



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108368157 B

(45) 授权公告日 2022. 04. 15

(21) 申请号 201680073839.5

(22) 申请日 2016.12.15

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108368157 A

(43) 申请公布日 2018.08.03

(30) 优先权数据
15200138.4 2015.12.15 EP
16194124.0 2016.10.17 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.06.15

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2016/081159 2016.12.15

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/102929 EN 2017.06.22

(73) 专利权人 扬森疫苗与预防公司
地址 荷兰莱顿

(72) 发明人 J·P·M·朗格戴克
B·C·S·卡朗德雷 D·范马嫩
A·克拉鲁普 J·施蒂茨
F·韦格曼 J·维林加

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002
代理人 左路 林晓红

(51) Int.Cl.

C07K 14/16 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102282175 A,2011.12.14

Nirmin Alsahafi等.《Effects of the I559P gp41 change on the conformation and function of the human immunodeficiency virus (HIV-1) membrane envelope glycoprotein trimer》.《Plos One》.2015,第10卷(第4期),1-26.

Nkosi S.P.G.等.Accession number: AAS98045.1,envelope glycoprotein[Human immunodeficiency virus 1].《Genbank》.2005, Origin和Feature部分.

Compans R W ET等.XP002757478, Recombinant protein gp41 heterologous transmembrane region,SEQ ID NO 1.《GENESEQ》.2009,全文.

Marasco W A等.XP002757480, Transmembrane domain peptide,SEQ ID NO 14.《GENESEQ》.2006,全文.

审查员 王奇

权利要求书2页 说明书30页
序列表59页 附图7页

(54) 发明名称

人类免疫缺陷病毒抗原、载体、组合物、及其使用方法

(57) 摘要

本文描述了合成的HIV包膜蛋白、载体及其组合物,以及用于诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的保护性免疫的方法。编码该合成的HIV包膜蛋白的病毒表达载体可用于疫苗中以提供针对HIV的改善的保护性免疫。

1. 一种编码合成的HIV包膜蛋白的核酸,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E,以及 (iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合。

2. 如权利要求1所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包含信号序列。

3. 如权利要求2所述的核酸,其中该信号序列包含选自由以下各项组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:9至SEQ ID NO:12。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包含跨膜结构域。

5. 如权利要求4所述的核酸,其中该跨膜结构域包含SEQ ID NO:13。

6. 如权利要求4所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包含融合到SEQ ID NO:8的C-末端和该跨膜结构域的N-末端的SEQ ID NO:37。

7. 如权利要求4所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包含细胞质结构域片段。

8. 如权利要求7所述的核酸,其中该细胞质结构域的片段包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列或其残基1-4。

9. 如以上权利要求1-3中任一项所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白包含该SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

10. 如权利要求1-3中任一项所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白:(a) 进一步包含三聚结构域,亦或 (b) 包含具有突变EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的組合的SEQ ID NO:8。

11. 如权利要求10所述的核酸,其中该三聚结构域具有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

12. 如权利要求10所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:19的残基1-686的氨基酸序列。

13. 一种包含如权利要求1-12中任一项所述的核酸的载体,其中该核酸可操作地连接至启动子序列。

14. 如权利要求13所述的载体,其是病毒载体。

15. 如权利要求14所述的载体,其是腺病毒载体。

16. 如权利要求15所述的载体,其中该腺病毒载体是人类腺病毒血清型26 (Ad26) 载体。

17. 一种分离的细胞,该分离的细胞包含如权利要求13-16中任一项所述的载体。

18. 一种组合物,该组合物包含免疫原性有效量的如权利要求13-16中任一项所述的载体、以及运载体。

19. 一种疫苗组合,该疫苗组合包含:

(i) 第一组合物,该第一组合物包含免疫原性有效量的腺病毒载体,该腺病毒载体编码包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白;

(ii) 第二组合物,该第二组合物包含免疫原性有效量的第二腺病毒载体,该第二腺病毒载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽;以及任选地

(iii) 至少一种另外的组合物,该至少一种另外的组合物包括免疫有效量的选自由以下各项组成的组的至少一种:

(iiia) 载体,该载体编码具有选自SEQ ID NO:1-4、28和29组成的组的氨基酸序列的抗原性多肽,和

(iiib) 包含免疫原性有效量的分离的HIV抗原性多肽的多肽,该分离的HIV抗原性多肽具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708或SEQ ID NO:36的残基30-724,

其中该第一组合物、第二组合物和另外的组合物存在于同一组合物或一种或多种不同组合物中。

20. 如权利要求19所述的疫苗组合,其中该腺病毒载体和该第二腺病毒载体都是腺病毒26载体。

21. 如权利要求19或20所述的疫苗组合,其中该合成的HIV包膜蛋白具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

22. 权利要求18所述的组合物或权利要求19-21中任一项所述的疫苗组合在制备用于在对其有需要的受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的药物中的用途。

23. 一种合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E,以及(iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合。

24. 如权利要求23所述的合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含(i) 具有突变EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的組合的SEQ ID NO:8; (ii) SEQ ID NO:18的氨基酸残基30-704,或(iii) SEQ ID NO:19的氨基酸残基30-686。

25. 一种腺病毒26载体,编码包含SEQ IN NO:18的氨基酸序列或由SEQ IN NO:18的氨基酸序列组成的合成的HIV包膜蛋白。

26. 一种组合物,包含腺病毒26载体,所述腺病毒26载体编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白。

27. 一种MVA载体,编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列或由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成的合成的HIV包膜蛋白。

人类免疫缺陷病毒抗原、载体、组合物、及其使用方法

背景技术

[0001] 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 影响全世界数百万人, 并且即使在广泛的抗逆转录病毒治疗的年代, 通过有效疫苗预防HIV仍然具有非常高的优先级。HIV-1是该病毒中最常见的并且致病的菌株, 其中超过90%的HIV/AIDS病例来源于HIV-1组M的感染。该M组进一步细分为分枝或亚型。有效疫苗理想地能够引发强大的细胞应答和广泛中和性抗体两者, 这些广泛中和性抗体能够中和来自不同分枝的HIV-1菌株。

[0002] HIV-1的高遗传变异性使得HIV-1疫苗的开发成为前所未有的挑战。为了改进潜在T-细胞表位的覆盖并改善细胞应答, 其他人描述并且开发了来源于HIV组抗原 (Gag)、聚合酶 (Pol)、和包膜蛋白 (Env) 蛋白的“花叶”HIV-1Gag、Pol和Env抗原, 试图提供潜在T-细胞表位的最大覆盖 (例如, 巴鲁什 (Barouch) 等人, 自然医学 (Nat Med) 2010, 16:319-323)。这些花叶抗原在长度和结构域结构上与野生型, 即天然存在的HIV-1抗原相似。

[0003] 例如, 在疫苗中描述并且使用的花叶HIV抗原包括巴鲁什 (Barouch) 等人 (同上), 以及WO 2010/059732中描述的那些, 如:

[0004] (a) Gag花叶抗原, 该Gag花叶抗原包括:

[0005] (a) (i) 具有如在本文SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列的第一花叶Gag序列 (“mos1Gag”), 以及

[0006] (a) (ii) 具有如在本文SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列的第二花叶Gag序列 (“mos2Gag”);

[0007] (b) Pol花叶抗原, 该Pol花叶抗原包括:

[0008] (b) (i) 具有如在本文SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列的第一花叶Pol序列 (“mos1Pol”), 以及

[0009] (b) (ii) 具有如在本文SEQ ID NO:4中所示的氨基酸序列的第二花叶Pol序列 (“mos2Pol”); 以及

[0010] (c) Env花叶抗原, 该Env花叶抗原包括:

[0011] (c) (i) 具有如在本文SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列的第一花叶Env序列 (“mos1Env”), 以及

[0012] (c) (ii) 具有如在本文SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列的第二花叶Env序列 (“mos2Env”)。

[0013] 将编码这些抗原的序列克隆在载体, 例如, 如重组腺病毒载体 (例如重组腺病毒血清型26 (rAd26)) 中, 并且这些重组载体先前用作疫苗以产生对这些抗原的免疫应答 (参见例如巴鲁什等人, 同上; 以及WO 2010/059732)。例如, 典型地将mos1Gag和mos1Pol花叶抗原序列组合到Gag和Pol的融合蛋白 (“mos1GagPol”) 中, 并且将其编码序列克隆进入第一Ad26载体 (“rAd26.mos1GagPol”) 中; 并且将mos2Gag和mos2Pol抗原序列组合到Gag和Pol的另一个融合蛋白 (“mos2GagPol”) 中, 并且将其编码序列克隆进入第二Ad26载体 (“rAd26.mos2GagPol”) 中。典型地将编码mos1Env和mos2Env的构建体克隆进入分开的Ad26载体 (分别为“rAd26.mos1Env”和“rAd26.mos2Env”) 中。

[0014] 一组如上所述的这样的花叶抗原给出了M组HIV-1分离株的良好的全局覆盖,其中编码花叶1抗原序列的rAd26载体(例如,rAd26.mos1GagPol和rAd26.mos1Env)有利于分枝B和CRF01HIV-1亚型,并且编码花叶2抗原序列的rAd26载体(例如,rAd26.mos2GagPol和rAd26.mos2Env)有利于分枝C菌株。在rAd26载体中表达的花叶HIV-1Gag、Pol和Env抗原可以用于提高猕猴中抗原特异性T淋巴细胞应答的宽度和深度,而与共有序列或天然序列HIV-1抗原相比不会损害细胞应答和体液应答的大小(巴鲁什等人,同上;以及WO 2010/059732)。

[0015] 然而,在对上述这些疫苗组分的进一步开发努力后,发现rAd26.mos2Env在非人类灵长动物中显示出非最佳的细胞表面表达和免疫应答,但是此外与其他rAd26载体(如rAd26.mos1Env)相比,其在制造过程期间显示出迄今未报告的、意想不到的和不可预测的非最佳遗传稳定性。因此,包含rAd26.mos2Env的疫苗可以导致针对分枝C HIV-1亚型的非最佳免疫应答,因为该mos2Env花叶抗原有利于分枝C HIV-1菌株。因此,对于抗HIV的疫苗中的mos2Env抗原的替代物存在需要,该替代物可用于诱导针对HIV-1分枝C的改善的免疫应答。

发明内容

[0016] 本发明涉及新颖的合成的人类免疫缺陷病毒(HIV)包膜蛋白,当与先前描述的mos2Env抗原相比时这些包膜蛋白具有改进的细胞表面表达和遗传稳定性。本发明还涉及以下组合物和方法,这些组合物和方法使用此类新颖的合成的HIV包膜蛋白和/或其编码序列以诱导抗HIV-1,特别是HIV-1分枝C的增加的免疫应答,优选地当这些组合物与其他HIV抗原组合使用时。

[0017] 在一个概述方面中,本发明涉及一种核酸,该核酸编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一个或多个选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P(即,在SEQ ID NO:8的位置529处的Ile取代为Pro), (ii) K480E(即,在SEQ ID NO:8的位置480处的Lys取代为Glu),以及(iii) EK479-480RRRR(即,在SEQ ID NO:8的位置479-480处的Glu-Lys被四个连续Arg残基替换)、I529P、A471C(即,在SEQ ID NO:8的位置471处的Ala取代为Cys)以及T575C(即,在SEQ ID NO:8的位置575处的Thr取代为Cys)的组合。在一个实施例中,该合成的HIV包膜蛋白进一步包含信号序列,例如具有选自下组的氨基酸序列的信号序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:9-12。在一个实施例中,该信号序列具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

[0018] 在某些实施例中,该合成的HIV包膜蛋白进一步包括跨膜结构域,优选地是具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的跨膜结构域。

[0019] 在某些实施例中,该合成的HIV包膜蛋白进一步包括细胞质结构域的片段,优选地是包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列、或其氨基酸1-4(即,NRVR)的细胞质结构域的片段。在其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包括跨膜结构域和细胞质结构域的片段的实施例中,优选的是该蛋白还包括被融合到SEQ ID NO:8的羧基-末端(C-末端)和该跨膜区域的氨基-末端(N-末端)的SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0020] 在另一个实施例中,该合成的HIV包膜蛋白包括三聚结构域,例如,包括SEQ ID NO:15(GCN4)或SEQ ID NO:16(foldon结构域)的氨基酸序列的三聚结构域。在一个优选实

施例中,该三聚结构域包括SEQ ID NO:15的氨基酸序列。具有三聚结构域的这些实施例对于基于本文提供的胞外结构域序列(如包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的胞外结构域序列)的可溶性(即,非膜结合的)的合成的HIV包膜蛋白是有用的,其中该三聚结构域位于该合成的HIV包膜蛋白的C-末端。

[0021] 在又其他的实施例中,该合成的HIV包膜蛋白包括具有以下突变:EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的SEQ ID NO:8。6个连续精氨酸残基(SEQ ID NO:8的天然序列中的位置478和481已经是Arg残基)的引入产生另外的优化的弗林蛋白酶(furin)切割位点,从而获得改进的加工的(即切割的)胞外结构域。I529P、A471C和T575C这三种突变被称为SOSIP突变,其中最后两个突变导致在新产生的半胱氨酸残基之间引入可能的二硫键。总的来说,这些突变导致可溶性的、三聚的、合成的HIV包膜蛋白,而不需要三聚结构域。

[0022] 在一个优选实施例中,本发明涉及一种核酸,该核酸编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包括SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18的氨基酸序列,或SEQ ID NO:19的aa 1-686。最优选地,由该核酸编码的该合成的HIV包膜蛋白包括SEQ ID NO:18的氨基酸序列或由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成。

[0023] 在另一概述方面中,本发明涉及一种载体,该载体包括编码根据本发明的实施例的合成的HIV包膜蛋白的核酸。在一个实施例中,该载体是病毒载体。在一个优选实施例中,该病毒载体是腺病毒载体。在一个优选实施例中,该腺病毒载体是腺病毒26载体。

[0024] 本发明的另一个概述方面涉及一种组合物,优选地是疫苗组合物,所述组合物包含免疫原性(immunogenically)有效量的根据本发明的实施例的载体、和运载体,其中编码该合成的HIV包膜蛋白的核酸可操作地连接至启动子序列。在一个实施例中,该组合物包含一种腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,所述腺病毒载体编码包括SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白。

[0025] 在另一概述方面中,本发明涉及一种用于在对其有需要的受试者体内诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的疫苗组合。该疫苗组合包括第一组合物,该第一组合物包括免疫原性有效量的载体,优选地是腺病毒载体,更优选地是腺病毒26载体,该载体编码具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白;第二组合物,该第二组合物包括免疫原性有效量的第二载体,优选地是第二腺病毒载体,更优选地是第二腺病毒26载体,该第二载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽;以及任选地至少一种另外的组合物,该另外的组合物包括免疫有效量的至少一种选自由以下各项组成的组:载体,该载体编码具有选自由SEQ ID NO:1-4、28和29组成的组的氨基酸序列的抗原性多肽,和包含免疫原性有效量的分离的HIV抗原性多肽的多肽,该分离的HIV抗原性多肽包括但不限于具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708的多肽或具有SEQ ID NO:36的残基30-724的多肽,其中该第一组合物、第二组合物和任选的另外的组合物是存在于同一组合物或一种或多种不同组合物中。

[0026] 本发明的又另一个概述方面涉及在对其有需要的受试者体内诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法,这些方法包括向该受试者给予根据本发明的实施例的组合物或疫苗组合。本发明还涉及诱导针对HIV的免疫应答的多种方法,这些方法包括使用根据本发明的实施例的组合物或疫苗组合来引发并增强该免疫应答。

[0027] 本发明的又另外的方面涉及一种合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包括

SEQ ID NO:8的、或具有一个或多个选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E, (iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合。在一个实施例中,这些合成的HIV包膜蛋白包括具有EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的突变的SEQ ID NO:8。在另一个实施例中,这些合成的HIV包膜蛋白包括SEQ ID NO:18的氨基酸序列的残基30-704或30-711。在又一个实施例中,这些合成的HIV包膜蛋白包括SEQ ID NO:19的氨基酸序列的残基30-686。

[0028] 本发明的另一方面涉及一种细胞,优选地是分离的细胞,所述细胞包括根据本发明的实施例的载体。

附图说明

[0029] 当连同附图一起阅读时,会更好理解先前概述以及以下本发明的详述。应理解的是本发明不限于附图中示出的准确实施例。

[0030] 在这些附图中:

[0031] 图1A-1C是HIV包膜蛋白结构的示意性表示;图1A示出了全长HIV包膜蛋白;图1B示出根据本发明的实施例的可溶性单链HIV包膜蛋白结构,其中该跨膜结构域(TM)被GCN4三聚结构域替换,并且该弗林蛋白酶切割位点是突变的(sC4);图1C示出根据本发明的实施例的膜结合HIV包膜蛋白的结构,该结构包括跨膜结构域和细胞质结构域的片段(C4D7);

[0032] 图2示出了可溶性sC1包膜蛋白的表达水平,该sC1包膜蛋白基于具有另外的C-末端三聚结构域的mos2Env花叶抗原序列、和根据本发明的实施例的可溶性合成的HIV包膜蛋白(sC4);表达通过使用针对gp120的多克隆抗体的定量蛋白质印迹法测量;将编码sC1或sC4的质粒瞬时表达两次,并且每次转染通过光密度测定法定量两次;相比于显示出相对高的表达水平的sC4合成的HIV包膜蛋白,该sC1蛋白显示出非常低的表达水平;

[0033] 图3A和3B示出在如通过ELISA测定而确定的可溶性CD4存在(浅灰色)和不存在(深灰色)的情况下,合成的HIV包膜蛋白与单克隆抗体17b (mAb17b)的结合;图3A示出sC1的结合;图3B示出sC4的结合;

[0034] 图4是来自sC1蛋白和sC4合成的HIV包膜蛋白的天然聚丙烯酰胺凝胶电泳的蛋白质印迹的图像;

[0035] 图5示出了使用抗gp120多克隆抗体(GP120)通过表达这些蛋白质的细胞的FACS分析,并且通过结合至广泛中和性抗体PG9 (PG9)和PG16 (PG16)的膜结合的C1、C1D7、C4和C4D7合成的HIV包膜蛋白的相对细胞表面表达水平,该广泛中和性抗体PG9和PG16是四级结构依赖性的并且优先结合正确折叠的Env三聚体;

[0036] 图6是在多次病毒传代后腺病毒载体的稳定性的图示,这些腺病毒载体含有编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的序列,这些序列包括全长C4 (FLC4)、C4D7和sC4;在PER.C6细胞中产生重组腺病毒26载体;在用于转染和噬斑纯化的最初3次传代后,选择5个噬菌斑并以T25形式扩增10代,导致总病毒传代数(vpn)为13;示出了如通过E1转基因盒聚合酶链式反应(PCR)测定的vpn 3、5、10和13之后的稳定性;例如,3/5是指5个测试的噬菌斑中的3个噬菌斑是稳定的,并且5/5是指5个测试的噬菌斑中的5个噬菌斑是稳定的;并且

[0037] 图7A和7B示出了在兔子中的基于T2M-b1细胞的中和测定中针对HIV-1包膜假型病毒颗粒(EVP)的病毒中和效价;在第1周、第8周、第14周和第20周,针对EVP VSV-G (阴性对

照)和MW965.26 (Tier 1A分枝C) 测量高腺病毒载体给药组的log10-转化的IC₅₀值;每个点表示单独的兔的log10-转化的IC₅₀值,组平均值由水平线表示;HD:测试的最高稀释度(上部实线);LD:测试的最低稀释度(下部实线);LOB:背景的限值,编译的阴性样品的95百分位值(虚线);在相应的线处设置超过LD或HD阈值的Log10IC₅₀值;对每个时间点使用联合分级的Dunn方法与对照进行单向非参数比较;这些图中示出了以下统计显著差异:*= $P<0.05$,**= $P<0.01$,以及***= $P<0.001$;图7A示出了VSV-G(阴性对照)的结果;并且图7B示出了MW965.26(Tier 1A分枝C)的结果。

具体实施方式

[0038] 在背景和整个说明书中引用或描述了各种出版物、文章和专利;这些参考文献中的每一篇均通过引用以其整体结合在此。包括在本说明书中的文件、法案、材料、装置、物品或类似物的讨论用于提供本发明的背景的目的。这种讨论不承认任何或所有这些事项形成关于所披露或要求保护的发明的现有技术的一部分。

[0039] 除非另外指明,本文所用的所有科学技术术语具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同含义。否则,本文使用的某些术语具有如说明书中示出的含义。本文引用的所有专利、公开专利申请和出版物如同完全列出一样通过引用结合在此。必须注意,除非上下文另外明确指示,否则如在此和所附权利要求中所使用,单数形式“一个/一种(a/an)”和“该”包括复数指示物。

[0040] 如在此所使用,“受试者”是指将向其给予或已经给予根据本发明的实施例的载体、组合物或组合疫苗的任何动物,优选地是哺乳动物,最优选地是人类。如在此所用的术语“哺乳动物”涵盖任何哺乳动物。哺乳动物的实例包括但不限于牛、马、羊、猪、猫、狗、小鼠、大鼠、兔、豚鼠、猴、人等,更优选地是人。

[0041] 本发明总体上涉及合成的HIV包膜蛋白、编码这些合成的HIV的包膜蛋白的核酸和载体、以及用编码这些合成的HIV的包膜蛋白的载体或这些合成的HIV的包膜蛋白单独地或与一种或多种另外的编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽的载体组合地,和/或与一种或多种另外的分离的HIV抗原性多肽组合地诱导针对HIV的免疫应答的方法。

[0042] 人类免疫缺陷病毒(HIV)是慢病毒属(Lentivirinae)的成员,其是逆转录病毒科(Retroviridae)的一部分。两种HIV感染人类:HIV-1和HIV-2。HIV-1是最常见的HIV病毒的菌株,并且已知比HIV-2更致病。如在此所使用,术语“人类免疫缺陷病毒”和“HIV”是指但不限于HIV-1和HIV-2。

[0043] HIV被分类为具有高度遗传趋异的多个分枝。如在此所使用,术语“HIV分枝”或“HIV亚型”是指根据它们的遗传相似性程度进行分类的相关人类免疫缺陷病毒。目前存在三组HIV-1分离株:M、N和O。M组(主要菌株)由至少从A至J的十个分枝组成。O组(外部菌株)可以由相似数目的分枝组成。N组是未分类于M或O组中的新HIV-1分离株。

[0044] 如在此所使用,术语“HIV抗原性多肽”、“HIV抗原蛋白”、和“HIV免疫原”是指能够在受试者中诱导针对HIV的免疫应答,例如体液和/或细胞介导的应答的多肽。该抗原性多肽可以是HIV的蛋白质、其片段或表位、或其多个HIV蛋白或部分的组合,其可以在受试者中诱导针对HIV的免疫应答或产生免疫,例如保护性免疫。

[0045] 优选地,抗原性多肽能够在宿主中产生保护性免疫应答,例如诱导针对病毒性疾

病或感染的免疫应答,和/或在受试者中产生针对病毒性疾病或感染的免疫(即接种),其保护受试者免受病毒性疾病或感染。例如,该抗原性多肽可以包含来自猿猴免疫缺陷病毒(SIV)或HIV的蛋白质或其片段,如HIV或SIV包膜gp160蛋白,HIV或SIV基质/衣壳蛋白,以及HIV或SIV gag、pol和env基因产物。

[0046] HIV抗原性多肽可以是任何HIV-1或HIV-2抗原或其片段。HIV抗原的实例包括但不限于gag、pol、和env基因产物,这些基因产物编码结构蛋白和必需酶。Gag、pol、和env基因产物被合成为多蛋白,这些多蛋白被进一步加工成多个其他蛋白产物。该gag基因的初级蛋白产物是病毒结构蛋白gag多蛋白,其被进一步加工成MA、CA、SP1、NC、SP2以及P6蛋白产物。该pol基因编码病毒酶(Pol,聚合酶),并且该初级蛋白产物被进一步加工成RT、RNase H、IN、以及PR蛋白产物。该env基因编码结构蛋白,尤其病毒体包膜的糖蛋白。该env基因的初级蛋白产物是gp160,gp160被进一步加工成gp120和gp41。HIV抗原的其他实例包括基因调节蛋白Tat和Rev;辅助蛋白Nef、Vpr、Vif和Vpu;衣壳蛋白、核衣壳蛋白、以及p24病毒蛋白。

[0047] 在某些实施例中,该HIV抗原性多肽包括HIV Gag、Env、或Pol抗原、或任何抗原部分或其表位或组合,优选地是HIV-1Gag、Env、或Pol抗原或任何抗原部分或其表位或组合。

[0048] HIV抗原性多肽还可以是花叶HIV抗原。如在此所使用,“花叶抗原”是指自天然序列的片段组装的重组蛋白。花叶抗原类似于天然抗原,但被优化以最大化在天然序列中发现的潜在T细胞表位的覆盖,这提高了免疫应答的宽度和覆盖。用于本发明的花叶HIV抗原优选地是花叶Gag、Pol、和/或Env抗原,并且更优选地是花叶HIV-1Gag、Pol、和/或Env抗原。如在此所使用,“花叶HIV Gag、Pol、和/或Env抗原”尤其是指包含来源于HIV的一个或多个Gag、Pol和/或Env多蛋白序列的多个表位的花叶抗原。

