp	1700 bp

图11

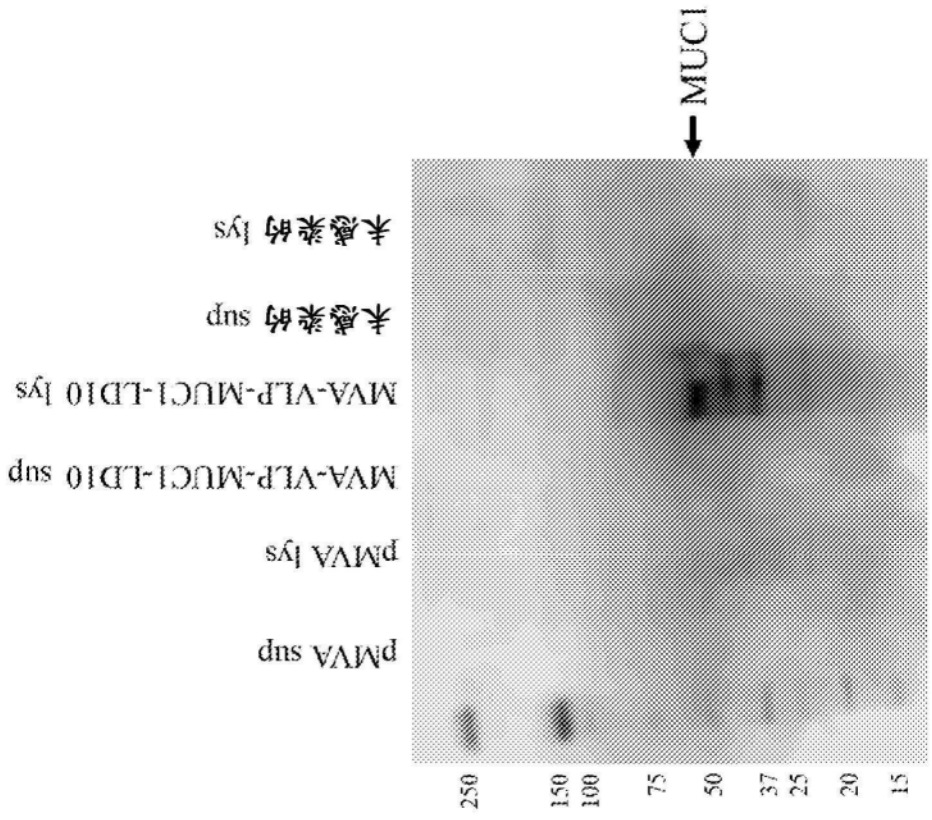

MUC1
未感染的 lys
未感染的 sup
MVA-VLP-MUC1-LD10 lys
MVA-VLP-MUC1-LD10 sup
pMVA lys
pMVA sup
250
150
100
75
50
37
25
20
15