[0049] 在一个实施例中,用于本发明的花叶HIV抗原是具有来源于gag基因产物的序列的表位的花叶HIV Gag抗原(SEQ ID NO:1、2中提供了实例);是具有来源于pol基因产物的序列的表位的花叶HIV Pol抗原(SEQ ID NO:3、4中提供了实例);或是具有来源于env基因产物的序列的表位的花叶HIV Env抗原(SEQ ID NO:5、6中提供了实例;还有例如在SEQ ID N:8、17、18、19中的本发明的新颖抗原可以被认为是花叶HIV Env抗原)。在某些实施例中,用于本发明的花叶HIV抗原可以包括来源于gag、pol、和/或env基因产物的表位的组合。说明性的和非限制的实例包括具有来源于env和pol基因产物的序列的表位的花叶Env-Pol抗原;具有来源于gag和pol基因产物的序列的表位的花叶Gag-Pol抗原;以及具有来源于gag和env基因产物的序列的表位的花叶Gag-Env抗原。gag、pol、和env基因产物的序列可以来源于一种或多种分枝。

[0050] 可以用于本发明中的花叶HIV Gag、Pol和/或Env抗原的实例包括描述于例如US20120076812;巴鲁什等人,自然医学(Nat Med)2010,16:319-323;以及巴鲁什等人,细胞(Cell)155:1-9,2013中的那些,所有这些文献都以其整体通过引用结合在此。优选地,用于本发明的花叶HIV Gag、Pol、和/或Env抗原包括但不限于mos1Gag(SEQ ID NO:1)、mos2Gag(SEQ ID NO:2)、mos1Pol(SEQ ID NO:3)、mos2Pol(SEQ ID NO:4)、mos1Env(SEQ ID NO:5)、mos2Env(SEQ ID NO:6)、mos1GagPol(SEQ ID NO:28)、mos2GagPol(SEQ ID NO:29)、以及其组合。

[0051] 如本文所使用,术语“HIV包膜蛋白”、“env蛋白”、和“Env”各自是指HIV病毒体的包膜上表达,并且使得HIV靶向并附着于HIV感染的细胞的质膜上的蛋白质或其片段或衍生

物,这些蛋白质或片段或衍生物可以在对其有需要的受试者中诱导针对HIV的免疫应答或产生针对HIV的免疫。该HIV env基因编码前体蛋白gp160,该前体蛋白gp160被蛋白质裂解地切割成两种成熟的包膜糖蛋白,即gp120和gp41。该切割反应由宿主细胞蛋白酶(弗林蛋白酶)在逆转录病毒包膜糖蛋白前体中的高度保守的序列处介导。更具体地,gp160三聚化为 $(gp160)_3$,并且然后经历切割成为两个非共价缔合的gp120和gp41。病毒进入随后由gp120/gp41异源二聚体的三聚体介导。Gp120是受体结合片段,并且结合到靶细胞上的CD4受体上,该靶细胞具有这样的受体如,例如T-辅助细胞。非共价结合至gp120的Gp41是融合片段并且提供HIV进入细胞的第二步骤。Gp41最初埋在该病毒包膜内,但当gp120与CD4受体结合时,gp120改变其构象,从而导致gp41暴露,其中它可以帮助与宿主细胞融合。Gp140是三聚gp160,即 $(gp160)_3$ 的未切除的胞外结构域,其被用作天然状态的切割的病毒刺突的替代物。

[0052] 根据本发明的实施例,“HIV包膜蛋白”可以是gp160、gp140、gp120、gp41蛋白,其组合,融合物,截短物或衍生物。例如,“HIV包膜蛋白”可以包括与gp41蛋白非共价缔合的gp120蛋白。它还可以包括稳定的三聚gp140蛋白,该三聚gp140蛋白可以具有或可以被修饰以包括三聚结构域,该三聚结构域稳定gp140的三聚体。三聚结构域的实例包括但不限于T4-fibrin“foldon”三聚结构域;来源于GCN4的卷曲螺旋三聚结构域;以及作为三聚体标签的大肠杆菌天冬氨酸转氨甲酰酶的催化亚基。“HIV包膜蛋白”还可以是截短的HIV包膜蛋白,该截短的HIV包膜蛋白包括但不局限于包含在胞外结构域(即,延伸至细胞外空间的结构域)中的C-末端截短、在gp41中的截短物(如在gp41的跨膜结构域中的截短物,或在gp41的细胞质结构域中的截短物)的包膜蛋白。“HIV包膜蛋白”可以进一步是天然存在的HIV包膜蛋白的衍生物,该HIV包膜蛋白的衍生物具有例如在弗林蛋白酶切割位点中的序列突变、和/或所谓的SOSIP突变。

[0053] 优选地,“HIV包膜蛋白”是“合成的HIV包膜蛋白。”如在此所使用,术语“合成的HIV包膜蛋白”是指非天然存在的HIV包膜蛋白,其在对其有需要的受试者中针对一种或多种天然存在的HIV菌株诱导免疫应答或产生免疫。花叶HIV Env蛋白是合成的HIV Env蛋白的实例,并且本发明提供了新颖的合成的HIV Env抗原,例如包含SEQ ID NO:8、17、18、或19的那些。

[0054] 合成的HIV包膜蛋白及其编码序列

[0055] 本发明的实施例涉及新颖的合成的HIV包膜蛋白和编码这些的核酸分子。

[0056] 在一个实施例中,本发明涉及合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E,以及 (iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合。SEQ ID NO:8包括合成的成熟gp120和合成的截短gp41,该合成的截短gp41不具有跨膜区域,也不具有细胞质结构域。SEQ ID NO:8是非天然存在的序列,其包含来自该mos2Env花叶抗原(SEQ ID NO:6)的序列和其他HIV包膜蛋白序列的嵌合体。包含SEQ ID NO:8的新颖的合成的Env抗原的序列被优化以提供针对HIV分枝C的广泛覆盖和增强的T-细胞应答(当与该mos2Env抗原(SEQ ID NO:6)相比时)。在某些实施例中,另外的氨基酸可以添加至SEQ ID NO:8中或本文所定义的它的变体之一中。

[0057] 在某些实施例中,该合成的HIV包膜蛋白进一步包括信号序列。该合成的HIV包膜

蛋白使用信号序列合成,所述信号序列在其转运到内质网(ER)的腔内期间从新生多肽链切割。原则上,可以使用任何已知的信号序列。优选地使用HIV Env信号序列或其变体。本领域中已经使用针对HIV Env蛋白的不同信号序列(参见例如,WO 2014/107744)。在某些实施例中,该信号序列包括SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11或SEQ ID NO:12。在一个优选实施例中,该信号序列包括SEQ ID NO:9。

[0058] 在某些实施例中,该合成的HIV包膜蛋白进一步包括跨膜结构域。该跨膜结构域将合成的HIV包膜蛋白锚定到该ER膜上,并且有助于膜组装和HIV包膜的功能。优选地,该跨膜结构域包括SEQ ID NO:13。

[0059] 在另一个实施例中,该合成的HIV包膜蛋白包括具有截短的细胞质结构域的gp41。该gp41在其羧基末端具有异常长的细胞质结构域,通常约150个氨基酸(爱德华兹(Edwards)等人,病毒学杂志(J.Virology),2002,76:2683-2691)。据报道该细胞质结构域的截短诱导HIV-1Env蛋白的胞外结构域中的保守区域的暴露(Id.)。本发明的合成的HIV包膜中的截短的细胞质结构域可以在从一个至约140个氨基酸的范围内,如全长细胞质结构域的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、或140个氨基酸。在某些实施例中,通过给定的氨基酸直到C-末端之后的截短,该截短的细胞质结构域来源于SEQ ID NO:17的氨基酸704-862(即,来源于本发明的C4分子的细胞质结构域)。在一个优选实施例中,该合成的HIV包膜蛋白包括截短的细胞质结构域,该截短的细胞质结构域具有HIV gp41细胞质结构域的1至10个氨基酸残基,更优选地4至8个氨基酸残基,并且最优选地7个氨基酸残基。合成的HIV包膜蛋白的细胞质结构域或其片段位于该细胞外结构域(细胞外结构域(ectodomain))的C-末端,并且当该合成的HIV包膜蛋白还包括跨膜结构域时,该细胞质结构域或其片段位于该跨膜结构域的C-末端。参见,例如,图1A和1C。在一个特定实施例中,该合成的HIV包膜蛋白包括具有截短的细胞质结构域的gp41,该截短的细胞质结构域具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列或其片段,如其残基1-4(即NRVR)。已经描述了并且可使用其他截短的细胞质结构域(例如Schiernle等人,美国科学院院刊(PNAS),1997;亚伯拉罕(Abrahamyan)等人,病毒学杂志(J Virology)2005)。

[0060] 在其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包括跨膜结构域和细胞质结构域的片段的实施例中,优选的是该蛋白还包括SEQ ID NO:37的氨基酸序列,该SEQ ID NO:37包含SEQ ID NO:18的残基655-682,其中SEQ ID NO:37的氨基酸序列被融合到SEQ ID NO:8的C-末端和该跨膜结构域的N-末端。

[0061] 在本发明的一个特别优选的实施例中,该合成的HIV包膜蛋白进一步包括跨膜结构域,例如具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的那些和截短的细胞质结构域或细胞质结构域的片段例如具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列或SEQ ID NO:14的残基1-4(即,NRVR)的那些。最优选地,该合成的HIV包膜蛋白包括SEQ ID NO:18的氨基酸序列,具有或没有信号序列(即,SEQ ID NO:18的氨基酸残基1-29)或由其组成。

[0062] 在另一个实施例中,该合成的HIV包膜蛋白包括替代Env跨膜区域的三聚结构域。该三聚结构域增加了Env三聚结构的稳定性。优选地,该合成的HIV包膜蛋白包括gp140多肽,该gp140多肽被修饰以包括稳定gp140的三聚体的三聚结构域。三聚结构域的实例包括但不限于T4-fibritin“foldon”三聚结构域,如包含SEQ ID:16的氨基酸序列的那些;来源于GCN4的卷曲螺旋三聚结构域,如包含SEQ ID:15的氨基酸序列的那些;作为三聚体标签的

大肠杆菌天冬氨酸转氨甲酰酶的催化亚基;或基于软骨基质蛋白的三聚基序。如果存在时,该三聚结构域通常位于该细胞外结构域的C-末端(参见图1B)。在某些优选实施例中,其中该合成的HIV包膜蛋白包括三聚结构域,该合成的HIV包膜蛋白包括SEQ ID NO:19的氨基酸序列,具有或没有信号序列(即,SEQ ID NO:19的氨基酸残基1-29)。具有三聚结构域的这些实施例主要用于该合成的HIV包膜蛋白的可溶性胞外结构域变体。在本发明的此类可溶性变体的某些实施例中,有可能对该弗林蛋白酶切割位点进行突变(例如在SEQ ID NO:8的位置480处的Lys突变为Glu)以使这个切割位点失活,从而使得该蛋白质将是一条单链;它与三聚结构域,尤其是与SEQ ID NO:19的GCN4三聚结构域良好地结合。

[0063] 不使用三聚结构域的该合成的HIV包膜蛋白的此类可溶性细胞外结构域的可替代版本也是本发明的实施例,并且可以通过将优化该弗林蛋白酶切割位点的突变(在位置479-480处的Gly-Lys二肽被四个Arg残基替换)以及所谓的S0SIP突变(在位置529处的I>P突变,并且在位置471和575之间通过置换在SEQ ID NO:8中各自具有Cys残基的那些位置上的相应Ala和Thr而引入二硫键)进行合并来从SEQ ID NO:8制备。这产生一种蛋白质,该蛋白质具有以下突变的组合的SEQ ID NO:8的氨基酸序列:EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C。

[0064] 进一步增加本发明的合成的HIV包膜蛋白(包含SEQ ID NO:8)的三聚体含量的一种可能的修饰是位置529处的Ile到Pro的修饰。这对于可溶性变体和膜结合变体两者都可以是有效的。

[0065] 载体

[0066] 本发明的另一个概述方面涉及包含编码合成的HIV包膜蛋白的核酸的载体。根据本发明的实施例,这些载体可以包含本文所述的任何合成的HIV包膜蛋白。在本发明的一个优选实施例中,该载体包含编码以下合成的HIV包膜蛋白的核酸,该HIV包膜蛋白包括SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、或SEQ ID NO:19的氨基酸序列,并且更优选地是SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0067] 根据本发明的实施例,编码该合成的HIV包膜蛋白的核酸可操作地连接至启动子,这意味着该核酸在启动子的控制下。该启动子可以是同源启动子(即,来源于相同的作为载体的遗传来源)或异源启动子(即,来源于不同载体或遗传来源)。适合的启动子的实例包括巨细胞病毒(CMV)启动子和劳氏肉瘤病毒(RSV)启动子。优选地,该启动子位于表达盒内的核酸的上游。可以可操作地连接至编码该合成的HIV包膜蛋白的核酸的示例性CMV启动子序列示于SEQ ID NO:24中。

[0068] 根据本发明的实施例,载体可以是表达载体。表达载体包括但不限于用于重组蛋白表达的载体和用于将核酸递送至受试者中用于在该受试者的组织中表达的载体,例如病毒载体。适合用于本发明的病毒载体的实例包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、痘病毒载体、MVA载体、肠系病毒载体、委内瑞拉马脑炎病毒载体、塞姆利基森林病毒载体、烟草花叶病毒载体、慢病毒载体等。该载体还可以是非病毒载体。非病毒载体的实例包括但不限于质粒、细菌人工染色体、酵母人工染色体、噬菌体等。

[0069] 在本发明的某些实施例中,该载体是腺病毒载体。根据本发明的腺病毒属于腺病毒科,并且优选地是属于哺乳动物腺病毒(Mastadenovirus)属的一种。它可以是人类腺病毒,但还可以是感染其他物种的腺病毒,包括但不限于牛腺病毒(例如牛腺病毒3、BAdV3)、

犬腺病毒(例如CAdV2)、猪腺病毒(例如PAdV3或PAdV5)、或猿猴腺病毒(其包括猴腺病毒和猿腺病毒,如黑猩猩腺病毒或大猩猩腺病毒)。优选地,该腺病毒是人类腺病毒(HAdV、或AdHu)、或猿猴腺病毒如黑猩猩或大猩猩腺病毒(ChAd、AdCh、或SAdV)。在本发明中,人类腺病毒是指如果称为Ad而不指明物种,例如该简短符号“Ad26”表示与HadV26相同,该HadV26是人腺病毒血清型26。还如在此所使用的,符号“rAd”是指重组腺病毒,例如,“rAd26”是指重组人类腺病毒26。

[0070] 已使用人腺病毒进行大多数高级研究,并且根据本发明的某些方面,人腺病毒是优选的。在某些优选实施例中,根据本发明的重组腺病毒是基于人腺病毒。在优选的实施例中,该重组腺病毒基于人腺病毒血清型5、11、26、34、35、48、49、50、52等。根据本发明的一个特别优选的实施例,腺病毒是人腺病毒血清型26。这种血清型的优点是在人群中的低血清阳性率和/或低预先存在的中和抗体效价,以及在临床试验中用于人类受试者的经验。

[0071] 猿猴腺病毒总体上也具有在人群中的低血清阳性率和/或低预先存在的中和抗体效价,并且已经报道了大量使用黑猩猩腺病毒载体的工作(例如,US6083716;WO 2005/071093;WO 2010/086189;WO 2010085984;法里纳(Farina)等人,2001,病毒学杂志(J Virol) 75:11603-13[13];科恩(Cohen)等人,2002,普通病毒学杂志(J Gen Virol) 83:151-55[69];科宾格(Kobinger)等人,2006,病毒学(Virology) 346:394-401[70];Tatsis等人,2007,分子治疗(Molecular Therapy) 15:608-17[71];还参见由Bangari和Mittal,2006,疫苗(Vaccine) 24:849-62[72]的综述;以及由拉莎诺(Lasaro)和埃特尔(Ertl),2009,分子治疗(Mol Ther) 17:1333-39[73]的综述)。因此,在其他的实施例中,根据本发明的重组腺病毒是基于猿猴腺病毒,例如黑猩猩腺病毒。在某些实施例中,该重组腺病毒是基于猿猴腺病毒类型1、7、8、21、22、23、24、25、26、27.1、28.1、29、30、31.1、32、33、34、35.1、36、37.2、39、40.1、41.1、42.1、43、44、45、46、48、49、50或SA7P。

[0072] 优选地,该腺病毒载体是复制缺陷型重组病毒载体,如rAd26、rAd35、rAd48、rAd5HVR48等。

[0073] 在本发明的一个优选实施例中,这些腺病毒载体包括来自罕见血清型的衣壳蛋白,包括Ad26。在典型实施例中,该载体是rAd26病毒。“腺病毒衣壳蛋白”是指在腺病毒(例如,Ad26、Ad35、rAd48、rAd5HVR48载体)的衣壳上的蛋白质,该腺病毒衣壳蛋白参与确定特定的腺病毒的血清型和/或趋向性。腺病毒衣壳蛋白典型地包括纤维、五邻体蛋白和/或六邻体蛋白。如在此所使用的用于特定腺病毒的“衣壳蛋白”(如“Ad26衣壳蛋白”)可以是例如包括至少一部分Ad26衣壳蛋白的嵌合的衣壳蛋白。在某些实施例中,该衣壳蛋白是Ad26的整个衣壳蛋白。在某些实施例中,该六邻体、五邻体和纤维都是Ad26的。

[0074] 本领域的普通技术人员将认识到来源于多个血清型的元件可以被组合在单一的重组腺病毒载体中。因此,可以产生组合了来自不同血清型的所希望性质的嵌合腺病毒。因此,在一些实施例中,本发明的嵌合腺病毒可以将第一血清型的预先存在的免疫性的缺失与以下特征相结合:如温度稳定性、组装、锚定、产量、重定向或改善的感染、靶细胞中DNA的稳定性等。

[0075] 在某些实施例中,本发明中有用的重组腺病毒载体主要或完全来源于Ad26(即,该载体是rAd26)。在某些实施例中,该腺病毒是复制缺陷的,例如,因为它包含基因组的E1区域中的缺失。对于来源于非类群C的腺病毒(如Ad26或Ad35)的腺病毒,典型地是将腺病毒的

E4-orf6编码序列与人类亚群C(如Ad5)的腺病毒的E4-orf6交换。这允许在表达Ad5的E1基因的熟知的补充细胞系中此类腺病毒的繁殖,如例如293细胞或PER.C6细胞等(参见,例如哈文格(Havenga)等人,2006,普通病毒学杂志(J Gen Virol) 87:2135-43;WO 03/104467)。然而,这样的腺病毒将不能在不表达Ad5的E1基因的非补充细胞中复制。

[0076] 重组腺病毒载体的制备在本领域中是熟知的。例如在WO 2007/104792中和在阿宾克(Abbink)等人,(2007)病毒学(Virol) 81(9):4654-63中描述了rAd26载体的制备。Ad26的示例性基因组序列发现于GenBank登录号EF 153474中和WO 2007/104792的SEQ ID NO:1中。用于本发明的载体的实例例如包括描述于WO2012/082918中的那些,将其披露内容以其整体通过引用结合在此。

[0077] 典型地,使用核酸来产生本发明中有用的载体,该核酸包括整个重组腺病毒基因组(例如,质粒、粘粒、或杆状病毒载体)。因此,本发明还提供了分离的核酸分子,这些分离的核酸分子编码本发明的这些腺病毒载体。本发明的这些核酸分子可以处于RNA形式或处于通过克隆获得或合成产生的DNA形式。该DNA可以是双链或单链的。

[0078] 本发明中有用的这些腺病毒载体典型地是复制缺陷的。在这些实施例中,该病毒通过使对病毒复制关键的区域(例如E1区域)缺失或失活而变得复制缺陷。可以通过在所述区域内例如插入感兴趣的基因,如编码合成的HIV包膜蛋白的基因(通常连接至启动子),或编码HIV抗原性多肽的基因(通常连接至启动子)来使这些区域基本上缺失或失活。在一些实施例中,本发明的这些载体可以包含其他区域如E2、E3或E4区域中的缺失,或这些区域中的一个或多个内的连接至启动子的异源基因的插入。对于E2-和/或E4-突变的腺病毒,一般使用E2-和/或E4补充细胞系来产生重组腺病毒。该腺病毒的E3区域中的突变不需要被细胞系补充,因为对于复制E3是需要的。

[0079] 通常使用包装细胞系来生产足够量的用于在本发明中使用的腺病毒载体。包装细胞是包含在复制缺陷型载体中缺失或失活的那些基因的细胞,因此允许了该病毒在该细胞中复制。适合用于在该E1区域具有缺失的腺病毒的包装细胞系包括,例如,PER.C6、911、293、以及E1A549。

[0080] 根据本发明的实施例,并且如以上所指出的,本文所述的任何合成的HIV包膜蛋白可以在本发明的这些载体中表达。鉴于遗传密码的简并性,技术人员将充分意识到可以根据本领域中完全常规的方法来设计编码相同蛋白质的若干种核酸序列。编码该合成的HIV包膜蛋白的核酸可以任选地是密码子优化的,以确保在所治疗的宿主(例如,人类)中的适当的表达。密码子优化是广泛应用于本领域中的技术。SEQ ID NO:25、26和27中提供了一些编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的序列的非限制性实例。典型地,编码该合成的HIV包膜蛋白的核酸被克隆入该腺病毒基因组的E1和/或E3区域。

[0081] 在本发明的一个优选实施例中,该载体是腺病毒载体,并且更优选地是rAd26载体,最优选地是在该腺病毒基因组的E1区域内具有至少一个缺失的rAd26载体,例如如在阿宾克(Abbink),病毒学杂志(J Virol),2007.81(9):第4654-63页中描述的,将其通过引用结合在此。

[0082] 本发明还提供了细胞,优选地是包含本文所述的任何载体的分离的细胞。这些细胞可以用于生产重组蛋白质,或用于生产病毒颗粒。

[0083] 因此,本发明的实施例还涉及制造合成的HIV抗原性多肽的方法。该方法包括用表

达载体转染宿主细胞,所述表达载体包含可操作地连接至启动子的编码该合成的HIV抗原性多肽的核酸;在适合于表达该合成的HIV抗原性多肽的条件下培养该转染的细胞,并从该细胞分离该合成的HIV抗原性多肽。可以通过本领域中已知的任何方法(包括亲和层析等)从该细胞中分离或收集该合成的HIV抗原性多肽。鉴于本披露,用于重组蛋白表达的技术将是本领域普通技术人员所熟知的。

[0084] 本发明还包括用于生产编码本发明的合成的HIV抗原性多肽的载体的方法,该方法包括培养包含该载体的细胞以在所述培养期间繁殖和增殖该载体,并从该细胞培养物(例如,从细胞、从培养基或两者)中分离编码本发明的合成的HIV抗原性多肽的载体。可以根据本领域已知的方法进一步纯化该载体。

[0085] 在某些实施例中,本发明提供了根据本发明的实施例的载体,该载体包含编码合成的HIV抗原性多肽的核酸,并且在某些示例性实施例中,该核酸具有选自下组的核苷酸序列,该组以下各项组成:SEQ ID NO:25、26和27。

[0086] 组合物

[0087] 在另一个概述方面中,本发明涉及包含载体和运载体的组合物,该载体包含编码合成的HIV包膜蛋白的核酸。根据本发明的实施例,本文所述的任何载体可以包括在该组合物中。优选地,该载体是病毒载体,更优选地是腺病毒载体,并且甚至更优选地是腺病毒26载体。在一个优选实施例中,组合物包含腺病毒载体,优选地是编码合成的HIV包膜蛋白的腺病毒26载体,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:18、或SEQ ID NO:19的氨基酸序列,并且更优选地是SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0088] 在一个方面,本发明提供了包含一种或多种载体的组合疫苗,这些载体一起包含编码以下各项的核酸序列:(i)合成的HIV包膜蛋白,其包含SEQ ID NO:8(例如SEQ ID NO:18或19)的氨基酸序列,和(ii)第二HIV包膜蛋白,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。这些载体可以各自在单独的组合物中,或可被结合在单一的组合物中。旨在向一个受试者给予在一个或多个载体中的这两种核酸,这将导致对HIV的免疫应答,其比给予任一单独的载体时将获得的免疫应答更广泛。这两种核酸序列还可以存在于单一的载体上。

[0089] 根据本发明的实施例,组合物包含免疫原性有效量的载体,如病毒载体。如在此所使用的,“免疫原性有效量”或“免疫有效量”是指足以在对其有需要的受试者中诱导所需免疫效应或免疫应答的组合物量。在一个实施例中,免疫原性有效量是指足以在对其有需要的受试者中诱导免疫应答的量。在另一个实施例中,免疫原性有效量是指足以在对其有需要的受试者中产生免疫,例如,提供对抗疾病例如病毒感染的保护效应的量。免疫原性有效量可以根据多种因素而变化,诸如受试者的身体状况、年龄、体重、健康等;具体应用,是否诱导免疫应答或提供保护性免疫;给予的特定重组载体;由所给予的重组载体编码的免疫原或抗原性多肽;给予的特异性抗原性多肽;以及需要免疫的具体疾病,例如病毒感染。考虑到本披露,通过本领域普通技术人员可以容易地确定免疫原性有效量。

[0090] 作为一般指导,当参考重组病毒载体如腺病毒载体使用时,免疫原性有效量可以在从约 10^8 个病毒颗粒至约 10^{12} 个病毒颗粒,例如 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、或 10^{12} 个病毒颗粒的范围内。免疫原性有效量可以以单一组合物或多个组合物,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个组合物(例如,片剂,胶囊或注射剂)给予,其中所述多个胶囊或注射剂的给予共同以免疫有效量提供给受试者。一般而言,当参考多肽(如分离的抗原性多肽)使用时,免疫原性有效量可

以在从例如约0.3至约3000微克(μg)的范围内,例如1-1000 μg ,例如10-500 μg ,例如约10、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500 μg 。作为非限制性实例,有可能将编码本发明的合成的HIV Env抗原(具有SEQ ID NO:8)的载体的给予与Env多肽,例如250 μg 的具有SEQ ID NO:7的氨基酸30-708的HIV分枝C Env三聚体蛋白的给予进行合并。在所谓的初免-加强方案中,还有可能向受试者给予免疫原性有效量,并且随后向同一受试者给予另一剂量的免疫原性有效量。初免-加强方案的一般概念是疫苗领域的技术人员熟知的。如果需要,可以任选地向该方案中加入另外的加强给予。

[0091] 本发明的组合物进一步包括运载体。运载体可以包括一种或多种药学上可接受的赋形剂,如粘合剂、崩解剂、蓬松剂、助悬剂、乳化剂、润湿剂、润滑剂、调味剂、甜味剂、防腐剂、染料、增溶剂以及涂层。该运载体或其它物质的确切性质可以取决于给药途径,例如肌内、皮下、口服、静脉内、皮肤、粘膜内(例如,肠)、鼻内或腹膜内途径。对于液体可注射制剂(例如,悬浮液和溶液),适合的运载体和添加剂包括水、乙二醇、油、醇、防腐剂、着色剂等。对于固体口服制剂(例如散剂、胶囊、囊片、软胶囊和片剂),适合的运载体和添加剂包括淀粉、糖、稀释剂、粒化剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂等。对于鼻喷雾剂/吸入剂混合物,该水性溶液/悬浮液可以包括作为适合的运载体和添加剂的水、乙二醇、油、软化剂、稳定剂、润湿剂、防腐剂、芳香剂、调味剂等。

[0092] 本发明的组合物可以配制成适合于给予受试者以便于给予并改善功效的任何物质,包括但不限于口服(肠内)给予和肠胃外注射。肠胃外注射包括静脉内注射或输注、动脉内注射、皮下注射、肌内注射以及关节内注射。还可以配制本发明的组合物用于其它给药途径,包括经粘膜、眼、直肠、长效植入、舌下给药、舌下、从口腔粘膜绕过门脉循环、吸入或鼻内。

[0093] 根据本发明的某些实施例中,组合物包含免疫原性有效量的纯化的或部分纯化的腺病毒载体(如腺病毒26载体),该腺病毒载体包含编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的核酸。所述组合物可以根据本领域熟知的方法被配制成疫苗(也称为“免疫原性组合物”)。

[0094] 本发明的组合物可以进一步任选地包括佐剂以增强免疫应答。术语“佐剂”和“免疫刺激剂”在此可互换地使用,并且被定义为引起免疫系统刺激的一种或多种物质。在本文中,佐剂用于增强对这些载体的免疫应答,这些载体编码本发明的合成的HIV包膜蛋白和/或与编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的载体组合使用的HIV抗原多肽。

[0095] 适合用于本发明的佐剂应当是在人中潜在安全的、耐受性良好的并且有效的佐剂,如例如QS-21、Detox-PC、MPL-SE、MoGM-CSF、TiterMax-G、CRL-1005、GERBU、TER酰胺、PSC97B、Adjumer、PG-026、GSK-I、GcMAF、B-a-lethine、MPC-026、Adjuvax、CpG ODN、Betafectin、铝盐(例如AdjuPhos)、Adjuplex、以及MF59。鉴于本披露,可以通过本领域技术人员熟知的技术确定制剂中每种组分的最佳比例。

[0096] 在一个优选实施例中,该佐剂是铝盐,如AdjuPhos。

[0097] 免疫原性组合物的制备和使用是本领域技术人员所熟知的。液体药物组合物一般包括液体载体例如水、石油、动物或植物油、矿物油或合成油。还可以包括生理盐水溶液、右旋糖或其他糖溶液或二醇,例如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇。

[0098] 例如,重组腺病毒载体可以储存于缓冲液中,该缓冲液还可以用于腺病毒世界标准(Adenovirus World Standard)(霍根森(Hoganson)等人,2002,生物工艺杂志

(Bioprocessing J)1:43-8):20mM Tris pH 8,25mM NaCl,2.5%甘油。适用于向人类给予的另一种有用的腺病毒配制品缓冲液是20mM Tris、2mM MgCl₂、25mM NaCl、蔗糖10%w/v、聚山梨酯-80 0.02%w/v。适用于重组腺病毒的另一种配制品缓冲液包括10-25mM柠檬酸盐缓冲剂pH 5.9-6.2,4-6% (w/w) 羟丙基-β-环糊精(HBCD)、70-100mM NaCl、0.018-0.035% (w/w) 聚山梨酯-80、以及任选地包括0.3-0.45% (w/w) 乙醇。显而易见地,可以使用许多其他缓冲液,并且已知针对存储和针对纯化载体的药用给药的适合的配制品的若干实例。

[0099] 根据本发明的实施例,本发明的组合物可以与一种或多种编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽的另外的载体,和/或一种或多种分离的HIV抗原性多肽一起使用。这些另外的载体和/或HIV抗原性多肽可以存在于包含本发明的合成的HIV Env蛋白的同一组合物中。它们还可以存在于一种或多种不同的组合物中,所述不同的组合物可以与包含本发明的合成的HIV包膜蛋白的组合物在疫苗组合中一起使用。优选地,该一种或多种另外的载体是病毒载体,如腺病毒载体,并且最优选地是腺病毒26载体。鉴于本披露,该一种或多种另外的载体可以编码任何本领域技术人员已知的HIV抗原性多肽。

[0100] 在一个实施例中,组合物或疫苗组合进一步包含第二腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,所述载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽。此类实施例的优点是增加免疫应答的宽度(覆盖来自分枝B和C的菌株)。

[0101] 在另一个实施例中,本发明的组合物或疫苗组合进一步包含编码HIV抗原性多肽的腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:28 (mos1 GagPol)的氨基酸序列。

[0102] 在另一个实施例中,本发明的组合物或疫苗组合进一步包含编码HIV抗原性多肽的腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:29 (mos2 GagPol)的氨基酸序列。

[0103] 在一个具体实施例中,本发明的组合物或疫苗组合进一步包含第二腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该第二腺病毒载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽;以及一种或多种另外的腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该一种或多种另外的载体编码一种或多种包含选自SEQ ID NO:28或SEQ ID NO:29组成的组的氨基酸序列的HIV抗原性多肽。例如,根据本发明的实施例的组合物或疫苗组合可以包含四种腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,其中第一载体编码包含SEQ ID NO:8 (例如SEQ ID NO:18)的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白;第二载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽;第三载体编码包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白;并且第四载体编码包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白。

[0104] 在一些实施例中,该组合物或疫苗组合进一步包含一种或多种分离的HIV抗原性多肽。鉴于本披露,本领域技术人员已知的任何HIV抗原性多肽可以被进一步包括在本发明的组合物或疫苗组合中,包括但不限于HIV包膜蛋白(例如,gp160、gp140、gp120、或gp41),优选地是稳定化的三聚gp140蛋白,如稳定化的分枝C或分枝A gp140蛋白。在一个优选实施例中,该分离的HIV抗原性多肽是一种稳定化的HIV分枝C三聚gp140蛋白,如包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708的蛋白(SEQ ID NO:7的残基1-29在该信号序列中)。可以使用的替代的或另外的HIV Env多肽(除了分枝C gp140蛋白或单独的)是花叶Env三聚体蛋白,该叶Env三聚体蛋白例如具有如SEQ ID NO:36的氨基酸30-724中所披露的氨基酸序列

(对应于WO 2014/107744的SEQ ID NO:2,SEQ ID NO:36的残基1-29在该信号序列中)。

[0105] 根据本发明的一个具体实施例,HIV抗原性蛋白质可以是本发明的合成的HIV包膜蛋白。因此,本发明的合成的包膜蛋白可以以分离的和/或纯化的形式在对其有需要的受试者中使用从而例如针对HIV诱导免疫应答或提供保护性免疫。任何本文所述的包含SEQ ID N:8的氨基酸序列的合成的包膜蛋白可以用作处于分离和/或纯化形式的HIV抗原性蛋白。在一个优选实施例中,当以分离的形式作为HIV抗原性蛋白使用时,该合成的包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的残基30-711或SEQ ID NO:19的氨基酸序列的残基30-686,并且更优选地包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的残基30-704。该分离的HIV抗原性多肽还可以包含具有以下突变:EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的SEQ ID NO:8。

[0106] 本发明的实施例还涉及组合物或疫苗组合,这些组合物或疫苗组合包含分离的合成的HIV包膜蛋白,该分离的合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。可以使用任何本文所述的合成的HIV包膜蛋白。在本发明的具体实施例中,该分离的合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的残基30-704或30-711,SEQ ID NO:19的氨基酸序列的残基30-686,或具有以下突变:EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的SEQ ID NO:8的氨基酸序列。此类组合物或疫苗组合可以进一步包含一种或多种表达载体,例如,腺病毒载体,如腺病毒26载体,这些载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,如本发明的合成的HIV包膜蛋白,或其他HIV抗原性蛋白如列于SEQ ID NO:4、5、7、28或29中的那些或其片段。

[0107] 本发明还涉及生产本发明的组合物或疫苗组合的方法。根据本发明的实施例,生产组合物或组合的方法包括将包含编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的核酸的载体与运载体、以及任选的编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽的一种或多种另外的载体和/或一种或多种分离的HIV抗原性多肽进行组合。本领域的普通技术人员将熟悉用于制备这样的组合物的常规技术。

[0108] 疫苗和疫苗组合

[0109] 根据本发明的实施例,组合物可以是疫苗。如在此所使用的,术语“疫苗”是指组合物,该组合物包含编码本发明的能够对受试者或接种疫苗的受试者提供保护性免疫或保护性免疫应答的合成的HIV包膜蛋白的表达载体,优选地是病毒载体。根据本发明的实施例,当向受试者给予该组合物时,该表达载体表达该编码的合成的HIV包膜蛋白,并且将该表达的合成的HIV包膜蛋白提供给受试者的免疫系统,从而诱导所需的应答以产生免疫,或诱导免疫应答。

[0110] 因此,在另一概述方面中,本发明提供了用于在受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的疫苗。根据本发明的实施例,该疫苗包含组合物,该组合物包含免疫原性有效量的表达载体,该表达载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,并且优选地是SEQ ID NO:18的氨基酸序列。优选地,该表达载体是病毒载体,更优选地是腺病毒载体,并且最优选地是腺病毒26载体。

[0111] 根据本发明的实施例,当参考本文所述的这些方法和组合物使用时,“诱导免疫应答”涵盖用于预防目的针对感染(如HIV感染)提供保护性免疫和/或接种受试者,以及用于治疗目的在对其有需要的受试者中引起针对感染(如HIV感染)的所希望的免疫应答或效应。优选地,本发明的这些方法是用于预防目的,如用于提供保护性免疫。该免疫应答可以是细胞免疫应答和/或体液免疫应答。

[0112] 如在此所使用的,术语“保护性免疫”或“保护性免疫应答”是指该接种的受试者能够控制对其进行疫苗接种的致病因子的感染。通常,已经发展了“保护性免疫应答”的受试者仅发展轻度至中度的临床症状或根本没有症状。通常,对某种试剂具有“保护性免疫应答”或“保护性免疫”的受试者不会由于所述试剂的感染而死亡。

[0113] 根据本发明的实施例,疫苗组合物可以进一步包含编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽的一种或多种另外的载体,例如病毒载体,如腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,和/或一种或多种分离的HIV抗原性多肽。该合成的HIV包膜蛋白、另外的载体和/或一种或多种分离的HIV抗原性多肽可以被配制在该疫苗中的同一组合物或一种或多种不同组合物中。

[0114] 本发明还涉及用于在对其有需要的受试者中使用一种或多种载体与分离的抗原性多肽组合来引发和加强对一种或多种HIV分枝的免疫应答的疫苗组合。因此,在另一概述方面中,本发明提供了用于在受试者中诱导针对HIV的免疫应答的疫苗组合。根据本发明的实施例,该疫苗组合包含:

[0115] (i) 第一组合物,该第一组合物包含免疫原性有效量的表达载体、和运载体,该表达载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(a) I529P, (b) K480E,以及 (c) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合;和

[0116] (ii) 第二组合物,该第二组合物包含免疫原性有效量的分离的HIV抗原性多肽和运载体,

[0117] 其中该第一和第二组合物之一用于引发免疫并且另一种组合物用于加强免疫。

[0118] 根据本发明的实施例,该疫苗组合任选地进一步包含免疫原性有效量的一种或多种另外的表达载体,所述表达载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽。该一种或多种另外的表达载体可以包括在该第一组合物或该第二组合物中,或该一种或多种另外的表达载体可以包括在有待与该第一和/或第二组合物一起给予的一种或多种另外的组合物中。

[0119] 如在此所使用的,术语“共递送”、“共给予”或“与……一起给予”是指同时给予两种或更多种组分,如病毒表达载体和分离的抗原性多肽,或多种病毒表达载体。“同时给予”可以是至少在同一天给予两种或更多种组分。当两种组分“一起给予”时,它们可以在短时间段内(例如24、20、16、12、8或4小时,或1小时或更短时间内)顺序地在分开的组合物中给予,或者它们可以同时单一组合物中给予。

[0120] 在本发明的疫苗组合的具体实施例中,该第一组合物包含腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,所述载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;并且该分离的HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708或SEQ ID NO:36的残基30-724。在一个具体实施例中,该第一组合物进一步包含腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,所述载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽。在另一个具体实施例中,该第一组合物进一步包含一种或多种另外的腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,所述载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,该HIV抗原性多肽包含选自下组的氨基酸序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:28和29。

[0121] 本发明的另一个概述方面涉及试剂盒,该试剂盒包含根据本发明的实施例的疫苗组合。

[0122] 在上文和下面的说明性实施例中详细讨论了可以在本发明的疫苗组合中使用的合成的HIV包膜蛋白、表达载体、另外的表达载体、由表达载体编码的HIV抗原性多肽、以及分离的HIV抗原性多肽等的其它实施例。

[0123] 用于诱导针对HIV感染的保护性免疫的方法

[0124] 本发明还涉及在对其有需要的受试者中诱导针对一种或多种HIV分枝的免疫应答的方法。本文所述的方法包括将一种或多种表达载体与一种或多种分离的抗原性多肽组合使用来引发和加强免疫应答的方法。

[0125] 在一个概述方面中,在受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法包括向受试者给予包含免疫有效量的表达载体的组合物,该表达载体包含编码合成的HIV包膜蛋白的核酸,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。本文所述的任何组合物可以用于在受试者中诱导针对HIV的免疫应答的方法。优选地,该组合物包括腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,所述载体包含编码合成的HIV包膜蛋白的核酸,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。该组合物可以进一步包含编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽的一种或多种另外的载体和/或一种或多种另外的分离的HIV抗原性多肽。

[0126] 在另一概述方面中,在受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法包括:

[0127] (i) 向该受试者给予第一组合物,该第一组合物包含免疫原性有效量的表达载体、和运载体,该表达载体编码花叶HIV包膜蛋白,该花叶HIV包膜蛋白具有SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(a) I529P, (b) K480E,以及(c) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合;

[0128] (ii) 向该受试者给予第二组合物,该第二组合物包含免疫原性有效量的分离的HIV抗原性多肽、和运载体;并且

[0129] (iii) 任选地,向该受试者给予免疫原性有效量的一种或多种另外的表达载体,该一种或多种另外的表达载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,

[0130] 其中步骤(i)和(ii)以任一顺序进行,其中步骤之一用于引发免疫并且另一步骤用于加强免疫。根据本发明的实施例,该任选的、有效量的一种或多种另外的表达载体与该第一组合物或该第二组合物一起给予。在一个优选实施例中,该任选的有效量的一种或多种另外的表达载体与该第一组合物一起给予。

[0131] 在诱导免疫应答的方法的一个具体实施例中,该第一组合物包含一种腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该腺病毒载体编码包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白;和第二腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该第二腺病毒载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽;该第二组合物包含分离的HIV抗原性多肽,该分离的HIV抗原性多肽具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708或SEQ ID NO:36的残基30-724;并且该一种或多种另外的表达载体是腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该腺病毒载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,该HIV抗原性多肽包含选自下组的氨基酸序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:28和29;其中向该受试者一起给予该第一组合物与该一种或多种另外的表达载体一次或多次以用于引发免疫,并且向该受试者给予该第二组合物一次或多次以用于加强免疫。

[0132] 通常肌内、皮内或皮下给予包含这些表达载体和/或抗原性多肽的免疫原性组合物。然而,也可以设想其它给药模式,如静脉内、直肠、皮肤、口服、鼻内等。免疫原性组合物的肌内给予可以通过使用针头注射这些表达载体(例如,腺病毒载体)和/或抗原性多肽的悬浮液来实现。一种替代方案是使用无针注射装置来给予该组合物(使用例如Biojector™)或含有该疫苗的冷冻干燥粉末。

[0133] 对于肌内、静脉内、皮肤或皮下注射,或病痛部位的注射,该载体将处于肠胃外可接受的水性溶液形式,该水性溶液为无热原的并且具有适当的pH、等渗性以及稳定性。同样地,该分离的抗原性多肽将处于肠胃外可接受的溶液形式,该溶液具有适当的pH、等渗性以及稳定性。本领域普通技术人员完全能够使用例如等渗媒介物,如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸盐林格氏注射液来制备适合的溶液。根据需要,可以包括防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其他添加剂。还可以使用缓释配制品。

[0134] 通常,根据本发明的实施例的疫苗组合物的给予将具有预防目的,以在感染或症状发展之前产生针对HIV抗原的免疫应答。在其他实施例中,这些表达载体(例如,腺病毒载体)、和/或HIV抗原性多肽可以被给予用于暴露后的预防用品。

[0135] 向受试者给予包含这些表达载体(例如,腺病毒载体)和/或抗原性多肽的这些免疫原性组合物,在受试者中产生抗HIV免疫应答。足以诱导可检测的免疫应答的组合物的量被定义为“免疫原性有效剂量”或“免疫原性有效量。”在本发明的一个典型实施例中,该免疫应答是保护性免疫应答。

[0136] 给予的实际量以及给予的速率和时程将取决于正治疗的疾病的性质和严重程度。治疗处方(例如剂量等的决定)是在全科医生和其他医师、或在兽医环境中是兽医的职责范围内的,并且典型地考虑了有待治疗的失调、个体患者的状况、递送部位、给药方法以及医师已知的其他因素。以上提及的这些技术和方案的实例可以在雷明顿药学大全(Remington's Pharmaceutical Sciences),第16版,Osol, A. 编著,1980中找到。

[0137] 在产生腺病毒载体和任选将这种颗粒配制成组合物后,可以将这些载体给予个体,特别是人或其它灵长类动物。对非人哺乳动物的递送不需要用于治疗目的,而是可以用于在实验背景中使用,例如在对由本发明的这些腺病毒载体表达的合成的HIV包膜蛋白的免疫应答的机制的研究中使用。

[0138] 在披露的方法的一个实施例中,使用编码一种或多种HIV抗原性多肽的一种或多种腺病毒载体来引发免疫应答。一种或多种分离的HIV抗原性多肽可以与一种或多种腺病毒载体一起用于引发免疫。引发免疫可以仅施用一次,但也可以任选地施用多次,例如,在时间0初次引发施用,随后是在约第4-14周,例如,第4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14周,或在初始引发施用之间、之后的任何时间另一次引发施用。可以将一种或多种分离的HIV抗原性多肽任选地与一种或多种另外的腺病毒或编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽的其它载体一起使用以增强免疫应答。加强免疫也可以施用一次或多次,例如,首先在约第18-36周,例如,第18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、或36周,或在初始引发施用之间、之后的任何时间,随后在约第36-52周,例如,第36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60周,或在初始引发施用之间、之后的任何时间另一次加强施用。监测由免疫诱导的免疫应答。

[0139] 这些披露的方法的实施例还考虑更短的初免-加强方案,意味着在初始引发施用

之后的约22-26周施用该最终加强免疫。可以在第0周给予该引发免疫。该加强免疫可以施用多次,例如,首先在约第7-9周或第11-13周,或在约第4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、或14周,或在初始引发施用之间、之后的任何时间,随后在约第22-26周、或在约第16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、或28周,或在初始引发施用之间、之后的任何时间另一次加强施用。在某些实施例中,将一种或多种分离的HIV抗原性多肽与一种或多种腺病毒载体一起给予用于引发和/或加强免疫。

[0140] 本领域技术人员容易理解,可以基于施用后测量的免疫应答来调整用于引发和加强施用的方案。例如,通常在给予引发组合物后数周或数月,例如,约2-3周或4周、或8周、或16周、或20周、或24周、或28周、或30周、或32周,或给予引发组合物后一至两年给予这些加强组合物。

[0141] 根据本发明的实施例,佐剂可以与该分离的HIV抗原性多肽一起作为引发和/或加强免疫的一部分来给予。鉴于本披露,可以使用任何佐剂,并且在某些实施例中,该佐剂是铝盐,如AdjuPhos。

[0142] 在本发明的一个优选实施例中,在本文披露的这些方法中使用的这些腺病毒载体包括rAd26载体。优选地,编码合成的HIV包膜蛋白(包含SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19的,最优选地是SEQ ID NO:18的氨基酸序列)的rAd26载体,单独地或与一种或多种另外的rAd26载体(编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,如具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的mos1Env)组合用于引发免疫应答,并且分离的HIV抗原性多肽(如包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708或SEQ ID NO:36的残基30-724的那些)被用于加强免疫应答,或者反之亦然。

[0143] 在一个示例性实施例中,编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白的rAd26载体与编码具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽的rAd26载体组合用于引发免疫应答。一种或多种另外的rAd26载体还可以与其他rAd26载体一起给予以引发免疫应答,该一种或多种另外的rAd26载体编码一种或多种另外的具有选自SEQ ID NOs:1-4、28和29组成的组的氨基酸序列的HIV抗原性多肽。在某些实施例中,在给予任何加强免疫之前给予该引发施用两次。然后给予分离的HIV抗原性多肽,如包含SEQ ID NO:7(优选地)的氨基酸序列的残基30-708的那些,或包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的残基30-724的那些,或这样的分离的HIV抗原性多肽的至少两种的组合,以加强免疫应答,并且优选地给予超过一次。优选地,在加强免疫中,进一步给予佐剂与该分离的HIV抗原性多肽。

[0144] 在一个具体实施例中,通过给予在腺病毒载体(优选地是rAd26载体)上编码的四种HIV抗原来引发免疫应答,编码的这四种抗原为:(i)包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白,(ii)具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的多肽,(iii)具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的多肽,以及(iv)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的多肽。这四种抗原各自可以在单独的腺病毒载体(优选地是rAd26载体)上编码,以约1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10×10^{10} 个病毒颗粒(vp),例如约 5×10^{10} vp(对于所有载体一起)的总剂量给予。这些载体可以例如以1:1:1:1比率预先混合,。可以在初始引发施用后,例如,在初始引发施用后第8、9、10、11、12、13、14、15或16周时重复该引发施用。在此实施例中,通过将用于该引发施用的同一腺病毒载体疫苗与分离的HIV Env gp140蛋白(例如分枝C gp140蛋白(包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708)或花叶gp140蛋白(包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的残基

30-724),或者分枝C gp140蛋白和花叶gp140蛋白)一起,以约50-300 μ g蛋白的总剂量,例如分枝C gp140蛋白的50、100、150、200、250、或300微克或之间的任何量,或例如花叶gp140蛋白的50、100、150、200、250、或300微克或之间的任何量,或例如分枝C gp140蛋白和花叶gp140蛋白的组合(例如以1:1比率,混合在一起活单独地给予)的50、100、150、200、250、或300微克或之间的任何量给予来加强免疫应答。优选地,该gp140蛋白与佐剂,例如磷酸铝一起给予。可以在约第18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30周,或在该初始引发施用之间、之后的任何时间进行该腺病毒加上gp140蛋白给予以加强免疫应答。可以例如在约第42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53或54周,或在该初始引发施用之间、之后的任何时间重复该加强施用。通过肌内途径优选地进行根据这个实施例的所有给予。

[0145] 实施例

[0146] 实施例1是编码合成的HIV包膜蛋白的核酸,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E,以及 (iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合。

[0147] 实施例2是根据实施例1所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包含信号序列,例如包含选自下组的氨基酸序列的信号序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:9至12,优选地是SEQ ID NO:9。

[0148] 实施例3是根据实施例1或2所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包含跨膜结构域,例如具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的跨膜结构域,优选地该合成的HIV包膜蛋白进一步包含融合到SEQ ID NO:8的C-末端和该跨膜结构域的N-末端的SEQ ID NO:37。

[0149] 实施例4是根据实施例3所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白进一步包含一个细胞质结构域的片段,优选地是包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列或其氨基酸残基1-4(即, NRVR)的细胞质结构域的片段。

[0150] 实施例5是如以上实施例1-4中任一项所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0151] 实施例6是根据实施例1或2所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白(a)进一步包含选自下组的三聚结构域,该组由以下各项组成:GCN4、fibritin(foldon结构域),例如具有SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:16的,优选地是SEQ ID NO:15的氨基酸序列的三聚结构域,或(b)包含具有以下突变:EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组别的SEQ ID NO:8。