图12

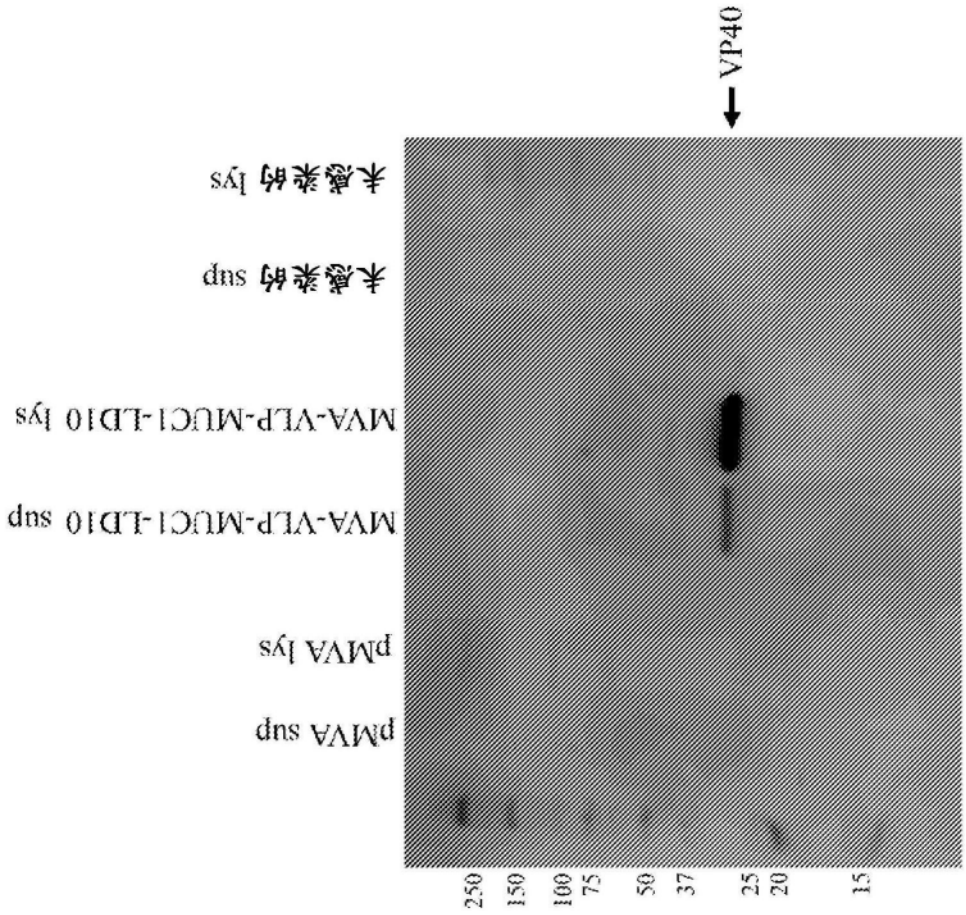

VP40
未感染的 lys
未感染的 sup
MVA-VLP-MUC1-LD10 lys
MVA-VLP-MUC1-LD10 sup
pMVA lys
pMVA sup
250
150
100
75
50
37
25
20
15

图13

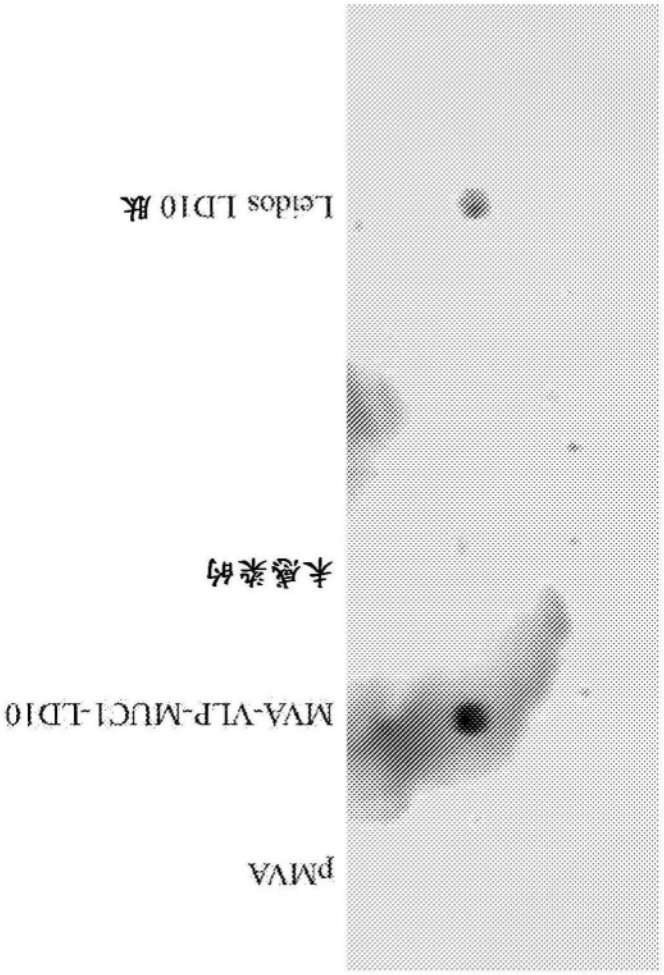


图14

	MUC1 (PFU)	pMVA (PFU)	%纯度
30 PFU	16.7	17	98.24
60 PFU	43.7	46.3	94.38

	MUC1 (PFU)	pMVA (PFU)
30 PFU	16	17
30 PFU	14	14
30 PFU	20	20
60 PFU	52	55
60 PFU	40	42
60 PFU	39	42

图15

	VP40 (PFU)	pMVA (PFU)	%纯度
30 PFU	21	22	95.45
60 PFU	35.7	37.7	94.69

	VP40 (PFU)	pMVA (PFU)
30 PFU	23	23
30 PFU	19	20
30 PFU	21	23
60 PFU	39	41
60 PFU	43	45
60 PFU	25	27

图16