[0152] 实施例7是根据实施例6所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列。

[0153] 实施例8是根据实施例5所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成。

[0154] 实施例9是根据实施例7所述的核酸,其中该合成的HIV包膜蛋白由SEQ ID NO:19的氨基酸序列组成。

[0155] 实施例10是一种载体,该载体包含实施例1-9中任一项所述的核酸,其中所述核酸可操作地连接至启动子序列。

[0156] 实施例11是根据实施例10所述的载体,是病毒载体,优选地是腺病毒载体,并且更优选地是腺病毒26载体。

[0157] 实施例12是分离的细胞,该分离的细胞包含实施例10或实施例11所述的载体。

[0158] 实施例13是一种组合物,该组合物包含免疫原性有效量的实施例10或权利要求11所述的载体、和运载体。

[0159] 实施例14是一种疫苗组合,该疫苗组合包括第一组合物,该第一组合物包括免疫原性有效量的腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该载体编码具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白;第二组合物,该第二组合物包括免疫原性有效量的第二腺病毒载体,优选地是第二腺病毒26载体,该第二腺病毒载体编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HIV抗原性多肽;以及任选地至少一种另外的组合物,该另外的组合物包括免疫有效量的选自以下各项组成的组的至少一种:一种载体,该载体编码具有选自SEQ ID NO:1-4、28和29组成的组的氨基酸序列的抗原性多肽,和一种分离的HIV抗原性多肽,该分离的HIV抗原性多肽具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708或具有SEQ ID NO:36的残基30-724,其中该第一组合物、第二组合物和另外的组合物是存在于同一组合物或一种或多种不同组合物中。

[0160] 实施例15是一种在对其有需要的受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法,该方法包括向该受试者给予实施例13所述的组合物或实施例14所述的疫苗组合。

[0161] 实施例16是实施例13所述的组合物或实施例14所述的疫苗组合,该组合物或疫苗组合包含一种腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该腺病毒载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;第二腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该第二腺病毒载体编码HIV抗原性多肽,该HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;一种或多种另外的腺病毒载体,该一种或多种另外的腺病毒载体编码一种或多种另外的抗原性多肽,该抗原性多肽包含选自下组的氨基酸序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:1-4、28和29;以及分离的HIV抗原性多肽,该分离的HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708或SEQ ID NO:36的残基30-724,用于诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答。

[0162] 实施例17是合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E,以及 (iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合。

[0163] 实施例18是实施例17所述的合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含具有突变EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,或SEQ ID NO:18的氨基酸序列的残基30-704或SEQ ID NO:19的残基30-686。

[0164] 实施例19是实施例13所述的组合物,该组合物进一步包含编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽的一种或多种另外的表达载体(该表达载体)和/或一种或多种分离的HIV抗原性多肽。

[0165] 实施例20是实施例13所述的组合物,该组合物包含腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该载体编码由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成的合成的HIV包膜蛋白。

[0166] 实施例21是根据实施例20所述的组合物,该组合物进一步包含第二腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该第二腺病毒载体编码HIV抗原性多肽,该HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;以及任选地一种或多种另外的腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该一种或多种另外的腺病毒载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,该HIV抗原性

多肽包含SEQ ID NO:1-4、28和29的氨基酸序列。

[0167] 实施例22是在对其有需要的受试者中产生针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法,该方法包括向该受试者给予根据实施例19、20、或21中任一项所述的组合物。

[0168] 实施例23是生产组合物或疫苗组合的方法,该方法包括将实施例10或实施例11所述的载体与运载体、以及任选地编码一个或多个另外的HIV抗原性多肽的一种或多种另外的载体和/或一种或多种分离的HIV抗原性多肽连同运载体一起进行组合。

[0169] 实施例24是用于在受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的疫苗组合,该疫苗组合包含:

[0170] (i) 第一组合物,该第一组合物包含免疫原性有效量的表达载体、和运载体,该表达载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E,以及 (iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合;和

[0171] (ii) 第二组合物,该第二组合物包含免疫原性有效量的分离的HIV抗原性多肽和运载体,

[0172] 其中该第一和第二组合物之一用于引发免疫并且另一种组合物用于加强免疫,并且

[0173] 其中该疫苗组合任选地进一步包含免疫原性有效量的一种或多种另外的表达载体,该一种或多种另外的表达载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,并且该一种或多种另外的表达载体包括在该第一或该第二组合物中,或一种或多种要与该第一或该第二组合物一起使用的另外的组合物中。

[0174] 实施例25是根据实施例24所述的疫苗组合,其中该第一组合物包含腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该腺病毒载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;该分离的HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708,或SEQ ID NO:36的残基30-724;并且该一种或多种另外的表达载体是腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该一种或多种另外的载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,该另外的HIV抗原性多肽包含选自下组的氨基酸序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:1-5、28和29。

[0175] 实施例26是用于在对其有需要的受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法,该方法包括:

[0176] (i) 向该受试者给予第一组合物,该第一组合物包含免疫原性有效量的表达载体、和运载体,该表达载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:8的、或具有一种或多种选自下组的突变的SEQ ID NO:8的氨基酸序列,该组由以下各项组成:(i) I529P, (ii) K480E,以及 (iii) EK479-480RRRR、I529P、A471C和T575C的组合;

[0177] (ii) 向该受试者给予第二组合物,该第二组合物包含免疫原性有效量的分离的HIV抗原性多肽、和运载体;并且

[0178] (iii) 任选地,向该受试者给予免疫原性有效量的一种或多种另外的表达载体,该一种或多种另外的表达载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,

[0179] 其中步骤(i)和(ii)是以任一顺序进行,这些步骤之一用于引发免疫并且另一步骤用于加强免疫,并且优选地,该任选的、有效量的一种或多种另外的表达载体与该第一组

合物一起给予。

[0180] 实施例27是根据实施例26所述的方法,其中该第一组合物包含一种腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该腺病毒载体编码合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列;和第二腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,该第二腺病毒载体编码HIV抗原性多肽,该HIV抗原性多肽包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;该第二组合物包含分离的HIV抗原性多肽,该分离的HIV抗原性多肽具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708、或SEQ ID NO:36的残基30-724;并且该任选的一种或多种另外的表达载体是腺病毒载体,优选地是腺病毒26载体,所述载体编码一种或多种另外的HIV抗原性多肽,该另外的HIV抗原性多肽包含选自下组的氨基酸序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:28和29;其中向该受试者给予该第一组合物,任选地连同该一种或多种另外的表达载体一次或多次以用于引发免疫,并且向该受试者给予该第二组合物一次或多次以用于加强免疫。

[0181] 实施例28是合成的HIV包膜蛋白,该合成的HIV包膜蛋白由SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19的氨基酸序列(具有或没有该信号序列)组成。

[0182] 实施例29是一种疫苗组合,该疫苗组合包含一种或多种载体,这些载体一起包含编码以下各项的核酸序列:(i)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的第一合成的HIV包膜蛋白和(ii)包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的第二HIV包膜蛋白。

[0183] 实施例30是根据实施例29所述的疫苗组合,其中该第一合成的HIV包膜蛋白包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0184] 实施例31是一种疫苗组合,该疫苗组合包含以下组分:

[0185] (i)编码由SEQ ID NO:18的氨基酸序列组成的合成的HIV包膜蛋白的Ad26载体;和

[0186] (ii)编码由SEQ ID NO:5的氨基酸序列组成的HIV包膜蛋白的Ad26载体。

[0187] 实施例32是根据实施例31所述的疫苗组合,该疫苗组合进一步包含以下组分:(iii)编码由SEQ ID NO:28的氨基酸序列组成的HIV抗原的Ad26载体。

[0188] 实施例33是根据实施例31或32所述的疫苗组合,该疫苗组合进一步包含以下组分:(iv)编码由SEQ ID NO:29的氨基酸序列组成的HIV抗原的Ad26载体。

[0189] 实施例34是根据实施例31-33中任一项所述的疫苗组合,该疫苗组合进一步包含以下组分:(v)分离的HIV抗原性多肽,该分离的HIV抗原性多肽具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的残基30-708、或SEQ ID NO:36的氨基酸序列的残基30-724,任选地进一步包含佐剂。

[0190] 实施例35是一种在对其有需要的受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法,该方法包括:

[0191] (a)向该受试者给予:(i)编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白的rAd26载体;(ii)编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的抗原的rAd26载体;(iii)编码包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的抗原的rAd26载体;以及(iv)编码包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的抗原的rAd26载体;优选地,其中以约1:1:1:1的比率,以约 $1-10 \times 10^{10}$ 病毒颗粒(vp)(例如 5×10^{10} vp)的总剂量给予这些rAd26载体;

[0192] (b)在步骤(a)之后的约第10-14周,例如在第12周重复步骤(a);

[0193] (c)向该受试者给予:(i)编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白的rAd26载体;(ii)编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的抗原的rAd26载体;(iii)编码包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的抗原的rAd26载体;(iv)编码包含SEQ ID NO:29的氨

氨基酸序列的抗原的rAd26载体；(v) 具有SEQ ID NO:7的氨基酸30-708的序列的分离的HIV gp140蛋白；以及(vi) 磷酸铝佐剂；优选地，其中以约1:1:1:1的比率、以约 $1-10 \times 10^{10}$ 病毒颗粒(vp) (例如 5×10^{10} vp) 的总剂量给予这些rAd26载体，并且其中以约50-300微克(例如250微克)的剂量给予该分离的HIV gp140蛋白；在步骤(a)之后的约第20-28周，例如在第24周；以及(d) 在步骤(a)之后的约第42-54周，例如在第48周重复步骤(c)。

[0194] 实施例36是一种在对其有需要的受试者中诱导针对人类免疫缺陷病毒(HIV)的免疫应答的方法，该方法包括：

[0195] (a) 向该受试者给予：(i) 编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白的rAd26载体；(ii) 编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的抗原的rAd26载体；(iii) 编码包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的抗原的rAd26载体；以及(iv) 编码包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的抗原的rAd26载体；优选地，其中以约1:1:1:1的比率，以约 $1-10 \times 10^{10}$ 病毒颗粒(vp) (例如 5×10^{10} vp) 的总剂量给予这些rAd26载体；

[0196] (b) 在步骤(a)之后的约第10-14周，例如在第12周重复步骤(a)；

[0197] (c) 向该受试者给予：(i) 编码包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的合成的HIV包膜蛋白的rAd26载体；(ii) 编码包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的抗原的rAd26载体；(iii) 编码包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的抗原的rAd26载体；(iv) 编码包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的抗原的rAd26载体；(v) 具有SEQ ID NO:7的氨基酸30-708的序列的分离的HIV gp140蛋白；(vi) 具有SEQ ID NO:36的氨基酸30-724的序列的分离的HIV gp140蛋白；以及(vii) 磷酸铝佐剂；优选地，其中以约1:1:1:1的比率、以约 $1-10 \times 10^{10}$ 病毒颗粒(vp) (例如 5×10^{10} vp) 的总剂量给予这些rAd26载体，并且其中以约1:1的比率、以约50-300微克(例如250微克)的总剂量给予这些分离的HIV gp140蛋白；在步骤(a)之后的约第20-28周，例如在第24周；以及(d) 在步骤(a)之后的约第42-54周，例如在第48周重复步骤(c)。

[0198] 实例

[0199] 实例1:HIV包膜抗原序列的设计

[0200] 设计了几个HIV包膜抗原序列，其与花叶HIV抗原mos2Env (SEQ ID NO:6; 先前也描述于WO 2010/059732中) 具有序列相似性。这些新设计的膜结合的序列基于来自HIV包膜蛋白的完全天然野生型序列、或mos2Env序列和野生型HIV包膜蛋白序列的嵌合体(的组合)。除了全长包膜蛋白序列(参见图1A)，还设计了具有细胞质结构域的C-末端截短的序列(参见例如，图1C)。还参见例如，Schiernle等人，美国科学院院刊(PNAS) 1997；亚伯拉罕(Abrahamyan)等人，病毒学杂志(J Virol) 2005；爱德华兹(Edwards)等人，病毒学杂志(J.Virology)，2002，76:2683-2691。在跨膜(TM)区域之前，还通过C-末端截短来制备可溶性变体，该跨膜区域被三聚结构域(如GCN4三聚结构域)替换(参见例如，图1B)。这些可溶性变体通过弗林蛋白酶切割位点的突变进一步转化为单链变体，从而抑制该包膜蛋白的细胞外结构域加工成gp120和gp41亚基。

[0201] 在产生的和测试的所有构建体中，基于C4的构建体具有最佳性质，例如良好的可制造性、折叠、免疫原性等，并且选择这些基于C4的构建体用于进一步研究。在进一步研究中还产生并测试了具有代替跨膜结构域的GCN4三聚结构域的C4构建体的可溶性变体(sC4，图1B)和包含细胞质结构域的7个氨基酸片段的变体(C4D7，图1C)。C4、sC4、以及C4D7的氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:17、19、和18中。编码这些的序列分别示于SEQ ID NO:25、27、和

26中。构建体C1具有基于mos2Env序列(SEQ ID NO:6)的细胞外结构域序列。还分别产生了具有代替跨膜结构域的GCN4三聚结构域的构建体C1的可溶性变体(sC1)和包含细胞质结构域的7个氨基酸片段的变体(C1D7),它们类似于如图1B和1C中示出的sC4和C4D7。出于比较目的,将构建体C1及其变体用于进一步研究中,因为它们基本上基于现有技术的mos2Env序列。C1、sC1以及C1D7的氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:31、30、和32中。编码这些的核酸序列分别示于SEQ ID NO:34、33、和35中。测试的其他构建体不如基于构建体C4的那些最优,并且没有进入进一步发展。

[0202] 实例2:合成的HIV包膜蛋白的表达和折叠

[0203] 测量合成的HIV包膜蛋白的表达水平、折叠、和细胞表面表达。

[0204] 表达水平

[0205] 用编码如实例1所述的可溶性合成的HIV包膜蛋白sC1和sC4的质粒瞬时转染HEK293F细胞。使用定量蛋白印迹法(QWB)在上清液中测量该可溶性蛋白的表达水平。结果示于图2中。sC1的低表达水平(其基本上对应于具有添加的跨膜结构域的mos2Env)与我们最近对mos2Env的见解一致。如通过这些结果所证明的,本发明的sC4变体显示比该sC1变体(对照)显著更高的表达水平。

[0206] 蛋白质折叠

[0207] 通过测量可溶性合成的HIV包膜蛋白与已知结合该HIV包膜蛋白的共受体结合位点的抗体(MAb 17b)的结合来测试蛋白质折叠,该HIV包膜蛋白仅在结合CD4后通过酶联免疫吸附测定(ELISA)而暴露。具体地,在存在预先的sC4与CD4的结合以及不存在预先的sC4与CD4的结合的情况下,测试了纯化的sC4与MAb17b的结合。使用纯化的sC1作为对照。在没有预先的CD4结合到该包膜蛋白的情况下,MAb 17b与sC4的结合是部分解折叠的或预先触发的包膜蛋白(即,在不存在CD4结合时采取“开放”构象的不稳定Env)的指示。该ELISA测定的结果示于图3A和3B中。

[0208] 如图3B中所示,在存在预先与CD4结合的情况下,sC4显示了与MAb 17b的强结合,但在不存在预先与CD4结合的情况下,sC4显示没有与MAb 17b的可检测的结合。相比之下,如在图3A中所示,在存在与不存在预先与CD4结合的情况下,sC1显示与MAb 17b的低得多的结合。结果表明,在不暴露预先与CD4结合的共受体结合位点的情况下,sC4具有正确的折叠模式。

[0209] 还通过sC1和sC4的天然聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)来分析蛋白质折叠,以评价可溶性蛋白质变体的四级结构,以及原聚体之间可能的不正确的二硫键形成。在非变性凝胶上电泳后,通过蛋白印迹分析来检测凝胶中的蛋白质。如图4中的结果所示,大部分sC4以三聚体状态存在,这是正确的四级结构。

[0210] 总之,蛋白质折叠实验的结果表明该sC4可溶性合成的HIV包膜蛋白具有希望的折叠特性(folding profile),这与现有的mos2Env抗原(由sC1表示)的折叠特性相比是被改进的。

[0211] 细胞表面表达

[0212] 还研究了HIV包膜蛋白C1(全长)、C4(全长,参见图1A)、C1D7和C4D7的膜结合变体的细胞表面表达。仅用编码eGFP的质粒(阴性对照,NC),或用编码eGFP的质粒连同编码HIV包膜蛋白变体的表达构建体瞬时转染HEK293T细胞。转染后两天,在暴露于针对gp120的多

种多克隆和单克隆抗体、以及二级抗体后,对细胞进行荧光激活细胞分选 (FACS) 分析,并且然后检查包膜蛋白细胞表面表达水平。通过使用抗gp120多克隆抗体测定总表达水平,并通过评估广泛中和性抗体PG9和PG16 (它们是四级结构依赖性的,并优先结合正确折叠的包膜三聚体) 的相对结合,来评估这些包膜变体的质量。

[0213] 细胞表面表达实验的结果示于图5中。如使用抗gp120抗体测量的截短变体C1D7和C4D7的表面表达水平分别远高于其全长对应物C1和C4的表面表达水平。这证实了来自Env的羧基-末端的144个残基的缺失增加了包膜表面表达水平。与全长C1相比,本发明的全长C4构建体还显示出提高的PG9和PG16结合,这表明该C4包膜序列在细胞表面上被适当地折叠(即,三聚体)。

[0214] 结果还表明,C1D7变体,其基本上是具有添加的跨膜结构域和细胞质结构域的7个氨基酸的Mos2Env,可以在HEK293T细胞上进行表面表达。这与当转染至A549细胞时不能在表面上以可检测的水平表达的Ad26.mos2Env中的可溶性构建体形成对比。然而,与PG9和PG16的相对结合在背景之上几乎检测不到,这表明该C1D7包膜序列折叠不良,并且可能不作为细胞表面上的完整三聚体存在。

[0215] 总的来说,与C1和C1D7相比,该C4D7包膜变体具有最佳的抗体结合特性,具有比其全长对应物C4更高的gp120表达,和大于15倍的增加的PG9和PG16结合(图5)。

[0216] 实例3:编码HIV包膜序列的载体的稳定性

[0217] 我们实验室中的先前工作(未公开)表明编码该mos2Env抗原序列的腺病毒26 (Ad26) 载体显示具有相对高的VP/IU比率(表明腺病毒产物批次的较低质量),并且此外这样的载体显示稳定性问题。因此,重要的是在腺病毒背景下测试本发明的合成的HIV包膜蛋白构建体的稳定性。

[0218] 在PER.C6细胞中产生编码如以上实例1中所述的本发明的HIV抗原序列C4、C4D7和sC4的重组Ad26 (rAd26) 载体(分别称为“rAd26.C4”、“rAd26.C4D7”、和“rAd26.sC4”)。挑选载体克隆(噬菌斑)并按比例放大以产生研究批次。将最多5个病毒克隆(噬菌斑)按比例扩大至T25形式,并以T25形式连续传代10代(传代1-3是转染和噬斑纯化步骤,随后以T25形式传代10次,得到总共13次传代)。通过E1转基因盒PCR分析在病毒传代数(vpn) 3、5、10和13时评估遗传稳定性,随后在vpn 13时测序。结果示于图6中。

[0219] 编码全长C4 (rAd26.C4) 的rAd26载体显示差的生长特征,如通过在2-3天中没有完全细胞病变效应(CPE);遗传不稳定性,如通过E1转基因盒区域的缺失所确定的;或其组合所确定的(图6)。由于差的生长特征和观察到的遗传不稳定性,不进一步追踪该编码全长C4的载体。

[0220] 相比之下,对于编码C4D7 (rAd26.C4D7) 和sC4 (rAd26.sC4) 的这些rAd26载体,所有繁殖的噬菌斑在实验过程中保持遗传稳定(图6)。因此,就腺病毒载体背景中的稳定性而言,这些新颖的sC4和C4D7构建体胜过原始mos2Env构建体。直到vpn 13的遗传稳定性试验代表了在载体的工业规模制备中使用的几个传代之外的繁殖。

[0221] 实例4:腺病毒载体中的HIV包膜序列的表达和体内抗原性

[0222] 在体内在载体转导的A549细胞(人细胞系)中单独地或与编码mos1Env (SEQ ID NO:5) 的重组Ad26载体(下文称为“rAd26.mos1Env”)组合来评估rAd26.C4D7和rAd26.sC4的表达和抗原性(数据未显示)。流式细胞术分析证明所有抗原在用作为对照的这些单一包膜

抗原的 2×10^4 个病毒颗粒(vp),或用通过腺病毒转导的2种组合的Env抗原的 1×10^4 vp转导的细胞培养物中表达。所有转导物另外含有编码mos1GagPol (“rAd26.mos1GagPol”)和mos2GagPol (“rAd26.mos2GagPol”)的单剂量(1×10^4 vp)的腺病毒载体(巴鲁什等人,自然医学(Nat Med)2010,16:319-323),使得所评估的载体组合显示与用于临床前和临床用途的不同腺病毒载体相同的相对比例。优选地,将编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的这些载体与编码用于临床用途的mos1GagPol和mos2GagPol抗原的载体进行组合。

[0223] rAd26.mos1Env和rAd26.C4D7的组合产生如通过单克隆抗体结合测定的评估表位的最大覆盖。特别地,通过用Ad26.C4D7转化而贡献的PG16表位的暴露有希望用于疫苗使用,因为PG16代表识别HIV-1Env的V1/V2环区域的广泛中和性单克隆抗体(沃克(Walker)等人,科学(Science),2009)。因此,与仅由mos1Env产生的免疫应答相比,来源于C4序列的本发明的合成的HIV包膜蛋白增加了针对该HIV包膜蛋白的免疫应答的宽度。在RV144研究中,针对包膜蛋白区域的疫苗诱导的抗体应答已经显示与来自HIV-1感染的保护相关(海恩斯(Haynes)等人,新英格兰医学杂志(N Engl J Med.)2012),因此本发明的合成的HIV包膜蛋白是包括在HIV疫苗方案中的物有希望的候选。

[0224] 实例5:编码合成的HIV包膜蛋白的载体的免疫原性

[0225] 在兔中测试Ad26载体背景下的本发明的合成的HIV包膜蛋白序列,以确定这些构建体是否是rAd26.mos2Env构建体的免疫原性替代物。

[0226] 单独地,并与编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的腺病毒载体(rAd26.C4D7和rAd26.sC4;包含SEQ ID NO:8,具体地分别是SEQ ID NO:18和19)组合地测试编码mos1Env的腺病毒载体(rAd26.mos1Env;SEQ ID NO:5)的免疫原性。在所有情况下,还给予编码mos1GagPol和mos2GagPol抗原的腺病毒26载体(分别是rAd26.mos1GagPol[SEQ ID NO:28]和rAd26.mos2GagPol[SEQ ID NO:29])。更确切地说,将rAd26.mos1Env单独的免疫原性(三价疫苗:rAd26.mos1GagPol、rAd26.mos2GagPol和rAd26.mos1Env)与rAd26.mos1Env和rAd26.C4D7或rAd26.sC4之一的组合的免疫原性进行比较(四价疫苗:给予任何rAd26.mos1GagPol、rAd26.mos2GagPol、rAd26.mos1Env和rAd26.C4D7;或给予rAd26.mos1GagPol、rAd26.mos2GagPol、rAd26.mos1Env和rAd26.sC4)。该三价疫苗(缺少编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的任何载体)与该四价疫苗(包含编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的载体)的比较允许确定本发明的HIV包膜蛋白是否有助于保护的宽度。

[0227] 在疫苗方案中进行给予,其中这些Ad26载体在第0和6周作为双重引发来给予,并且分枝C gp140蛋白(三价Env gp140蛋白,其具有不带有残基1-29的信号肽序列的SEQ ID NO:7,还参见W0 2010/042942)在第12和18周作为双重加强来给予(参见例如,巴鲁什等人,2015,科学(Science)349:320-324)。表1描述了用于本研究的疫苗方案。空rAd26是指缺少编码HIV抗原蛋白的序列的任何基因的对照载体。每个组包括六只兔子。

[0228] 表1:兔中的免疫原性研究中测试的疫苗方案

[0229]

组	第一和第二免疫			第三和第四免疫			N=
	腺苷载体	剂量 (vp)	总剂量 (vp)	蛋白加强	剂量 (ug)	佐剂	
1	rAd26.Mos1Env	2.5x10 ¹⁰	5x10 ¹⁰	GP140 (分枝 C)	10	AdjuPhos 250μg	6
	rAd26.Mos1GagPol	1.25x10 ¹⁰					
	rAd26.Mos2Gagpol	1.25x10 ¹⁰					
2	rAd26.Mos1Env	1.25x10 ¹⁰	5x10 ¹⁰	GP140 (分枝 C)	10	AdjuPhos 250μg	6
	rAd26.C4D7	1.25x10 ¹⁰					
	rAd26.Mos1GagPol	1.25x10 ¹⁰					
	rAd26.Mos2Gagpol	1.25x10 ¹⁰					
3	rAd26.Mos1Env	1.25x10 ¹⁰	5x10 ¹⁰	GP140 (分枝 C)	10	AdjuPhos 250μg	6
	rAd26.sC4	1.25x10 ¹⁰					
	rAd26.Mos1GagPol	1.25x10 ¹⁰					
	rAd26.Mos2Gagpol	1.25x10 ¹⁰					
对照	空 rAd26	5x10 ¹⁰	5x10 ¹⁰	NA	0	AdjuPhos 250μg	6

[0230] 该三价Ad26疫苗(缺乏本发明的新颖Env抗原)与该四价Ad26疫苗(其包含新型sC4或C4D7Env抗原)的比较允许测试新颖抗原是否有助于保护的宽度。使用建立的基于TZM-b1细胞的中和测定[Montefiori DC.方法分子生物学(Methods Mol Biol)2009,485:395-405;Sarzotti-Kelsoe M等人,免疫方法期刊(J Immunol Methods)2014,409:131-146]来测量候选疫苗的中和活性。

[0231] 结果示于图7中,并且通过使用该三价疫苗(表1中的组1)作为对照组并与每种新颖四价疫苗(表1中的组2和组3)进行比较来统计分析这些结果。

[0232] 总的来说,在兔中进行两次同源肌内免疫后,新颖C4-衍生的(即,编码包含SEQ ID NO:8的Env蛋白,是mos2Env的替代物)腺病毒构建体是免疫原性的。

[0233] 兔免疫血清针对Tier 1B假病毒的中和能力不存在(数据未显示),这是不出乎意料的,因为已知此类病毒更难以中和。

[0234] 兔免疫血清针对分枝B Tier 1A病毒的假病毒中和能力不受添加新组分的影响(数据未显示)。这证明新抗原不会不利地干扰该疫苗中存在的现有分枝B抗原的免疫原性(尽管这些新组分针对分枝C,但是这种不期望的干扰在其被测试前不能被先验排除)。

[0235] 与三价(仅具有mos1Env)单独的免疫(组1)相比,在含有腺病毒的该四价新颖C4D7(四价,组2)中兔免疫血清针对分枝C Tier 1A病毒的假病毒中和能力显著增强(图7,B图)。此外,与三价(仅具有mos1Env)单独的免疫(组1)相比,在含有腺病毒的该四价新颖sC4(四价,组3)中兔免疫血清针对分枝C Tier 1A病毒的假病毒中和能力在第8周显著增强(图7,B图)。

[0236] 总之,Ad26中编码的C4D7和sC4构建体是免疫原性的并且其添加扩大了疫苗的结合能力和中和能力,该疫苗具有mos1Env(主要是分枝B)作为唯一的朝向分枝C菌株的Ad26编码的Env组分(图7B)。

[0237] 实例6:包括编码本发明的合成的HIV包膜蛋白的载体的疫苗方案的免疫原性

[0238] 一种另外的兔研究评估了该四价载体组合Ad26.Mos4.HIV(由四种腺病毒载体:

Ad26.Mos1GagPol[编码SEQ ID NO:28]、Ad26.Mos2GagPol[编码SEQ ID NO:29]、Ad26.Mos1Env[编码SEQ ID NO:5]和Ad26.Mos2SEnv[如以上使用的名称“C4D7”还被称为“Mos2S”；该载体以1:1:1:1混合,以 5×10^9 vp的总剂量编码根据本发明的新颖SEQ ID NO:18]组成),在第0周和第6周肌内给予该四价载体组合作为双重引发免疫,在第13周和第19周与重组的HIV-1Env蛋白加强进行组合,使用分枝C gp140[具有SEQ ID NO:7的氨基酸残基30-708的序列]、花叶gp140[具有SEQ ID NO:36的氨基酸残基30-724的序列]、或分枝C gp140和花叶gp140的组合。以10或50微克蛋白质组合免疫当天配制的250mcg磷酸铝佐剂的总剂量肌内施用这些蛋白质加强。

[0239] 结果表明,所有测试的方案在所有动物中是免疫原性的,这诱导高抗体滴度和针对Tier 1Env假型病毒的中等中和活性。如果将花叶gp140单独地或与分枝C gp140组合用作疫苗抗原,则与单独用分枝C gp140加强的参照组相比,花叶gp140特异性ELISA滴度和分枝B假病毒识别在第15周显著增加。改善的总体效应大小是中度的,并且与单独的花叶gp140相比,用二价分枝C gp140-花叶gp140组合而增强的组更大。在研究的第21周,失去这些差异,并且针对接受二价分枝C gp140-花叶gp140加强或单价分枝C gp140加强的群体而测量的免疫应答在统计学上不可区分。

[0240] 该二价蛋白质方案显示分枝C ELISA滴度和假病毒识别与分枝C gp140单独加强方案的可比较的诱导,这表明分枝B相关的免疫原花叶gp140的包含对分枝C抗原覆盖没有不利影响,同时在本研究的第15周显著增强了分枝B覆盖。

[0241] 数据证实,编码根据本发明的合成的Env抗原的Ad26.Mos2SEnv载体可成功地用于疫苗方案中。

[0242] 参考文献

[0243] 1.巴鲁什等人,自然医学(Nat Med)2010,16:319-323

[0244] 2.WO 2010/059732

[0245] 3.Schiernle等人,美国科学院院刊(PNAS)94:8640-8645,1997

[0246] 4.亚伯拉罕等人,病毒学杂志(J Virol)79:106-115,2005

[0247] 5.US20120076812

[0248] 6.巴鲁什等人,细胞(Cell)155:1-9,2013

[0249] 7.哈文格等人,2006,普通病毒学杂志(J Gen Virol)87:2135-43;

[0250] 8.WO 03/104467

[0251] 9.WO 2004/001032

[0252] 10.WO 2007/104792

[0253] 11.阿宾克等人,(2007)病毒学(Virol)81(9):4654-63

[0254] 12.美国专利号7,270,811

[0255] 13.沃格尔(Vogels)等人,(2003)病毒学杂志(J Virol)77(15):8263-71

[0256] 14.WO 00/70071

[0257] 15.WO2012/082918

[0258] 16.沃克LM、Phogat SK、陈慧(Chan-Hui)PY、瓦格纳(Wagner)D、彭(Phung)P、戈斯(Goss)JL等人,来自非洲供体的广泛并有效的中和性抗体揭示了新的HIV-1疫苗靶标(Broad and potent neutralizing antibodies from an African donor reveal a new

HIV-1 vaccine target), 科学 (Science) 2009, 326:285-289。

[0259] 17. 海恩斯BF、吉尔伯特 (Gilbert) PB、麦克拉特 (McElrath) MJ、佐拉 (Zolla) - Pazner S、Tomaras GD、阿拉姆 (Alam) SM等人, HIV-1疫苗效力试验的免疫相关分析 (Immune-correlates analysis of an HIV-1 vaccine efficacy trial), 新英格兰医学杂志 (N Engl J Med) 2012, 366:1275-1286。

[0260] 18. 巴鲁什等人, (2015) 科学 (Science) 349:320-324

[0261] 19. 蒙特菲奥里 (Montefiori) DC, 在荧光素酶报道基因测定中测量HIV中和性 (Measuring HIV neutralization in a luciferase reporter gene assay), 分子生物学方法 (Methods Mol Biol) 2009, 485:395-405。

[0262] 20. Sarzotti-凯尔索 (Kelsoe) M、贝勒 (Bailer) RT、Turk E、林 (Lin) CL、Bilska M、格林 (Greene) KM等人, 针对HIV-1的中和抗体的标准化评估的TQM-bl测定的优化和验证 (Optimization and validation of the TQM-bl assay for standardized assessments of neutralizing antibodies against HIV-1), 免疫学方法杂志 (J Immunol Methods) 2014, 409:131-146。

[0263] 21. 爱德华兹等人, 病毒学杂志 (J.Virology), 2002, 76:2683-2691。

[0001]	序列表			
[0002]	<110>	扬森疫苗与预防公司		
[0003]	<120>	人类免疫缺陷病毒抗原、载体、组合物、及其使用方法		
[0004]	<130>	0265 EP P01 PRI		
[0005]	<160>	37		
[0006]	<170>	PatentIn 3.5版本		
[0007]	<210>	1		
[0008]	<211>	500		
[0009]	<212>	PRT		
[0010]	<213>	人工序列		
[0011]	<220>			
[0012]	<223>	mos1Gag 嵌合(mosaic)抗原序列		
[0013]	<400>	1		
[0014]	Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp			
[0015]	1	5	10	15
[0016]	Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys			
[0017]	20	25	30	
[0018]	His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro			
[0019]	35	40	45	
[0020]	Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu			
[0021]	50	55	60	
[0022]	Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn			
[0023]	65	70	75	80
[0024]	Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp			
[0025]	85	90	95	
[0026]	Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys			
[0027]	100	105	110	
[0028]	Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val			
[0029]	115	120	125	
[0030]	Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His			
[0031]	130	135	140	
[0032]	Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu			
[0033]	145	150	155	160
[0034]	Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser			
[0035]	165	170	175	
[0036]	Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly			
[0037]	180	185	190	
[0038]	Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu			
[0039]	195	200	205	
[0040]	Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala			
[0041]	210	215	220	

[0042]	Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr		
[0043]	225	230	235 240
[0044]	Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile		
[0045]	245	250	255
[0046]	Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys		
[0047]	260	265	270
[0048]	Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly		
[0049]	275	280	285
[0050]	Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu		
[0051]	290	295	300
[0052]	Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr		
[0053]	305	310	315 320
[0054]	Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala		
[0055]	325	330	335
[0056]	Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly		
[0057]	340	345	350
[0058]	Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser		
[0059]	355	360	365
[0060]	Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg		
[0061]	370	375	380
[0062]	Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His		
[0063]	385	390	395 400
[0064]	Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys		
[0065]	405	410	415
[0066]	Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn		
[0067]	420	425	430
[0068]	Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Asn Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe		
[0069]	435	440	445
[0070]	Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg		
[0071]	450	455	460
[0072]	Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp		
[0073]	465	470	475 480
[0074]	Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp		
[0075]	485	490	495
[0076]	Pro Ser Ser Gln		
[0077]	500		
[0078]	<210> 2		
[0079]	<211> 491		
[0080]	<212> PRT		
[0081]	<213> 人工序列		
[0082]	<220>		
[0083]	<223> mos2Gag 嵌合抗原序列		

[0084]	<400>	2														
[0085]	Met	Gly	Ala	Arg	Ala	Ser	Ile	Leu	Arg	Gly	Gly	Lys	Leu	Asp	Lys	Trp
[0086]	1				5					10					15	
[0087]	Glu	Lys	Ile	Arg	Leu	Arg	Pro	Gly	Gly	Lys	Lys	His	Tyr	Met	Leu	Lys
[0088]				20					25					30		
[0089]	His	Leu	Val	Trp	Ala	Ser	Arg	Glu	Leu	Glu	Arg	Phe	Ala	Leu	Asn	Pro
[0090]			35					40					45			
[0091]	Gly	Leu	Leu	Glu	Thr	Ser	Glu	Gly	Cys	Lys	Gln	Ile	Ile	Lys	Gln	Leu
[0092]		50					55					60				
[0093]	Gln	Pro	Ala	Leu	Gln	Thr	Gly	Thr	Glu	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Phe	Asn
[0094]	65					70					75					80
[0095]	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Tyr	Cys	Val	His	Ala	Glu	Ile	Glu	Val	Arg	Asp
[0096]					85					90					95	
[0097]	Thr	Lys	Glu	Ala	Leu	Asp	Lys	Ile	Glu	Glu	Glu	Gln	Asn	Lys	Ser	Gln
[0098]				100					105					110		
[0099]	Gln	Lys	Thr	Gln	Gln	Ala	Lys	Glu	Ala	Asp	Gly	Lys	Val	Ser	Gln	Asn
[0100]			115					120						125		
[0101]	Tyr	Pro	Ile	Val	Gln	Asn	Leu	Gln	Gly	Gln	Met	Val	His	Gln	Pro	Ile
[0102]		130					135					140				
[0103]	Ser	Pro	Arg	Thr	Leu	Asn	Ala	Trp	Val	Lys	Val	Ile	Glu	Glu	Lys	Ala
[0104]	145					150					155					160
[0105]	Phe	Ser	Pro	Glu	Val	Ile	Pro	Met	Phe	Thr	Ala	Leu	Ser	Glu	Gly	Ala
[0106]				165						170					175	
[0107]	Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Met	Leu	Asn	Thr	Val	Gly	Gly	His	Gln
[0108]				180					185					190		
[0109]	Ala	Ala	Met	Gln	Met	Leu	Lys	Asp	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu	Ala	Ala	Glu
[0110]			195					200						205		
[0111]	Trp	Asp	Arg	Leu	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Val	Ala	Pro	Gly	Gln
[0112]		210					215					220				
[0113]	Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr	Ser	Asn	Leu
[0114]	225					230					235					240
[0115]	Gln	Glu	Gln	Ile	Ala	Trp	Met	Thr	Ser	Asn	Pro	Pro	Ile	Pro	Val	Gly
[0116]				245						250					255	
[0117]	Asp	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys	Ile	Val	Arg
[0118]				260					265					270		
[0119]	Met	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Lys	Gln	Gly	Pro	Lys	Glu
[0120]			275					280					285			
[0121]	Pro	Phe	Arg	Asp	Tyr	Val	Asp	Arg	Phe	Phe	Lys	Thr	Leu	Arg	Ala	Glu
[0122]		290					295					300				
[0123]	Gln	Ala	Thr	Gln	Asp	Val	Lys	Asn	Trp	Met	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Val
[0124]	305					310					315					320
[0125]	Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro

[0126]	325	330	335
[0127]	Gly Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly		
[0128]	340	345	350
[0129]	Pro Ser His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln Thr Asn		
[0130]	355	360	365
[0131]	Ser Thr Ile Leu Met Gln Arg Ser Asn Phe Lys Gly Ser Lys Arg Ile		
[0132]	370	375	380
[0133]	Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys		
[0134]	385	390	395
[0135]	Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His		
[0136]	405	410	415
[0137]	Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile		
[0138]	420	425	430
[0139]	Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro		
[0140]	435	440	445
[0141]	Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe Glu Glu Thr Thr		
[0142]	450	455	460
[0143]	Pro Ala Pro Lys Gln Glu Pro Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser Leu		
[0144]	465	470	475
[0145]	Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp Pro Leu Ser Gln		
[0146]	485	490	
[0147]	<210> 3		
[0148]	<211> 850		
[0149]	<212> PRT		
[0150]	<213> 人工序列		
[0151]	<220>		
[0152]	<223> mos1Pol 嵌合抗原序列		
[0153]	<400> 3		
[0154]	Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro		
[0155]	1 5 10 15		
[0156]	Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys		
[0157]	20 25 30		
[0158]	Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys		
[0159]	35 40 45		
[0160]	Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala		
[0161]	50 55 60		
[0162]	Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg		
[0163]	65 70 75 80		
[0164]	Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile		
[0165]	85 90 95		
[0166]	Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala		
[0167]	100 105 110		

[0168]	Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Gly Phe Arg Lys		
[0169]	115	120	125
[0170]	Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile		
[0171]	130	135	140
[0172]	Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala		
[0173]	145	150	155
[0174]	Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro Phe Arg Ala Lys		
[0175]	165	170	175
[0176]	Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly		
[0177]	180	185	190
[0178]	Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile Glu Glu Leu Arg		
[0179]	195	200	205
[0180]	Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln		
[0181]	210	215	220
[0182]	Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys		
[0183]	225	230	235
[0184]	Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val		
[0185]	245	250	255
[0186]	Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile		
[0187]	260	265	270
[0188]	Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Ala		
[0189]	275	280	285
[0190]	Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu		
[0191]	290	295	300
[0192]	Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr		
[0193]	305	310	315
[0194]	Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly His		
[0195]	325	330	335
[0196]	Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys		
[0197]	340	345	350
[0198]	Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr Asn Asp Val Lys		
[0199]	355	360	365
[0200]	Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met Glu Ser Ile Val Ile		
[0201]	370	375	380
[0202]	Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp		
[0203]	385	390	395
[0204]	Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp		
[0205]	405	410	415
[0206]	Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu		
[0207]	420	425	430
[0208]	Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala		
[0209]	435	440	445

[0210]	Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly
[0211]	450 455 460
[0212]	Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala
[0213]	465 470 475 480
[0214]	Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Ser Glu Val Asn
[0215]	485 490 495
[0216]	Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro
[0217]	500 505 510
[0218]	Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile
[0219]	515 520 525
[0220]	Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile
[0221]	530 535 540
[0222]	Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ser Gly Ile Arg Lys
[0223]	545 550 555 560
[0224]	Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys
[0225]	565 570 575
[0226]	Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro
[0227]	580 585 590
[0228]	Val Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Gln Cys Gln Leu Lys
[0229]	595 600 605
[0230]	Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln
[0231]	610 615 620
[0232]	Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Ile Ile Leu Val Ala Val His
[0233]	625 630 635 640
[0234]	Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly
[0235]	645 650 655
[0236]	Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Ile Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val
[0237]	660 665 670
[0238]	Lys Val Ile His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Ala Val
[0239]	675 680 685
[0240]	Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Gln Gln Glu Phe Gly Ile Pro
[0241]	690 695 700
[0242]	Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Met Asn Lys Glu Leu
[0243]	705 710 715 720
[0244]	Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr
[0245]	725 730 735
[0246]	Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly
[0247]	740 745 750
[0248]	Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile Asp Ile Ile Ala Thr
[0249]	755 760 765
[0250]	Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Ile Lys Ile Gln Asn
[0251]	770 775 780

[0252]	Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Ile Trp Lys Gly Pro
[0253]	785 790 795 800
[0254]	Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn
[0255]	805 810 815
[0256]	Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile Lys Asp
[0257]	820 825 830
[0258]	Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Ala Asp Cys Val Ala Gly Arg Gln Asp
[0259]	835 840 845
[0260]	Glu Asp
[0261]	850
[0262]	<210> 4
[0263]	<211> 850
[0264]	<212> PRT
[0265]	<213> 人工序列
[0266]	<220>
[0267]	<223> mos2Pol 嵌合抗原序列
[0268]	<400> 4
[0269]	Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro
[0270]	1 5 10 15
[0271]	Gly Met Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys
[0272]	20 25 30
[0273]	Ile Lys Ala Leu Val Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys
[0274]	35 40 45
[0275]	Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala
[0276]	50 55 60
[0277]	Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg
[0278]	65 70 75 80
[0279]	Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile
[0280]	85 90 95
[0281]	Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala
[0282]	100 105 110
[0283]	Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys
[0284]	115 120 125
[0285]	Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile
[0286]	130 135 140
[0287]	Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala
[0288]	145 150 155 160
[0289]	Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln
[0290]	165 170 175
[0291]	Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly
[0292]	180 185 190
[0293]	Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg

[0294]	195	200	205
[0295]	Gln His Leu Leu Arg Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln		
[0296]	210	215	220
[0297]	Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys		
[0298]	225	230	235
[0299]	240		
[0299]	Trp Thr Val Gln Pro Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val		
[0300]	245	250	255
[0301]	Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile		
[0302]	260	265	270
[0303]	Tyr Ala Gly Ile Lys Val Lys Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr		
[0304]	275	280	285
[0305]	Lys Ala Leu Thr Glu Val Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu		
[0306]	290	295	300
[0307]	Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr		
[0308]	305	310	315
[0308]	320		
[0309]	Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln		
[0310]	325	330	335
[0311]	Gly Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys		
[0312]	340	345	350
[0313]	Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys		
[0314]	355	360	365
[0315]	Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile		
[0316]	370	375	380
[0317]	Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp		
[0318]	385	390	395
[0318]	400		
[0319]	Glu Ala Trp Trp Thr Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp		
[0320]	405	410	415
[0321]	Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu		
[0322]	420	425	430
[0323]	Lys Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala		
[0324]	435	440	445
[0325]	Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly		
[0326]	450	455	460
[0327]	Arg Gln Lys Val Val Ser Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala		
[0328]	465	470	475
[0328]	480		
[0329]	Leu Gln Ala Ile His Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn		
[0330]	485	490	495
[0331]	Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro		
[0332]	500	505	510
[0333]	Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Ser Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile		
[0334]	515	520	525
[0335]	Lys Lys Glu Lys Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile		

[0336]	530	535	540
[0337]	Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Arg Gly Ile Arg Lys		
[0338]	545	550	555 560
[0339]	Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys		
[0340]		565	570 575
[0341]	Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Glu Phe Asn Leu Pro Pro		
[0342]		580	585 590
[0343]	Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln Leu Lys		
[0344]		595	600 605
[0345]	Gly Glu Ala Ile His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln		
[0346]	610	615	620
[0347]	Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val Ala Val His		
[0348]	625	630	635 640
[0349]	Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly		
[0350]		645	650 655
[0351]	Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val		
[0352]		660	665 670
[0353]	Lys Thr Ile His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Thr Val		
[0354]		675	680 685
[0355]	Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro		
[0356]	690	695	700
[0357]	Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Ile Asn Lys Glu Leu		
[0358]	705	710	715 720
[0359]	Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr		
[0360]		725	730 735
[0361]	Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly		
[0362]		740	745 750
[0363]	Ile Gly Glu Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser		
[0364]		755	760 765
[0365]	Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn		
[0366]		770	775 780
[0367]	Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro		
[0368]	785	790	795 800
[0369]	Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn		
[0370]		805	810 815
[0371]	Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp		
[0372]		820	825 830
[0373]	Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln Asp		
[0374]		835	840 845
[0375]	Glu Asp		
[0376]	850		
[0377]	<210> 5		

43

[0420]	Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro		
[0421]	290	295	300
[0422]	Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe		
[0423]	305	310	315
[0424]	Tyr Thr Ala Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn		
[0425]	325	330	335
[0426]	Ile Ser Arg Ala Asn Trp Asn Asn Thr Leu Arg Gln Ile Val Glu Lys		
[0427]	340	345	350
[0428]	Leu Gly Lys Gln Phe Gly Asn Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn His Ser		
[0429]	355	360	365
[0430]	Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Gly Gly		
[0431]	370	375	380
[0432]	Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Ser Thr Lys Leu Phe Asn Ser Thr Trp Thr		
[0433]	385	390	395
[0434]	Trp Asn Asn Ser Thr Trp Asn Asn Thr Lys Arg Ser Asn Asp Thr Glu		
[0435]	405	410	415
[0436]	Glu His Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp		
[0437]	420	425	430
[0438]	Gln Glu Val Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Arg Gly Gln Ile		
[0439]	435	440	445
[0440]	Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly		
[0441]	450	455	460
[0442]	Asn Asp Thr Ser Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met		
[0443]	465	470	475
[0444]	Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile		
[0445]	485	490	495
[0446]	Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln		
[0447]	500	505	510
[0448]	Ser Glu Lys Ser Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu		
[0449]	515	520	525
[0450]	Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val		
[0451]	530	535	540
[0452]	Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu		
[0453]	545	550	555
[0454]	Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp		
[0455]	565	570	575
[0456]	Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu		
[0457]	580	585	590
[0458]	Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile		
[0459]	595	600	605
[0460]	Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu		
[0461]	610	615	620

[0462]	Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile
[0463]	625 630 635 640
[0464]	Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn
[0465]	645 650 655
[0466]	Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala
[0467]	660 665 670
[0468]	Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp
[0469]	675 680 685
[0470]	<210> 6
[0471]	<211> 684
[0472]	<212> PRT
[0473]	<213> 人工序列
[0474]	<220>
[0475]	<223> mos2Env 嵌合抗原序列
[0476]	<400> 6
[0477]	Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp
[0478]	1 5 10 15
[0479]	Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val Met Gly Asn
[0480]	20 25 30
[0481]	Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys
[0482]	35 40 45
[0483]	Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val
[0484]	50 55 60
[0485]	His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
[0486]	65 70 75 80
[0487]	Gln Glu Met Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
[0488]	85 90 95
[0489]	Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg Leu Trp Asp
[0490]	100 105 110
[0491]	Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
[0492]	115 120 125
[0493]	Glu Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Ile
[0494]	130 135 140
[0495]	Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala
[0496]	145 150 155 160
[0497]	Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr
[0498]	165 170 175
[0499]	Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser
[0500]	180 185 190
[0501]	Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser
[0502]	195 200 205
[0503]	Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile

[0504]	210	215	220
[0505]	His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys		
[0506]	225	230	235 240
[0507]	Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys		
[0508]	245	250	255
[0509]	Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly		
[0510]	260	265	270
[0511]	Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn		
[0512]	275	280	285
[0513]	Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr		
[0514]	290	295	300
[0515]	Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro		
[0516]	305	310	315 320
[0517]	Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln		
[0518]	325	330	335
[0519]	Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly		
[0520]	340	345	350
[0521]	Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Asn Phe		
[0522]	355	360	365
[0523]	Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn		
[0524]	370	375	380
[0525]	Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly		
[0526]	385	390	395 400
[0527]	Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr		
[0528]	405	410	415
[0529]	Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly		
[0530]	420	425	430
[0531]	Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser		
[0532]	435	440	445
[0533]	Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly		
[0534]	450	455	460
[0535]	Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg		
[0536]	465	470	475 480
[0537]	Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys		
[0538]	485	490	495
[0539]	Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Ser		
[0540]	500	505	510
[0541]	Glu Lys Ser Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly		
[0542]	515	520	525
[0543]	Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln		
[0544]	530	535	540
[0545]	Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu		

[0546]	545	550	555	560
[0547]	Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly			
[0548]		565	570	575
[0549]	Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln			
[0550]		580	585	590
[0551]	Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys			
[0552]		595	600	605
[0553]	Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr			
[0554]		610	615	620
[0555]	Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly			
[0556]	625	630	635	640
[0557]	Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln			
[0558]		645	650	655
[0559]	Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn			
[0560]		660	665	670
[0561]	Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp			
[0562]		675	680	
[0563]	<210>	7		
[0564]	<211>	708		
[0565]	<212>	PRT		
[0566]	<213>	人工序列		
[0567]	<220>			
[0568]	<223>	稳定化的进化枝 C gp140三聚体：具有切割突变的C97ZA012-gp140-折叠子 (foldon)		
[0569]	<400>	7		
[0570]	Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Cys Gln His Leu Trp Arg Trp			
[0571]	1	5	10	15
[0572]	Gly Thr Leu Ile Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Glu Asn			
[0573]		20	25	30
[0574]	Leu Trp Val Gly Asn Met Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val			
[0575]		35	40	45
[0576]	Trp Thr Asp Ala Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Thr Lys Ala			
[0577]		50	55	60
[0578]	Tyr Asp Arg Glu Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro			
[0579]	65	70	75	80
[0580]	Thr Asp Pro Asn Pro Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn			
[0581]		85	90	95
[0582]	Phe Asn Met Trp Lys Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile			
[0583]		100	105	110
[0584]	Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro			
[0585]		115	120	125
[0586]	Leu Cys Val Thr Leu His Cys Thr Asn Ala Thr Phe Lys Asn Asn Val			

[0587]	130	135	140
[0588]	Thr Asn Asp Met Asn Lys Glu Ile Arg Asn Cys Ser Phe Asn Thr Thr		
[0589]	145	150	155
[0590]	Thr Glu Ile Arg Asp Lys Lys Gln Gln Gly Tyr Ala Leu Phe Tyr Arg		
[0591]		165	170
[0592]	Pro Asp Ile Val Leu Leu Lys Glu Asn Arg Asn Asn Ser Asn Asn Ser		
[0593]		180	185
[0594]	Glu Tyr Ile Leu Ile Asn Cys Asn Ala Ser Thr Ile Thr Gln Ala Cys		
[0595]		195	200
[0596]	Pro Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala		
[0597]	210	215	220
[0598]	Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Ser Gly Lys Gly		
[0599]	225	230	235
[0600]	Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro		
[0601]		245	250
[0602]	Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Lys Glu		
[0603]		260	265
[0604]	Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asp Asn Val Lys Thr Ile Ile		
[0605]		275	280
[0606]	Val His Leu Asn Lys Ser Val Glu Ile Val Cys Thr Arg Pro Asn Asn		
[0607]	290	295	300
[0608]	Asn Thr Arg Lys Ser Met Arg Ile Gly Pro Gly Gln Thr Phe Tyr Ala		
[0609]	305	310	315
[0610]	Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala Tyr Cys Asn Ile Ser		
[0611]		325	330
[0612]	Gly Ser Lys Trp Asn Glu Thr Leu Lys Arg Val Lys Glu Lys Leu Gln		
[0613]		340	345
[0614]	Glu Asn Tyr Asn Asn Asn Lys Thr Ile Lys Phe Ala Pro Ser Ser Gly		
[0615]		355	360
[0616]	Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu Phe		
[0617]		370	375
[0618]	Phe Tyr Cys Asn Thr Thr Arg Leu Phe Asn Asn Asn Ala Thr Glu Asp		
[0619]	385	390	395
[0620]	Glu Thr Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp		
[0621]		405	410
[0622]	Gln Gly Val Gly Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile		
[0623]		420	425
[0624]	Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Val Arg Asp Gly Gly		
[0625]		435	440
[0626]	Glu Asp Asn Lys Thr Glu Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asn Met		
[0627]		450	460
[0628]	Lys Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Ile Glu Leu		

[0629]	465	470	475	480
[0630]	Lys Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Gly Ala Lys Glu Arg Val Val Glu			
[0631]		485	490	495
[0632]	Arg Glu Glu Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu			
[0633]		500	505	510
[0634]	Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Leu Thr Leu Thr Val			
[0635]		515	520	525
[0636]	Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Ser Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu			
[0637]		530	535	540
[0638]	Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp			
[0639]		545	550	555
[0640]	Gly Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu			
[0641]		565	570	575
[0642]	Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile			
[0643]		580	585	590
[0644]	Cys Thr Thr Asn Val Pro Trp Asn Ser Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln			
[0645]		595	600	605
[0646]	Thr Asp Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile			
[0647]		610	615	620
[0648]	Ser Asn Tyr Thr Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Asp Ser Gln Thr			
[0649]		625	630	635
[0650]	Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys			
[0651]		645	650	655
[0652]	Asn Leu Trp Ser Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys			
[0653]		660	665	670
[0654]	Ser Arg Ile Glu Gly Arg Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro			
[0655]		675	680	685
[0656]	Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu			
[0657]		690	695	700
[0658]	Ser Thr Phe Leu			
[0659]	705			
[0660]	<210> 8			
[0661]	<211> 625			
[0662]	<212> PRT			
[0663]	<213> 人工序列			
[0664]	<220>			
[0665]	<223> C4片段:没有信号肽和跨膜结构域的gp120-截短的 gp41			
[0666]	<400> 8			
[0667]	Met Gly Asn Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys			
[0668]	1	5	10	15
[0669]	Asp Ala Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu			
[0670]		20	25	30

[0671]	Lys	Glu	Val	His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	
[0672]			35					40					45				
[0673]	Pro	Asn	Pro	Gln	Glu	Ile	Val	Leu	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	
[0674]			50					55					60				
[0675]	Met	Trp	Lys	Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	
[0676]	65					70					75					80	
[0677]	Leu	Trp	Asp	Ala	Ser	Leu	Glu	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	
[0678]					85					90						95	
[0679]	Val	Thr	Leu	Asn	Cys	Arg	Asn	Val	Arg	Asn	Val	Ser	Ser	Asn	Gly	Thr	
[0680]				100					105						110		
[0681]	Tyr	Asn	Ile	Ile	His	Asn	Glu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Ser	
[0682]				115					120						125		
[0683]	Phe	Asn	Ala	Thr	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Arg	Lys	Gln	Lys	Val	His	Ala	
[0684]			130					135					140				
[0685]	Leu	Phe	Tyr	Arg	Leu	Asp	Ile	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	
[0686]	145					150					155					160	
[0687]	Glu	Lys	Ser	Ser	Glu	Asn	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ile	Asn	Cys	
[0688]					165					170						175	
[0689]	Asn	Thr	Ser	Ala	Ile	Thr	Gln	Ala	Cys	Pro	Lys	Val	Ser	Phe	Asp	Pro	
[0690]				180						185					190		
[0691]	Ile	Pro	Ile	His	Tyr	Cys	Ala	Pro	Ala	Gly	Tyr	Ala	Ile	Leu	Lys	Cys	
[0692]				195					200						205		
[0693]	Asn	Asn	Lys	Thr	Phe	Asn	Gly	Thr	Gly	Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	
[0694]			210					215					220				
[0695]	Val	Gln	Cys	Thr	His	Gly	Ile	Lys	Pro	Val	Val	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	
[0696]	225					230					235					240	
[0697]	Leu	Asn	Gly	Ser	Leu	Ala	Glu	Glu	Glu	Ile	Ile	Ile	Arg	Ser	Glu	Asn	
[0698]					245					250						255	
[0699]	Leu	Thr	Asn	Asn	Ala	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	His	Leu	Asn	Glu	Thr	Val	
[0700]				260						265						270	
[0701]	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Ile	Arg	
[0702]				275						280					285		
[0703]	Ile	Gly	Pro	Gly	Gln	Thr	Phe	Tyr	Ala	Thr	Gly	Asp	Ile	Ile	Gly	Asp	
[0704]			290						295				300				
[0705]	Ile	Arg	Gln	Ala	His	Cys	Asn	Leu	Ser	Arg	Asp	Gly	Trp	Asn	Lys	Thr	
[0706]	305					310					315					320	
[0707]	Leu	Gln	Gly	Val	Lys	Lys	Lys	Leu	Ala	Glu	His	Phe	Pro	Asn	Lys	Thr	
[0708]					325					330						335	
[0709]	Ile	Lys	Phe	Ala	Pro	His	Ser	Gly	Gly	Asp	Leu	Glu	Ile	Thr	Thr	His	
[0710]				340						345					350		
[0711]	Thr	Phe	Asn	Cys	Arg	Gly	Glu	Phe	Phe	Tyr	Cys	Asn	Thr	Ser	Asn	Leu	
[0712]			355						360						365		

[0713]	Phe Asn Glu Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro
[0714]	370 375 380
[0715]	Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala
[0716]	385 390 395 400
[0717]	Ile Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile
[0718]	405 410 415
[0719]	Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro
[0720]	420 425 430
[0721]	Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn
[0722]	435 440 445
[0723]	Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu
[0724]	450 455 460
[0725]	Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys
[0726]	465 470 475 480
[0727]	Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala
[0728]	485 490 495
[0729]	Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg
[0730]	500 505 510
[0731]	Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala
[0732]	515 520 525
[0733]	Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys
[0734]	530 535 540
[0735]	Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln
[0736]	545 550 555 560
[0737]	Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr
[0738]	565 570 575
[0739]	Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile
[0740]	580 585 590
[0741]	Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr
[0742]	595 600 605
[0743]	Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu
[0744]	610 615 620
[0745]	Lys
[0746]	625
[0747]	<210> 9
[0748]	<211> 29
[0749]	<212> PRT
[0750]	<213> 人工序列
[0751]	<220>
[0752]	<223> 信号序列
[0753]	<400> 9
[0754]	Met Arg Val Arg Gly Met Leu Arg Asn Trp Gln Gln Trp Trp Ile Trp

[0755]	1	5	10	15
[0756]	Ser Ser Leu Gly Phe Trp Met Leu Met Ile Tyr Ser Val			
[0757]	20	25		
[0758]	<210> 10			
[0759]	<211> 29			
[0760]	<212> PRT			
[0761]	<213> 人工序列			
[0762]	<220>			
[0763]	<223> 信号序列			
[0764]	<400> 10			
[0765]	Met Arg Val Thr Gly Ile Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp			
[0766]	1	5	10	15
[0767]	Gly Thr Met Leu Leu Gly Ile Leu Met Ile Cys Ser Ala			
[0768]	20	25		
[0769]	<210> 11			
[0770]	<211> 29			
[0771]	<212> PRT			
[0772]	<213> 人工序列			
[0773]	<220>			
[0774]	<223> 信号序列			
[0775]	<400> 11			
[0776]	Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp			
[0777]	1	5	10	15
[0778]	Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val			
[0779]	20	25		
[0780]	<210> 12			
[0781]	<211> 29			
[0782]	<212> PRT			
[0783]	<213> 人工序列			
[0784]	<220>			
[0785]	<223> 信号序列			
[0786]	<400> 12			
[0787]	Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Cys Gln His Leu Trp Arg Trp			
[0788]	1	5	10	15
[0789]	Gly Thr Leu Ile Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala			
[0790]	20	25		
[0791]	<210> 13			
[0792]	<211> 22			
[0793]	<212> PRT			
[0794]	<213> 人工序列			
[0795]	<220>			
[0796]	<223> 跨膜结构域			

[0797]	<400>	13
[0798]	Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe	
[0799]	1	5 10 15
[0800]	Ala Val Leu Ser Ile Val	
[0801]		20
[0802]	<210>	14
[0803]	<211>	7
[0804]	<212>	PRT
[0805]	<213>	人工序列
[0806]	<220>	
[0807]	<223>	截短的细胞质区域
[0808]	<400>	14
[0809]	Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr	
[0810]	1	5
[0811]	<210>	15
[0812]	<211>	32
[0813]	<212>	PRT
[0814]	<213>	人工序列
[0815]	<220>	
[0816]	<223>	GCN4三聚结构域
[0817]	<400>	15
[0818]	Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr	
[0819]	1	5 10 15
[0820]	His Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Val	
[0821]		20 25 30
[0822]	<210>	16
[0823]	<211>	30
[0824]	<212>	PRT
[0825]	<213>	人工序列
[0826]	<220>	
[0827]	<223>	折叠子三聚结构域
[0828]	<400>	16
[0829]	Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr	
[0830]	1	5 10 15
[0831]	Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu	
[0832]		20 25 30
[0833]	<210>	17
[0834]	<211>	862
[0835]	<212>	PRT
[0836]	<213>	人工序列
[0837]	<220>	
[0838]	<223>	C4 序列

[0839]	<400> 17																
[0840]	Met	Arg	Val	Arg	Gly	Met	Leu	Arg	Asn	Trp	Gln	Gln	Trp	Trp	Ile	Trp	
[0841]	1				5					10					15		
[0842]	Ser	Ser	Leu	Gly	Phe	Trp	Met	Leu	Met	Ile	Tyr	Ser	Val	Met	Gly	Asn	
[0843]				20					25					30			
[0844]	Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Asp	Ala	Lys	
[0845]			35					40					45				
[0846]	Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Glu	Lys	Glu	Val	
[0847]		50					55					60					
[0848]	His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro	
[0849]	65					70				75					80		
[0850]	Gln	Glu	Ile	Val	Leu	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys	
[0851]					85				90						95		
[0852]	Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	Leu	Trp	Asp	
[0853]				100					105					110			
[0854]	Ala	Ser	Leu	Glu	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu	
[0855]			115					120					125				
[0856]	Asn	Cys	Arg	Asn	Val	Arg	Asn	Val	Ser	Ser	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	Ile	
[0857]		130					135					140					
[0858]	Ile	His	Asn	Glu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Ser	Phe	Asn	Ala	
[0859]	145					150				155					160		
[0860]	Thr	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Arg	Lys	Gln	Lys	Val	His	Ala	Leu	Phe	Tyr	
[0861]				165					170					175			
[0862]	Arg	Leu	Asp	Ile	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Ser	
[0863]			180						185					190			
[0864]	Ser	Glu	Asn	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ile	Asn	Cys	Asn	Thr	Ser	
[0865]			195					200					205				
[0866]	Ala	Ile	Thr	Gln	Ala	Cys	Pro	Lys	Val	Ser	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ile	
[0867]		210						215				220					
[0868]	His	Tyr	Cys	Ala	Pro	Ala	Gly	Tyr	Ala	Ile	Leu	Lys	Cys	Asn	Asn	Lys	
[0869]	225					230				235					240		
[0870]	Thr	Phe	Asn	Gly	Thr	Gly	Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys	
[0871]				245					250						255		
[0872]	Thr	His	Gly	Ile	Lys	Pro	Val	Val	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Gly	
[0873]				260					265					270			
[0874]	Ser	Leu	Ala	Glu	Glu	Glu	Ile	Ile	Ile	Arg	Ser	Glu	Asn	Leu	Thr	Asn	
[0875]			275					280				285					
[0876]	Asn	Ala	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	His	Leu	Asn	Glu	Thr	Val	Asn	Ile	Thr	
[0877]		290						295				300					
[0878]	Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Pro	
[0879]	305					310				315					320		
[0880]	Gly	Gln	Thr	Phe	Tyr	Ala	Thr	Gly	Asp	Ile	Ile	Gly	Asp	Ile	Arg	Gln	

[0881]		325		330		335
[0882]	Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly					
[0883]		340		345		350
[0884]	Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe					
[0885]		355		360		365
[0886]	Ala Pro His Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Thr Phe Asn					
[0887]		370		375		380
[0888]	Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Asn Leu Phe Asn Glu					
[0889]	385		390		395	400
[0890]	Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile					
[0891]		405		410		415
[0892]	Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Ile Tyr Ala					
[0893]		420		425		430
[0894]	Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile Thr Gly Leu					
[0895]		435		440		445
[0896]	Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro Asn Asp Thr					
[0897]		450		455		460
[0898]	Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser					
[0899]	465		470		475	480
[0900]	Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu Gly Val Ala					
[0901]		485		490		495
[0902]	Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val					
[0903]		500		505		510
[0904]	Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr					
[0905]		515		520		525
[0906]	Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu					
[0907]		530		535		540
[0908]	Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala					
[0909]	545		550		555	560
[0910]	Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln					
[0911]		565		570		575
[0912]	Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu					
[0913]		580		585		590
[0914]	Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro					
[0915]		595		600		605
[0916]	Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Asp Asn					
[0917]		610		615		620
[0918]	Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr Thr Gly Glu					
[0919]	625		630		635	640
[0920]	Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu					
[0921]		645		650		655
[0922]	Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Asn Asn Leu Trp Asn Trp Phe					

[0923]	660	665	670
[0924]	Ser Ile Ser Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val		
[0925]	675	680	685
[0926]	Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val		
[0927]	690	695	700
[0928]	Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Leu Gln Thr Leu Thr		
[0929]	705	710	715 720
[0930]	Gln Asn Pro Gly Gly Leu Asp Arg Leu Gly Arg Ile Glu Glu Glu Gly		
[0931]	725	730	735
[0932]	Gly Glu Gln Asp Lys Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Phe Phe		
[0933]	740	745	750
[0934]	Ala Leu Phe Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His		
[0935]	755	760	765
[0936]	Arg Leu Arg Asp Phe Ile Leu Ile Val Ala Arg Ala Val Glu Leu Leu		
[0937]	770	775	780
[0938]	Gly Arg Ser Ser Leu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Trp Glu Ile Leu Lys		
[0939]	785	790	795 800
[0940]	Tyr Leu Gly Ser Leu Leu Gln Tyr Trp Gly Leu Glu Leu Lys Lys Ser		
[0941]	805	810	815
[0942]	Ala Ile Asn Leu Leu Asp Thr Ile Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr		
[0943]	820	825	830
[0944]	Asp Arg Ile Ile Glu Leu Ile Gln Arg Ile Cys Arg Ala Ile Cys Asn		
[0945]	835	840	845
[0946]	Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Phe Glu Ala Ala Leu Gln		
[0947]	850	855	860
[0948]	<210> 18		
[0949]	<211> 711		
[0950]	<212> PRT		
[0951]	<213> 人工序列		
[0952]	<220>		
[0953]	<223> C4D7 序列		
[0954]	<400> 18		
[0955]	Met Arg Val Arg Gly Met Leu Arg Asn Trp Gln Gln Trp Trp Ile Trp		
[0956]	1 5 10 15		
[0957]	Ser Ser Leu Gly Phe Trp Met Leu Met Ile Tyr Ser Val Met Gly Asn		
[0958]	20 25 30		
[0959]	Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Asp Ala Lys		
[0960]	35 40 45		
[0961]	Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val		
[0962]	50 55 60		
[0963]	His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro		
[0964]	65 70 75 80		

[0965]	Gln Glu Ile Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys		
[0966]		85	90 95
[0967]	Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp		
[0968]		100	105 110
[0969]	Ala Ser Leu Glu Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu		
[0970]		115	120 125
[0971]	Asn Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Ile		
[0972]		130	135 140
[0973]	Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala		
[0974]		145	150 155 160
[0975]	Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr		
[0976]		165	170 175
[0977]	Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser		
[0978]		180	185 190
[0979]	Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser		
[0980]		195	200 205
[0981]	Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile		
[0982]		210	215 220
[0983]	His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys		
[0984]		225	230 235 240
[0985]	Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys		
[0986]		245	250 255
[0987]	Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly		
[0988]		260	265 270
[0989]	Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn		
[0990]		275	280 285
[0991]	Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr		
[0992]		290	295 300
[0993]	Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro		
[0994]		305	310 315 320
[0995]	Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln		
[0996]		325	330 335
[0997]	Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly		
[0998]		340	345 350
[0999]	Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe		
[1000]		355	360 365
[1001]	Ala Pro His Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Thr Phe Asn		
[1002]		370	375 380
[1003]	Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Asn Leu Phe Asn Glu		
[1004]		385	390 395 400
[1005]	Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile		
[1006]		405	410 415

[1007]	Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Ile Tyr Ala
[1008]	420 425 430
[1009]	Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile Thr Gly Leu
[1010]	435 440 445
[1011]	Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro Asn Asp Thr
[1012]	450 455 460
[1013]	Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser
[1014]	465 470 475 480
[1015]	Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu Gly Val Ala
[1016]	485 490 495
[1017]	Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val
[1018]	500 505 510
[1019]	Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr
[1020]	515 520 525
[1021]	Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu
[1022]	530 535 540
[1023]	Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala
[1024]	545 550 555 560
[1025]	Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln
[1026]	565 570 575
[1027]	Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu
[1028]	580 585 590
[1029]	Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro
[1030]	595 600 605
[1031]	Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Asp Asn
[1032]	610 615 620
[1033]	Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr Thr Gly Glu
[1034]	625 630 635 640
[1035]	Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu
[1036]	645 650 655
[1037]	Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Asn Asn Leu Trp Asn Trp Phe
[1038]	660 665 670
[1039]	Ser Ile Ser Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val
[1040]	675 680 685
[1041]	Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val
[1042]	690 695 700
[1043]	Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr
[1044]	705 710
[1045]	<210> 19
[1046]	<211> 704
[1047]	<212> PRT
[1048]	<213> 人工序列

[1049] <220>
 [1050] <223> sC4 序列
 [1051] <400> 19
 [1052] Met Arg Val Arg Gly Met Leu Arg Asn Trp Gln Gln Trp Trp Ile Trp
 [1053] 1 5 10 15
 [1054] Ser Ser Leu Gly Phe Trp Met Leu Met Ile Tyr Ser Val Met Gly Asn
 [1055] 20 25 30
 [1056] Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Asp Ala Lys
 [1057] 35 40 45
 [1058] Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val
 [1059] 50 55 60
 [1060] His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
 [1061] 65 70 75 80
 [1062] Gln Glu Ile Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
 [1063] 85 90 95
 [1064] Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp
 [1065] 100 105 110
 [1066] Ala Ser Leu Glu Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
 [1067] 115 120 125
 [1068] Asn Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Ile
 [1069] 130 135 140
 [1070] Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala
 [1071] 145 150 155 160
 [1072] Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr
 [1073] 165 170 175
 [1074] Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser
 [1075] 180 185 190
 [1076] Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser
 [1077] 195 200 205
 [1078] Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile
 [1079] 210 215 220
 [1080] His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
 [1081] 225 230 235 240
 [1082] Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
 [1083] 245 250 255
 [1084] Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
 [1085] 260 265 270
 [1086] Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
 [1087] 275 280 285
 [1088] Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr
 [1089] 290 295 300
 [1090] Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro

[1091]	305	310	315	320
[1092]	Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln			
[1093]		325	330	335
[1094]	Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly			
[1095]		340	345	350
[1096]	Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe			
[1097]		355	360	365
[1098]	Ala Pro His Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Thr Phe Asn			
[1099]		370	375	380
[1100]	Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Asn Leu Phe Asn Glu			
[1101]	385	390	395	400
[1102]	Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile			
[1103]		405	410	415
[1104]	Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Ile Tyr Ala			
[1105]		420	425	430
[1106]	Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile Thr Gly Leu			
[1107]		435	440	445
[1108]	Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro Asn Asp Thr			
[1109]		450	455	460
[1110]	Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser			
[1111]	465	470	475	480
[1112]	Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu Gly Val Ala			
[1113]		485	490	495
[1114]	Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Glu Arg Ala Val			
[1115]		500	505	510
[1116]	Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr			
[1117]		515	520	525
[1118]	Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu			
[1119]		530	535	540
[1120]	Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala			
[1121]	545	550	555	560
[1122]	Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln			
[1123]		565	570	575
[1124]	Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu			
[1125]		580	585	590
[1126]	Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro			
[1127]		595	600	605
[1128]	Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Asp Asn			
[1129]		610	615	620
[1130]	Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr Thr Gly Glu			
[1131]	625	630	635	640
[1132]	Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Met Lys			

[1133]	645	650	655
[1134]	Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile		
[1135]	660	665	670
[1136]	Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Val Gly Ser		
[1137]	675	680	685
[1138]	Gly Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln Arg Glu Lys Arg		
[1139]	690	695	700
[1140]	<210> 20		
[1141]	<211> 4050		
[1142]	<212> DNA		
[1143]	<213> 人工序列		
[1144]	<220>		
[1145]	<223> 编码mos1GagPol的核苷酸序列		
[1146]	<400> 20		
[1147]	atgggagcca gagccagcgt gctgtccgga ggggagctgg accgctggga gaagatcagg	60	
[1148]	ctgaggcctg gaggaagaa gaagtacagg ctgaagcaca tcgtgtgggc cagcagagag	120	
[1149]	ctggaacggt ttgccgtgaa ccctggcctg ctggaaacca gcgagggtg taggcagatt	180	
[1150]	ctgggacagc tgcagcccag cctgcagaca ggcagcgagg aactgcggag cctgtacaac	240	
[1151]	accgtggcca ccctgtactg cgtgcaccag cggatcgaga tcaaggacac caaagaagcc	300	
[1152]	ctggaaaaga tcgaggaaga gcagaacaag agcaagaaga aagcccagca ggctgccgct	360	
[1153]	gacacaggca acagcagcca ggtgtcccag aactaccca tcgtgcagaa catccaggga	420	
[1154]	cagatggtgc accaggccat cagccctcgg accctgaacg cctgggtgaa ggtggtggag	480	
[1155]	gaaaaggcct tcagccctga ggtgatcccc atgttctctg ccctgagcga gggagccaca	540	
[1156]	ccccaggacc tgaacaccat gctgaacacc gtgggagggc accaggctgc catgcagatg	600	
[1157]	ctgaaagaga caatcaacga ggaagctgcc gagtgggaca ggggccacc agtgcacgct	660	
[1158]	ggacctatcg ctcttgcca gatgagagag cccagaggca gcgatattgc tggcaccacc	720	
[1159]	tccacactgc aggaacagat cggctggatg accaacaacc ctcccatccc tgtgggagag	780	
[1160]	atctacaagc ggtggatcat tctgggactg aacaagatcg tgcggatgta cagccctgtg	840	
[1161]	agcatcctgg acatcaggca gggacccaaa gagcccttca gggactacgt ggaccggttc	900	
[1162]	tacaagacc ttagagccga gcaggccagc caggacgtga agaactggat gaccgagaca	960	
[1163]	ctgctggtgc agaacccaa ccctgactgc aagaccatcc tgaaagccct gggacctgct	1020	
[1164]	gccaccctgg aagagatgat gacagcctgc cagggagtgg gaggacctgg ccacaaggcc	1080	
[1165]	agggtgctgg ccgaggccat gagccagtg accaactctg ccaccatcat gatgcagaga	1140	
[1166]	ggcaacttcc ggaaccagag aaagaccgtg aagtgttca actgtggcaa agagggacac	1200	
[1167]	attgccaaga actgcagggc tcccaggaag aaaggctgct ggaagtgcgg aaaagaaggc	1260	
[1168]	caccagatga aggactgcac cgagaggcag gccaaactcc tgggcaagat ctggcctagc	1320	
[1169]	aacaagggca ggcctggcaa ctctctgcag aacagaccg agcccaccgc tcctcccag	1380	
[1170]	gaaagcttcc ggtttggcga ggaaaccacc acccctagcc agaagcagga acccatcgac	1440	
[1171]	aaagagatgt accctctggc cagcctgaag agcctgttcg gcaacgaccc cagcagccag	1500	
[1172]	atggctccca tcagcccaat cgagacagtg cctgtgaagc tgaagcctgg catggacgga	1560	
[1173]	cccagggtga agcagtggcc tctgaccgag gaaaagatca aagccctgac agccatctgc	1620	
[1174]	gaggaaatgg aaaaagagg caagatcacc aagatcggac ccgagaaccc ctacaacacc	1680	

[1175]	cctgtgttcg ccatcaagaa gaaagacagc accaagtgga ggaaactggt ggacttcaga	1740
[1176]	gagctgaaca agcggaccca ggacttcttg gaggtgcagc tgggcatccc tcaccctgct	1800
[1177]	ggcctgaaga aaaagaaaag cgtgaccgtg ctggctgtgg gagatgccta cttcagcgtg	1860
[1178]	cctctggacg agggcttccg gaagtacaca gccttcacca tccccagcac caacaacgag	1920
[1179]	acacctggca tcagatacca gtacaacgtg ctgcctcagg gctggaaagg cagccctgcc	1980
[1180]	atcttccagt gcagcatgac cagaatcctg gaacccttca gagccaagaa ccctgagatc	2040
[1181]	gtgatctacc agtatatggc tgccctctac gtgggcagcg acctggaaat cggacagcac	2100
[1182]	agagccaaaa tcgaagaact ccgcgagcac ctgctgaagt ggggattcac caccctgac	2160
[1183]	aagaagcacc agaaagagcc tcccttcctg tggatgggct acgagctgca ccctgacaag	2220
[1184]	tggaccgtgc agcccatcca gctgccagag aaggactcct ggaccgtgaa cgacatccag	2280
[1185]	aaactggtcg gcaagctgaa ctgggccagc cagatctacc ctggcatcaa agtcagacag	2340
[1186]	ctgtgtaagc tgctgagggg agccaaagca ctgaccgaca tcgtgcctct gacagaagaa	2400
[1187]	gccgagctgg aactggccga gaacagagag atcctgaaag aaccctgca cggagtgtac	2460
[1188]	tacgaccctt ccaaggacct gattgccgag atccagaaac agggacacga ccagtggacc	2520
[1189]	taccagatct atcaggaacc tttcaagaac ctgaaaacag gcaagtacgc caagatgcgg	2580
[1190]	acagcccaca ccaacgacgt gaagcagctg accgaagccg tgcagaaaat cgccatggaa	2640
[1191]	agcatcgtga tctggggaaa gacaccaag ttcaggctgc ccatccagaa agagacatgg	2700
[1192]	gaaacctggt ggaccgacta ctggcaggcc acctggattc ccgagtggga gttcgtgaac	2760
[1193]	accccccccc tgggtgaagct gtggtatcag ctggaaaagg accctatcgc tggcgtggag	2820
[1194]	acattctacg tggctggagc tgccaacaga gagacaaagc tgggcaaggc tggctacgtg	2880
[1195]	accgacagag gcagacagaa aatcgtgagc ctgaccgaaa ccaccaacca gaaaacagcc	2940
[1196]	ctgcaggcca tctatctggc actgcaggac agcggaagcg aggtgaacat cgtgacagcc	3000
[1197]	agccagtatg ccctgggcat catccaggcc cagcctgaca agagcgagag cgagctggtg	3060
[1198]	aaccagatca tcgagcagct gatcaagaaa gaacgggtgt acctgagctg ggtgccagcc	3120
[1199]	cacaagggca tcggagggaa cgagcaggtg gacaagctgg tgtccagcgg aatccggaag	3180
[1200]	gtgtctgttc tggacggcat cgataaagcc caggaagagc acgagaagta ccacagcaat	3240
[1201]	tggagagcca tggccagcga cttcaacctg cctcccgtgg tggccaaaga aatcgtggcc	3300
[1202]	agctgcgacc agtgccagct gaaaggcgag gccatgcacg gacaggtgga ctgctccctt	3360
[1203]	ggcatctggc agctggcatg caccacctg gaaggcaaga tcattctggt ggccgtgcac	3420
[1204]	gtggccagcg gatacatcga agccgaagtg atccctgccg agacagggca ggaaacagcc	3480
[1205]	tacttcatcc tgaagctggc tggcagatgg cctgtgaagg tgatccacac agccaacggc	3540
[1206]	agcaacttca cctctgctgc cgtgaaggct gcctgttggt gggctggcat tcagcaggaa	3600
[1207]	tttggcatcc cctacaatcc ccagtctcag ggagtgggtg ccagcatgaa caaagagctg	3660
[1208]	aagaagatca tcggacaggt cagggatcag gccgagcacc tgaaaactgc cgtccagatg	3720
[1209]	gccgtgttca tccacaactt caagcggaag ggagggatcg gagggtactc tgctggcgag	3780
[1210]	cggatcatcg acatcattgc caccgatatc cagaccaaag agctgcagaa acagatcatc	3840
[1211]	aagatccaga acttcagggt gtactacagg gacagcaggg accccatctg gaaggacct	3900
[1212]	gccaagctgc tgtggaaagg cgaaggagcc gtcgtcatcc aggacaacag cgacatcaag	3960
[1213]	gtggtgcccga gacggaaggt gaaaatcatc aaggactacg gcaaacagat ggctggagcc	4020
[1214]	gactgtgtcg ctggcaggca ggacgaggac	4050
[1215]	<210> 21	
[1216]	<211> 4023	

[1217]	<212>	DNA	
[1218]	<213>	人工序列	
[1219]	<220>		
[1220]	<223>	编码mos2GagPol的核苷酸序列	
[1221]	<400>	21	
[1222]	atgggagcca gagccagcat cctgcgagga gggaagctgg acaagtggga gaagatcagg	60	
[1223]	ctgaggcctg gagggaagaa aactacatg ctgaagcacc tggctctggc cagcagagag	120	
[1224]	ctggaacggt ttgccctcaa tcttggcctg ctggaaacca gcgagggtg caagcagatc	180	
[1225]	atcaagcagc tgcagcctgc cctgcagaca ggcaccgagg aactgcggag cctgtttcaac	240	
[1226]	accgtggcca ccctgtactg cgtgcatgcc gagatcgaag tgaggacac caaagaagcc	300	
[1227]	ctggacaaga tcgaggaaga gcagaacaag agccagcaga aaaccagca ggccaaagaa	360	
[1228]	gccgacggca aggtctccca gaactacccc atcgtgcaga acctgcaggg acagatggtg	420	
[1229]	caccagccca tcagccctcg gacactgaat gcctgggtga aggtgatcga ggaaaaggcc	480	
[1230]	ttcagccctg aggtgatccc catgttcaca gccctgagcg agggagccac accccaggac	540	
[1231]	ctgaacacca tgctgaacac cgtgggaggg caccaggctg ccatgcagat gctgaaggac	600	
[1232]	accatcaacg aggaagctgc cgagtgggac aggtctgcacc ctgtgcacgc tggacctgtg	660	
[1233]	gctcctggcc agatgagaga gccagaggc agcgatatcg ctggcaccac ctccaatctg	720	
[1234]	caggaacaga tcgctgggat gaccagcaac cctcccatcc ctgtgggaga catctacaag	780	
[1235]	cggtggatca tcttgggact gaacaagatc gtgcggatgt acagccctac ctccatcctg	840	
[1236]	gacatcaagc agggacccaa agagccttcc agggactacg tggaccggtt cttcaagacc	900	
[1237]	ctgagagccg agcaggccac ccaggacgtg aagaactgga tgaccgacac cctgctggtg	960	
[1238]	cagaacgcca accctgactg caagaccatc ctgagagccc tgggacctgg agccaccctg	1020	
[1239]	gaagagatga tgacagcctg ccaggaggtg ggaggaccct ctcacaaggc tagggtgctg	1080	
[1240]	gccgaggcca tgagccagac caacagcacc atcctgatgc agcgagcaa cttcaagggc	1140	
[1241]	agcaagcgga tcgtgaagtg cttcaactgt ggcaaagagg gacacattgc cagaaactgt	1200	
[1242]	agggcaccga ggaagaaagg ctgctggaag tgcggaagaa aaggccacca gatgaaggac	1260	
[1243]	tgcaccgaga ggcaggccaa cttcctgggc aagatctggc ctagccacaa gggcagacct	1320	
[1244]	ggcaacttcc tgcagagcag acccgagccc accgctcctc cagccgagag cttccggttc	1380	
[1245]	gaggaaacca cccctgctcc caagcaggaa cctaaggaca gagagcctct gaccagcctg	1440	
[1246]	agaagcctgt tcggcagcga cctctgagc cagatggctc ccatctcccc tatcgagaca	1500	
[1247]	gtgcctgtga agctgaagcc tggcatggac ggacccaagg tgaaacagtg gcctctgacc	1560	
[1248]	gaggaagaaga tcaaagccct ggtggagatc tgtaccgaga tggaaaaaga gggcaagatc	1620	
[1249]	agcaagatcg gaccgagaa cccctacaac acccctatct tcgccatcaa gaagaaagac	1680	
[1250]	agcaccaagt ggaggaaact ggtggacttc agagagctga acaagcggac ccaggacttc	1740	
[1251]	tgggaggtgc agctgggcat cctcaccct gctggcctga agaaaaagaa aagcgtgacc	1800	
[1252]	gtgctggccg tgggagatgc ctacttcagc gtgcctctgg acgaggactt cagaaagtac	1860	
[1253]	acagccttca ccatccccag catcaacaac gagacacctg gcatcagata ccagtacaac	1920	
[1254]	gtgctgcctc agggatggaa gggctctcct gcaatcttcc agagcagcat gaccaagatc	1980	
[1255]	ctggaaccct tccggaagca gaacctgac atcgtgatct accagtacat ggcagccctg	2040	
[1256]	tacgtcggca gcgacctgga aatcggacag caccggacca agatcgaaga actcaggcag	2100	
[1257]	cacctgctgc ggtggggatt caccaccct gacaagaagc accagaaaga gcctcccttc	2160	
[1258]	ctgtggatgg gctacgagct gcaccagac aagtggaccg tgcagcccat cgtgctgcct	2220	

[1259]	gagaaggact cctggaccgt gaacgacatc cagaaactgg tcggcaagct gaactgggcc	2280
[1260]	agccagatct acgtgtgcat caaagtgaag cagctgtgta agctcctgag aggcacccaa	2340
[1261]	gccctgaccg aggtggtgcc actgacagag gaagccgagc tggaactggc cgagaacaga	2400
[1262]	gagatcctga aagaaccctg gcacggagtg tactacgacc ccagcaagga cctgattgcc	2460
[1263]	gagatccaga agcagggaca gggacagtgg acctaccaga tctaccagga acccttcaag	2520
[1264]	aacctgaaaa caggcaagta cgccaggatg aggggagccc acaccaacga cgtcaaacag	2580
[1265]	ctgaccgaag ccgtgcagaa gatcgccacc gagagcatcg tgatttgagg aaagacaccc	2640
[1266]	aagtccaagc tgcccatcca gaaagagaca tgggaggcct ggtggaccga gtactggcag	2700
[1267]	gccacctgga ttcccagtg ggagttctgt aacacccac ccctggtgaa gctgtgttat	2760
[1268]	cagctgga aaagaacccat cgtgggagcc gagacattct acgtggctgg agctgccaac	2820
[1269]	agagagacaa agctgggcaa ggctggctac gtgaccgaca gaggcaggca gaaagtgggtg	2880
[1270]	tccttgaccg ataccaccaa ccagaaaaca gccctgcagg ccatccacct ggctctgcag	2940
[1271]	gactctggcc tggaagtga catcgtgaca gccagccagt atgccctggg catcattcag	3000
[1272]	gcacagcctg acaagagcga gagcgagctg gtgtctcaga tcattgagca gctgatcaag	3060
[1273]	aaagaaaagg tgtacctggc ctgggtgcca gccacaagg ggatcggagg gaacgagcag	3120
[1274]	gtggacaagc tgggtgccag gggcatccgg aaggtgctgt ttctggacgg catcgacaaa	3180
[1275]	gcccggaag agcacgagaa gtaccacagc aattggagag ccatggccag cgagttcaac	3240
[1276]	ctgcctccca tcgtggccaa agaaatctg gcctcttgcg acaagtgcc gctgaaaggc	3300
[1277]	gaggccattc acggacaggt ggactgcagc ccaggcatct ggcagctggc ctgcacccac	3360
[1278]	ctggaaggca aggtgaccc ggtggccgtg cacgtggcct ctggatacat cgaagccgaa	3420
[1279]	gtgatccctg ccgagacagg ccaggaaaca gcctacttcc tgctgaagct ggctggcagg	3480
[1280]	tggcctgtga aaaccatcca cacagccaac ggcagcaact tcacctctgc caccgtgaag	3540
[1281]	gctgcctgtt ggtgggctgg cattaagcag gaatttgca tcccctacaa ccctcagtct	3600
[1282]	cagggagtgg tggcctccat caacaaagag ctgaagaaga tcatcggaca ggtcagggat	3660
[1283]	caggccgagc atctgaaaac agccgtccag atggccgtgt tcattccaaa cttcaagcgg	3720
[1284]	aaggaggga tcggagagta ctctgctggc gagaggatcg tggacattat cgccagcgat	3780
[1285]	atccagacca aagaactgca gaagcagatc acaaagatcc agaacttcag ggtgtactac	3840
[1286]	agggacagca gagatccct gtggaaggga cctgccaaagc tgctgtggaa aggcgaagga	3900
[1287]	gccgtcgta tccaggacaa cagcgacatc aaggtggtgc ccagacggaa ggccaagatc	3960
[1288]	atcagagact acggcaaaca gatggctggc gacgactgcg tcgcctctag gcaggacgag	4020
[1289]	gac	4023
[1290]	<210>	22
[1291]	<211>	2055
[1292]	<212>	DNA
[1293]	<213>	人工序列
[1294]	<220>	
[1295]	<223>	编码mos1Env的核苷酸序列
[1296]	<400>	22
[1297]	atgcgggtga ccggcatccg gaagaactac cagcacctgt ggcgggtggg caccatgctg	60
[1298]	ctgggcatcc tgatgatttg ctctgccgcc ggaaagctgt gggtgaccgt gtactacggc	120
[1299]	gtgcccgtgt ggaaagaggc caccaccacc ctgttctgcg ccagcgacgc caaggcctac	180
[1300]	gacaccgagg tgcacaacgt gtgggccacc cagcctgcg tgcccaccga cccaacccc	240

[1301]	caggaagtgg tcctggaaaa cgtgaccgag aacttcaaca tgttgaagaa caacatggtg	300
[1302]	gagcagatgc acgaggacat catcagcctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgctgaag	360
[1303]	ctgaccccc tgtgctgac cctgaactgc accgacgacg tgcggaacgt gaccaacaac	420
[1304]	gccaccaaca ccaacagcag ctggggcgag cctatggaaa agggcgagat caagaactgc	480
[1305]	agcttcaaca tcaccacctc catccggaac aaggtgcaga agcagtacgc cctgttctac	540
[1306]	aagctggacg tgggtcccat cgacaacgac agcaacaaca ccaactaccg gctgatcagc	600
[1307]	tgcaacacca gcgtgatcac ccaggcctgc cccaaggtgt ccttcgagcc catcccatc	660
[1308]	cactactgcg cccctgccgg cttcgccatc ctgaagtga acgacaagaa gttcaacggc	720
[1309]	accggcccct gcaccaacgt gagcacctg cagtgcaccc acggcatccg gcccggtgtg	780
[1310]	tccaccagc tgctgtgaa cggcagcctg gccgaggaag aggtggtgat cagaagcgag	840
[1311]	aatttcacca acaatgcaa gaccatcatg gtgcagctga acgtgagcgt ggagatcaac	900
[1312]	tgcacccggc ccaacaacaa caccgggaag agcatccaca tcggccctgg cagggccttc	960
[1313]	tacacagccg gcgacatcat cggcgacatc cggcaggccc actgcaacat cagccgggcc	1020
[1314]	aactggaaca acaccctgcg gcagatcgtg gagaagctgg gcaagcagtt cggcaacaac	1080
[1315]	aagaccatcg tgttcaacca cagcagcggc ggagaccccg agatcgtgat gcacagcttc	1140
[1316]	aactgtggcg gcgagttctt ctactgcaac agcaccaagc tgttcaacag cacctggacc	1200
[1317]	tggaacaact ccacctgaa taacaccaag cggagcaacg acaccgaaga gcacatcacc	1260
[1318]	ctgccctgcc ggatcaagca gattatcaat atgtggcagg aggtcggcaa ggccatgtac	1320
[1319]	gcccctccca tccggggcca gatccggtgc agcagcaaca tcaccggcct gctgctgacc	1380
[1320]	cgggacggcg gcaacgatac cagcggcacc gagatcttcc ggcttggcgg cggagatatg	1440
[1321]	cgggacaact ggcggagcga gctgtacaag tacaagtggt tgaagatcga gcccctgggc	1500
[1322]	gtggctccca ccaaggccaa gcggcgggtg gtgcagagcg agaagagcgc cgtgggcatc	1560
[1323]	ggcgccgtgt ttctgggctt cctgggagcc gccggaagca ccatgggagc cgccagcatg	1620
[1324]	acctgaccg tgcaggcccg gctgctgctg tccggcatcg tgcagcagca gaacaacctg	1680
[1325]	ctccgggcca tcgaggccca gcagcacctg ctgcagctga ccgtgtgggg catcaagcag	1740
[1326]	ctgcaggcca ggggtgtggc cgtggagaga tacctgaagg atcagcagct cctggggatc	1800
[1327]	tggggctgca gcggcaagct gatctgcacc accaccgtgc cctggaacgc cagctggtcc	1860
[1328]	aacaagagcc tggacaagat ctggaacaat atgacctgga tggaatggga gcgcgagatc	1920
[1329]	aacaattaca ccagcctgat ctacacctg atcgaggaaa gccagaacca gcaggaaaag	1980
[1330]	aacgagcagg aactgctgga actggacaag tgggccagcc tgttgaactg gttcgacatc	2040
[1331]	agcaactggc tgttg 2055	
[1332]	<210> 23	
[1333]	<211> 2052	
[1334]	<212> DNA	
[1335]	<213> 人工序列	
[1336]	<220>	
[1337]	<223> 编码mos2Env的核苷酸序列	
[1338]	<400> 23	
[1339]	atgagagtgc ggggcatcca gcggaactgg cccagtggt ggatctgggg catcctgggc	60
[1340]	ttttgatga tcatcatctg ccgggtgatg ggcaacctgt gggtagacct gtactacggc	120
[1341]	gtgcccgtgt ggaaagaggc caagaccacc ctgttctgcg ccagcgacgc caaggcctac	180
[1342]	gagaaaagg tgcacaacgt gtggggccacc cagcctgcg tgcccaccga cccaacccc	240

[1343]	caggaaatgg tcctggaaaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatgggtg	300
[1344]	gaccagatgc acgaggacat catccggctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgcgtgaag	360
[1345]	ctgaccccc tgtgctgac cctggaatgc cggaacgtga gaaacgtgag cagcaacggc	420
[1346]	acctacaaca tcatccacaa cgagacctac aaagagatga agaactgcag cttcaacgcc	480
[1347]	accaccgtgg tggaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttctaccg gctggacatc	540
[1348]	gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtccagcg agaacagctc cgagtactac	600
[1349]	cggtgatca actgcaaac cagcgccatc acccaggcct gcccgaaggt gtccctcgac	660
[1350]	cccatcccca tccactactg cgcccctgcc ggctacgcca tcctgaagt caacaacaag	720
[1351]	accttcaacg gcaccggccc ctgcaacaac gtgagcaccg tgcagtgcac ccacggcatc	780
[1352]	aagcccggtg tgtccacca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatc	840
[1353]	atccggtccg agaactgac caacaacgcc aagaccatca tcgtgcacct gaatgagacc	900
[1354]	gtgaacatca cctgcaccg gcccaacaac aacaccgga agagcatccg gatcgccct	960
[1355]	ggccagacct tttagccac cggcgacatc atcggcgaca tccggcagc cactgcaac	1020
[1356]	ctgagccggg acggctggaa caagaccctg cagggcgtga agaagaagct ggccgagcac	1080
[1357]	ttcccaata agacatcaa cttcaccagc agcagcggcg gagacctgga aatcaccacc	1140
[1358]	cacagttca actgcaggg cgagttctt tactgcaata cctccggcct gttcaatggc	1200
[1359]	acctacatgc ccaacggcac caacagcaac agcagcagca acatcacct gccctgccgg	1260
[1360]	atcaagcaga tcatcaatat gtggcaggag gtggcaggg ccatgtacg ccctcccatc	1320
[1361]	gccggcaata tcacctgcc gtccaacatc accggcctgc tgctgaccag ggacggcggc	1380
[1362]	agcaacaacg gcgtgcctaa cgacaccgag acctccggc ctggcggcgg agatatgcgg	1440
[1363]	aacaactggc ggagcgagct gtacaagtac aaggtggtgg aggtgaagcc cctgggcgtg	1500
[1364]	gctcctaccg aggccaagcg gcgggtggtg gagagcgaga agagcgccgt gggcatcggc	1560
[1365]	gccgtgtttc tgggcattct gggagccgc ggaagcacca tgggagccgc cagcatcacc	1620
[1366]	ctgaccgtgc aggcccggca gctgctgtcc ggcacgtgc agcagcagag caacctgctg	1680
[1367]	agagccatcg aggccagca gcacatgtg cagctgaccg tgtggggcat caagcagctg	1740
[1368]	cagaccggg tgctggccat cgagagatac ctgcaggatc agcagctcct gggcctgtgg	1800
[1369]	ggctgcagcg gcaagctgat ctgcaccacc gccgtgccct ggaacaccag ctggtccaac	1860
[1370]	aagagccaga ccgacatctg ggacaacatg acctggatgc agtgggacaa agagatcggc	1920
[1371]	aactacaccg gcgagatcta caggtgctg gaagagagcc agaaccagca ggaaaagaac	1980
[1372]	gagaaggacc tgctggccct ggacagctgg aagaacctgt ggaactggt cgacatcacc	2040
[1373]	aactggctgt gg	2052
[1374]	<210>	24
[1375]	<211>	829
[1376]	<212>	DNA
[1377]	<213>	人工序列
[1378]	<220>	
[1379]	<223>	用于表达Ad26载体中的抗原的CMV启动子
[1380]	<400>	24
[1381]	tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta	60
[1382]	ttggccattg catacgttgt atccatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc	120
[1383]	aacattaccg ccatgttgac attgattatt gactagtat taatagtaat caattacggg	180
[1384]	gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc	240

[1385]	gcctggctga ccgccaacg acccccgcc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat	300
[1386]	agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc	360
[1387]	ccacttggea gtacatcaag tgtatcatat gccagtagc cccctattg acgtcaatga	420
[1388]	cggtaaattg cccgcctggc attatgcca gtacatgacc ttatgggact ttcctacttg	480
[1389]	gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatgggtg atgcggtttt ggcagtacat	540
[1390]	caatgggcgt ggatagcggg ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt	600
[1391]	caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaacaactc	660
[1392]	cgcgccattg acgcaaatg gcggtaggcg tgtacgggtg gaggtctata taagcagagc	720
[1393]	tcgttttagtg aaccgtcaga tcgcctggag acgccatcca cgctgttttg acctccatag	780
[1394]	aagacaccgg gaccgatcca gcctccgcgg ccgggaacgg tgcattgga	829
[1395]	<210>	25
[1396]	<211>	2586
[1397]	<212>	DNA
[1398]	<213>	人工序列
[1399]	<220>	
[1400]	<223>	编码C4的核苷酸序列
[1401]	<400>	25
[1402]	atgagagtgc ggggcatgct gagaaactgg cagcagtggg ggatctggtc cagcctgggc	60
[1403]	ttctggatgc tgatgatcta cagcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
[1404]	gtgcccgtgt ggaaggacgc caagaccacc ctgttttgcg cctccgatgc caaggcctac	180
[1405]	gagaaagagg tgcacaacgt ctgggccacc cagcctgtg tgccaccga cccaatccc	240
[1406]	caggaaatcg tcctgggcaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatggtc	300
[1407]	gatcagatgc acgaggacat catctccctg tgggacgcct ccctggaacc ctgcgtgaag	360
[1408]	ctgacccctc tgtgctgac cctgaactgc cggaacgtgc gcaacgtgtc cagcaacggc	420
[1409]	acctacaaca tcattccaca cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct	480
[1410]	accaccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttctaccg gctggacatc	540
[1411]	gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtcctccg agaacagctc cgagtactac	600
[1412]	agactgatca actgcaacac cagcgccatc acccaggcct gcccgaagg tgccttcgac	660
[1413]	cctatcccca tccactactg cgcctctgcc ggctacgcca tctgaagtg caacaacaag	720
[1414]	accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc	780
[1415]	aagcccgtgg tgtctacca gctgctgtg aacggcagcc tggccgagga agagatcatt	840
[1416]	atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aaaaccatca tcgtccacct gaacgaacc	900
[1417]	gtgaacatca cctgtaccgg gcctaacaac aacaccgga agtccatccg gatcgccct	960
[1418]	ggccagacct tttagccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccaactgcaat	1020
[1419]	ctgagccggg acggctggaa caagacactg caggcgctca agaagaagct ggccgaacac	1080
[1420]	ttccctaaca agactatcaa gttagccct cactctggcg gcgacctgga aatcaccacc	1140
[1421]	cacaccttca actgtcgggg cgagttctt tactgcaata cctccaacct gttcaacgag	1200
[1422]	agcaacatcg agcggaaacg cagcatcatc aactgcctt gccgatcaa gcagattatc	1260
[1423]	aatatgtggc aggaagtggg cagagccatc tacgcccctc caatcgccgg caacatcaca	1320
[1424]	tgccggtcca atatcaccgg cctgctgtc accagagatg gcggctcaa caatggcgtg	1380
[1425]	caaacgaca ccgagacatt cagaccggc ggaggcgaca tgcggaacaa ttggcggagc	1440
[1426]	gagctgtaca agtacaagg ggtggaagtg aagccctgg gcgtggcccc taccgaggcc	1500

[1427]	aagagaagag	tggtcgaacg	cgagaagcgg	gccgtgggaa	tcggagccgt	gtttctggga	1560
[1428]	atcctgggag	ccgtcgctc	taccatgggc	gctgcctcta	tcacctgac	agtgcaggcc	1620
[1429]	agacagctgc	tcagcggcat	cgtgcagcag	cagagcaacc	tgctgagagc	cattgaggcc	1680
[1430]	cagcagcaca	tgctgcagct	gaccgtgtgg	ggcattaagc	agctccagac	acgggtgctg	1740
[1431]	gccatcgaga	gataacctga	ggatcagcag	ctcctgggcc	tgtggggctg	tagcggcaag	1800
[1432]	ctgatctgta	ccaccgccgt	gccctggaat	acctcttgga	gcaacaagag	ccagaccgac	1860
[1433]	atctgggaca	acatgacctg	gatgcagtgg	gacaaagaaa	tcggcaacta	taccggcgag	1920
[1434]	atctatagac	tgctggaaga	gtcccagaac	cagcaggaaa	agaacgagaa	ggacctgctg	1980
[1435]	gccctggatt	cttgaacaa	tctgtggaac	tggttcagca	tctccaagtg	gctgtgtgtac	2040
[1436]	atcaagatct	tcatcatgat	cgtgggcggc	ctgatcgccc	tgcgatcat	ctttgccgtg	2100
[1437]	ctgagcatcg	tgaaccgcgt	gcggcaggga	tacagccctc	tgagcctgca	gacctgact	2160
[1438]	cagaacctg	gcggactgga	cagactgggc	cggattgagg	aagaaggcgg	cgagcaggac	2220
[1439]	aaggatcgga	gcatcaggct	ggtcaacggc	ttcttcgctc	tgttttggga	cgacctgcgg	2280
[1440]	agcctgtgcc	tgttcagcta	ccacagactg	cgggacttta	tcctgattgt	ggccagagcc	2340
[1441]	gtcgaactgc	tggggagaag	ctctctgaga	ggcctgcagc	ggggctggga	gattctgaag	2400
[1442]	tacctgggct	ccctgctgca	gtactggggc	ctggaactga	agaagtctgc	catcaatctg	2460
[1443]	ctcgacacaa	tcgctattgc	cgtggccgaa	ggcaccgata	gaatcatcga	gctgatccag	2520
[1444]	cggatctgcc	gggccatctg	caacatcccc	agacggatca	gacagggctt	cgaggccgct	2580
[1445]	ctgcag	2586					
[1446]	<210>	26					
[1447]	<211>	2133					
[1448]	<212>	DNA					
[1449]	<213>	人工序列					
[1450]	<220>						
[1451]	<223>	编码C4D7的核苷酸序列					
[1452]	<400>	26					
[1453]	atgagagtgc	ggggcatgct	gagaaactgg	cagcagtgg	ggatctggtc	cagcctgggc	60
[1454]	ttctggatgc	tgatgatcta	cagcgtgatg	ggcaacctgt	gggtcaccgt	gtactacggc	120
[1455]	gtgcccgtgt	ggaaggacgc	caagaccacc	ctgttttgcg	cctccgatgc	caaggcctac	180
[1456]	gagaaagagg	tgcaaacgt	ctgggccacc	cagcctgtg	tgcccaccga	ccccaatccc	240
[1457]	caggaaatcg	tcctgggcaa	cgtgaccgag	aacttcaaca	tgtggaagaa	cgacatggtc	300
[1458]	gatcagatgc	acgaggacat	catctccctg	tgggacgcct	ccctggaacc	ctgcgtgaag	360
[1459]	ctgaccctc	tgtgctgac	cctgaactgc	cggaaactgc	gcaacgtgtc	cagcaacggc	420
[1460]	acctacaaca	tcatccacaa	cgagacatac	aaagagatga	agaactgcag	cttcaacgct	480
[1461]	accaccgtgg	tcgaggaccg	gaagcagaag	gtgcacgccc	tgttctaccg	gctggacatc	540
[1462]	gtgcccctgg	acgagaacaa	cagcagcgag	aagtccctcg	agaacagctc	cgagtactac	600
[1463]	agactgatca	actgcaaac	cagcgccatc	accaggcct	gccccaaagt	gtccttcgac	660
[1464]	cctatcccca	tccactactg	cgccctgcc	ggctacgcca	tcctgaagtg	caacaacaag	720
[1465]	accttcaatg	gcaccggccc	ctgcaacaat	gtgtccaccg	tgcaagtgcac	ccacggcatc	780
[1466]	aagcccgtgg	tgtctaccca	gctgctgctg	aacggcagcc	tggccgagga	agagatcatt	840
[1467]	atcagaagcg	agaacctgac	caacaacgcc	aaaaccatca	tcgtccacct	gaacgaaacc	900
[1468]	gtgaacatca	cctgtaccgg	gcctaacaac	aacaccggga	agtcacatccg	gatcgccct	960

[1469]	ggccagacct tttacgccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccaactgcaat	1020
[1470]	ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcgtca agaagaagct ggccgaacac	1080
[1471]	ttccctaaca agactatcaa gttcgcccct cactctggcg gcgacctgga aatcaccacc	1140
[1472]	cacaccttca actgtcgggg cgagttcttc tactgcaata cctccaacct gttcaacgag	1200
[1473]	agcaacatcg agcgggaacga cagcatcatc acactgcctt gccggatcaa gcagattatc	1260
[1474]	aatatgtggc aggaagtggg cagagccatc tacgcccctc caatcgccgg caacatcaca	1320
[1475]	tgccggtcca atatcaccgg cctgctgctc accagagatg gcggtccaa caatggcgtg	1380
[1476]	ccaaacgaca ccgagacatt cagacccggc ggaggcgaca tgcggaacaa ttggcggagc	1440
[1477]	gagctgtaca agtacaaggt ggtggaagtg aagcccctgg gcgtggcccc taccgaggcc	1500
[1478]	aagagaagag tggtcgaacg cgagaagcgg gccgtgggaa tcggagccgt gtttctggga	1560
[1479]	atcctgggag ccgctggctc taccatgggc gctgcctcta tcacctgac agtgcaggcc	1620
[1480]	agacagctgc tcagcggcat cgtgcagcag cagagcaacc tgctgagagc cattgaggcc	1680
[1481]	cagcagcaca tgctgcagct gaccgtgtgg ggcattaagc agctccagac acgggtgctg	1740
[1482]	gccatcgaga gatacctgca ggatcagcag ctcttgggcc tgtggggctg tagcggcaag	1800
[1483]	ctgatctgta ccaccgccgt gccctggaat acctcttga gcaacaagag ccagaccgac	1860
[1484]	atctgggaca acatgacctg gatgcagtgg gacaaagaaa tcggcaacta taccggcgag	1920
[1485]	atctatagac tgctggaaga gtcccagaac cagcaggaaa agaacgagaa ggacctgctg	1980
[1486]	gccctggatt cttggaacaa tctgtggaac tggttcagca tctccaagtg gctgtgttac	2040
[1487]	atcaagatct tcatcatgat cgtgggcggc ctgatcgcc tcgggatcat ctttgccgtg	2100
[1488]	ctgagcatcg tgaaccgcgt gcggcagggc tac	2133
[1489]	<210>	27
[1490]	<211>	2112
[1491]	<212>	DNA
[1492]	<213>	人工序列
[1493]	<220>	
[1494]	<223>	编码sC4的核苷酸序列
[1495]	<400>	27
[1496]	atgagagtgc ggggcatgct gagaaactgg cagcagtggg ggatctggtc cagcctgggc	60
[1497]	ttctggatgc tgatgatcta cagcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
[1498]	gtgcccgtgt ggaaggacgc caagaccacc ctgttttgcg cctccgatgc caaggcctac	180
[1499]	gagaaagagg tgcacaacgt ctgggccacc cagcctgtg tgcccaccga cccaatccc	240
[1500]	caggaaatcg tcctgggcaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatggtc	300
[1501]	gatcagatgc acgaggacat catctccctg tgggacgcct ccctggaacc ctgcgtgaag	360
[1502]	ctgacccctc tgtgctgac cctgaactgc cggaacgtgc gcaacgtgtc cagcaacggc	420
[1503]	acctacaaca tcatccacaa cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct	480
[1504]	accaccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttctaccg gctggacatc	540
[1505]	gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtcctccg agaacagtc cgagtactac	600
[1506]	agactgatca actgcaacac cagcgcctac acccaggcct gcccgaaggt gtcccttcgac	660
[1507]	cctatcccca tccactactg cgcccctgcc ggctacgcca tcctgaagtg caacaacaag	720
[1508]	accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcaagtgcac ccacggcatc	780
[1509]	aagcccgtgg tgtctacca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatt	840
[1510]	atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aaaaccatca tcgtccacct gaacgaaacc	900

[1511]	gtgaacatca cctgtaccgc gcctaacaac aacaccgcga agtccatccg gatcgccct 960
[1512]	ggccagacct tttagccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccaactgcaat 1020
[1513]	ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcgta agaagaagct ggccgaacac 1080
[1514]	ttccctaaca agactatcaa gttagccct cactctggcg gcgacctgga aatcaccacc 1140
[1515]	cacaccttca actgtcgggg cgagttcttc tactgcaata cctccaacct gttcaacgag 1200
[1516]	agcaacatcg agcggaacga cagcatcatc acactgcctt gccggatcaa gcagattatc 1260
[1517]	aatatgtggc aggaagtggg cagagccatc tacgcccctc caatcgccgg caacatcaca 1320
[1518]	tgccggtcca atatcaccgg cctgtctctc accagagatg gcggctccaa caatggcgtg 1380
[1519]	ccaaacgaca ccgagacatt cagaccgcgc ggaggcgaca tgcggaacaa ttggcggagc 1440
[1520]	gagctgtaca agtacaaggt ggtggaagtg aagcccctgg gcgtggcccc taccgaggcc 1500
[1521]	aagagaagag tggctgaacg cgaggaaacg gccgtgggaa tcggagccgt gtttctggga 1560
[1522]	atcctgggag ccgttggtc taccatgggc gctgcctcta tcacctgac agtgcaggcc 1620
[1523]	agacagctgc tcagcggcat cgtgcagcag cagagcaacc tgctgagagc cattgaggcc 1680
[1524]	cagcagcaca tgctgcagct gaccgtgtgg ggcattaagc agctccagac acgggtgctg 1740
[1525]	gccatcgaga gatactgca ggatcagcag ctctctggcc tgtggggctg tagcggcaag 1800
[1526]	ctgatctgta ccaccgccg gccctggaat acctcttgga gcaacaagag ccagaccgac 1860
[1527]	atctgggaca acatgacctg gatgcagtgg gacaaagaaa tcggcaacta taccggcgag 1920
[1528]	atctatagac tgctggaaga gtcccagaac cagcaggaaa agatgaagca gatcgaggac 1980
[1529]	aagatcgaag agattctgag caagatctac cacatcgaga acgagatcgc ccgcatcaag 2040
[1530]	aaactgatcg gcgaagtggg atccggcgct cccacaaagg ccaaaagacg ggtggtgcag 2100
[1531]	cgcgagaaac gc 2112
[1532]	<210> 28
[1533]	<211> 1350
[1534]	<212> PRT
[1535]	<213> 人工序列
[1536]	<220>
[1537]	<223> mos1GagPol 嵌合抗原序列
[1538]	<400> 28
[1539]	Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
[1540]	1 5 10 15
[1541]	Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
[1542]	20 25 30
[1543]	His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
[1544]	35 40 45
[1545]	Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
[1546]	50 55 60
[1547]	Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
[1548]	65 70 75 80
[1549]	Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
[1550]	85 90 95
[1551]	Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
[1552]	100 105 110

[1553]	Lys	Lys	Ala	Gln	Gln	Ala	Ala	Ala	Asp	Thr	Gly	Asn	Ser	Ser	Gln	Val
[1554]			115					120					125			
[1555]	Ser	Gln	Asn	Tyr	Pro	Ile	Val	Gln	Asn	Ile	Gln	Gly	Gln	Met	Val	His
[1556]		130					135					140				
[1557]	Gln	Ala	Ile	Ser	Pro	Arg	Thr	Leu	Asn	Ala	Trp	Val	Lys	Val	Val	Glu
[1558]	145					150					155					160
[1559]	Glu	Lys	Ala	Phe	Ser	Pro	Glu	Val	Ile	Pro	Met	Phe	Ser	Ala	Leu	Ser
[1560]				165					170						175	
[1561]	Glu	Gly	Ala	Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Met	Leu	Asn	Thr	Val	Gly
[1562]			180						185					190		
[1563]	Gly	His	Gln	Ala	Ala	Met	Gln	Met	Leu	Lys	Glu	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu
[1564]		195						200						205		
[1565]	Ala	Ala	Glu	Trp	Asp	Arg	Val	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Ile	Ala
[1566]		210				215						220				
[1567]	Pro	Gly	Gln	Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr
[1568]	225				230					235						240
[1569]	Ser	Thr	Leu	Gln	Glu	Gln	Ile	Gly	Trp	Met	Thr	Asn	Asn	Pro	Pro	Ile
[1570]			245						250					255		
[1571]	Pro	Val	Gly	Glu	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys
[1572]		260						265						270		
[1573]	Ile	Val	Arg	Met	Tyr	Ser	Pro	Val	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Arg	Gln	Gly
[1574]		275						280						285		
[1575]	Pro	Lys	Glu	Pro	Phe	Arg	Asp	Tyr	Val	Asp	Arg	Phe	Tyr	Lys	Thr	Leu
[1576]		290				295					300					
[1577]	Arg	Ala	Glu	Gln	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Lys	Asn	Trp	Met	Thr	Glu	Thr
[1578]	305				310						315					320
[1579]	Leu	Leu	Val	Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Lys	Ala
[1580]			325							330					335	
[1581]	Leu	Gly	Pro	Ala	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Met	Met	Thr	Ala	Cys	Gln	Gly
[1582]			340						345					350		
[1583]	Val	Gly	Gly	Pro	Gly	His	Lys	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Ser
[1584]		355					360						365			
[1585]	Gln	Val	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Ile	Met	Met	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Arg
[1586]		370					375					380				
[1587]	Asn	Gln	Arg	Lys	Thr	Val	Lys	Cys	Phe	Asn	Cys	Gly	Lys	Glu	Gly	His
[1588]	385				390						395					400
[1589]	Ile	Ala	Lys	Asn	Cys	Arg	Ala	Pro	Arg	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Lys	Cys
[1590]			405							410				415		
[1591]	Gly	Lys	Glu	Gly	His	Gln	Met	Lys	Asp	Cys	Thr	Glu	Arg	Gln	Ala	Asn
[1592]			420						425					430		
[1593]	Phe	Leu	Gly	Lys	Ile	Trp	Pro	Ser	Asn	Lys	Gly	Arg	Pro	Gly	Asn	Phe
[1594]		435						440						445		

[1595]	Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
[1596]	450 455 460
[1597]	Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
[1598]	465 470 475 480
[1599]	Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
[1600]	485 490 495
[1601]	Pro Ser Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val
[1602]	500 505 510
[1603]	Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro Leu
[1604]	515 520 525
[1605]	Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met Glu
[1606]	530 535 540
[1607]	Lys Glu Gly Lys Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr
[1608]	545 550 555 560
[1609]	Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu
[1610]	565 570 575
[1611]	Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val
[1612]	580 585 590
[1613]	Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val
[1614]	595 600 605
[1615]	Thr Val Leu Ala Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu
[1616]	610 615 620
[1617]	Gly Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu
[1618]	625 630 635 640
[1619]	Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys
[1620]	645 650 655
[1621]	Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro
[1622]	660 665 670
[1623]	Phe Arg Ala Lys Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala
[1624]	675 680 685
[1625]	Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile
[1626]	690 695 700
[1627]	Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp
[1628]	705 710 715 720
[1629]	Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu
[1630]	725 730 735
[1631]	His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp
[1632]	740 745 750
[1633]	Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp
[1634]	755 760 765
[1635]	Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu
[1636]	770 775 780

[1637]	Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu
[1638]	785 790 795 800
[1639]	Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val
[1640]	805 810 815
[1641]	His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln
[1642]	820 825 830
[1643]	Lys Gln Gly His Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe
[1644]	835 840 845
[1645]	Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr
[1646]	850 855 860
[1647]	Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met Glu
[1648]	865 870 875 880
[1649]	Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln
[1650]	885 890 895
[1651]	Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp
[1652]	900 905 910
[1653]	Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp
[1654]	915 920 925
[1655]	Tyr Gln Leu Glu Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val
[1656]	930 935 940
[1657]	Ala Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val
[1658]	945 950 955 960
[1659]	Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn
[1660]	965 970 975
[1661]	Gln Lys Thr Ala Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly
[1662]	980 985 990
[1663]	Ser Glu Val Asn Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile
[1664]	995 1000 1005
[1665]	Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile
[1666]	1010 1015 1020
[1667]	Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val
[1668]	1025 1030 1035
[1669]	Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu
[1670]	1040 1045 1050
[1671]	Val Ser Ser Gly Ile Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp
[1672]	1055 1060 1065
[1673]	Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala
[1674]	1070 1075 1080
[1675]	Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile
[1676]	1085 1090 1095
[1677]	Val Ala Ser Cys Asp Gln Cys Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His
[1678]	1100 1105 1110

[1679]	Gly	Gln	Val	Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile	Trp	Gln	Leu	Ala	Cys	Thr
[1680]		1115					1120					1125			
[1681]	His	Leu	Glu	Gly	Lys	Ile	Ile	Leu	Val	Ala	Val	His	Val	Ala	Ser
[1682]		1130					1135					1140			
[1683]	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro	Ala	Glu	Thr	Gly	Gln	Glu
[1684]		1145					1150					1155			
[1685]	Thr	Ala	Tyr	Phe	Ile	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly	Arg	Trp	Pro	Val	Lys
[1686]		1160					1165					1170			
[1687]	Val	Ile	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Ser	Ala	Ala	Val
[1688]		1175					1180					1185			
[1689]	Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile	Gln	Gln	Glu	Phe	Gly	Ile
[1690]		1190					1195					1200			
[1691]	Pro	Tyr	Asn	Pro	Gln	Ser	Gln	Gly	Val	Val	Ala	Ser	Met	Asn	Lys
[1692]		1205					1210					1215			
[1693]	Glu	Leu	Lys	Lys	Ile	Ile	Gly	Gln	Val	Arg	Asp	Gln	Ala	Glu	His
[1694]		1220					1225					1230			
[1695]	Leu	Lys	Thr	Ala	Val	Gln	Met	Ala	Val	Phe	Ile	His	Asn	Phe	Lys
[1696]		1235					1240					1245			
[1697]	Arg	Lys	Gly	Gly	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ser	Ala	Gly	Glu	Arg	Ile	Ile
[1698]		1250					1255					1260			
[1699]	Asp	Ile	Ile	Ala	Thr	Asp	Ile	Gln	Thr	Lys	Glu	Leu	Gln	Lys	Gln
[1700]		1265					1270					1275			
[1701]	Ile	Ile	Lys	Ile	Gln	Asn	Phe	Arg	Val	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Arg
[1702]		1280					1285					1290			
[1703]	Asp	Pro	Ile	Trp	Lys	Gly	Pro	Ala	Lys	Leu	Leu	Trp	Lys	Gly	Glu
[1704]		1295					1300					1305			
[1705]	Gly	Ala	Val	Val	Ile	Gln	Asp	Asn	Ser	Asp	Ile	Lys	Val	Val	Pro
[1706]		1310					1315					1320			
[1707]	Arg	Arg	Lys	Val	Lys	Ile	Ile	Lys	Asp	Tyr	Gly	Lys	Gln	Met	Ala
[1708]		1325					1330					1335			
[1709]	Gly	Ala	Asp	Cys	Val	Ala	Gly	Arg	Gln	Asp	Glu	Asp			
[1710]		1340					1345					1350			
[1711]	<210>	29													
[1712]	<211>	1341													
[1713]	<212>	PRT													
[1714]	<213>	人工序列													
[1715]	<220>														
[1716]	<223>	mos2GagPol 嵌合抗原序列													
[1717]	<400>	29													
[1718]	Met	Gly	Ala	Arg	Ala	Ser	Ile	Leu	Arg	Gly	Gly	Lys	Leu	Asp	Lys
[1719]	1				5					10				15	
[1720]	Glu	Lys	Ile	Arg	Leu	Arg	Pro	Gly	Gly	Lys	Lys	His	Tyr	Met	Leu

[1721]	20	25	30
[1722]	His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro		
[1723]	35	40	45
[1724]	Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu		
[1725]	50	55	60
[1726]	Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn		
[1727]	65	70	75
[1728]	Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp		
[1729]	85	90	95
[1730]	Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln		
[1731]	100	105	110
[1732]	Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn		
[1733]	115	120	125
[1734]	Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile		
[1735]	130	135	140
[1736]	Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala		
[1737]	145	150	155
[1738]	Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Thr Ala Leu Ser Glu Gly Ala		
[1739]	165	170	175
[1740]	Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln		
[1741]	180	185	190
[1742]	Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Asp Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu		
[1743]	195	200	205
[1744]	Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Val Ala Pro Gly Gln		
[1745]	210	215	220
[1746]	Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Asn Leu		
[1747]	225	230	235
[1748]	Gln Glu Gln Ile Ala Trp Met Thr Ser Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly		
[1749]	245	250	255
[1750]	Asp Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg		
[1751]	260	265	270
[1752]	Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Lys Gln Gly Pro Lys Glu		
[1753]	275	280	285
[1754]	Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Thr Leu Arg Ala Glu		
[1755]	290	295	300
[1756]	Gln Ala Thr Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Asp Thr Leu Leu Val		
[1757]	305	310	315
[1758]	Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Arg Ala Leu Gly Pro		
[1759]	325	330	335
[1760]	Gly Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly		
[1761]	340	345	350
[1762]	Pro Ser His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln Thr Asn		

[1763]	355	360	365
[1764]	Ser Thr Ile Leu Met Gln Arg Ser Asn Phe Lys Gly Ser Lys Arg Ile		
[1765]	370	375	380
[1766]	Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys		
[1767]	385	390	395
[1768]	Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His		
[1769]	405	410	415
[1770]	Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile		
[1771]	420	425	430
[1772]	Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro		
[1773]	435	440	445
[1774]	Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe Glu Glu Thr Thr		
[1775]	450	455	460
[1776]	Pro Ala Pro Lys Gln Glu Pro Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser Leu		
[1777]	465	470	475
[1778]	Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp Pro Leu Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser		
[1779]	485	490	495
[1780]	Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro		
[1781]	500	505	510
[1782]	Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val		
[1783]	515	520	525
[1784]	Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly		
[1785]	530	535	540
[1786]	Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp		
[1787]	545	550	555
[1788]	Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg		
[1789]	565	570	575
[1790]	Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly		
[1791]	580	585	590
[1792]	Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala Val Gly Asp Ala Tyr		
[1793]	595	600	605
[1794]	Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr		
[1795]	610	615	620
[1796]	Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn		
[1797]	625	630	635
[1798]	Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser		
[1799]	645	650	655
[1800]	Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val		
[1801]	660	665	670
[1802]	Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile		
[1803]	675	680	685
[1804]	Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg		

[1805]	690	695	700
[1806]	Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe		
[1807]	705	710	715
[1808]	Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro		
[1809]	725	730	735
[1810]	Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys		
[1811]	740	745	750
[1812]	Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys		
[1813]	755	760	765
[1814]	Val Lys Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu		
[1815]	770	775	780
[1816]	Val Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg		
[1817]	785	790	795
[1818]	Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys		
[1819]	805	810	815
[1820]	Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr		
[1821]	820	825	830
[1822]	Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala		
[1823]	835	840	845
[1824]	Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala		
[1825]	850	855	860
[1826]	Val Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro		
[1827]	865	870	875
[1828]	Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Ala Trp Trp Thr		
[1829]	885	890	895
[1830]	Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr		
[1831]	900	905	910
[1832]	Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Val		
[1833]	915	920	925
[1834]	Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys		
[1835]	930	935	940
[1836]	Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Val Val		
[1837]	945	950	955
[1838]	Ser Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala Leu Gln Ala Ile His		
[1839]	965	970	975
[1840]	Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Ala Ser		
[1841]	980	985	990
[1842]	Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser		
[1843]	995	1000	1005
[1844]	Glu Leu Val Ser Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys		
[1845]	1010	1015	1020
[1846]	Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn		

[1847]	1025	1030	1035
[1848]	Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Arg Gly Ile Arg Lys Val Leu		
[1849]	1040	1045	1050
[1850]	Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr		
[1851]	1055	1060	1065
[1852]	His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Glu Phe Asn Leu Pro Pro		
[1853]	1070	1075	1080
[1854]	Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln Leu		
[1855]	1085	1090	1095
[1856]	Lys Gly Glu Ala Ile His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile		
[1857]	1100	1105	1110
[1858]	Trp Gln Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val		
[1859]	1115	1120	1125
[1860]	Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro		
[1861]	1130	1135	1140
[1862]	Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala		
[1863]	1145	1150	1155
[1864]	Gly Arg Trp Pro Val Lys Thr Ile His Thr Ala Asn Gly Ser Asn		
[1865]	1160	1165	1170
[1866]	Phe Thr Ser Ala Thr Val Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile		
[1867]	1175	1180	1185
[1868]	Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val		
[1869]	1190	1195	1200
[1870]	Val Ala Ser Ile Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val		
[1871]	1205	1210	1215
[1872]	Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val		
[1873]	1220	1225	1230
[1874]	Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Glu Tyr Ser		
[1875]	1235	1240	1245
[1876]	Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser Asp Ile Gln Thr		
[1877]	1250	1255	1260
[1878]	Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val		
[1879]	1265	1270	1275
[1880]	Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro Ala Lys		
[1881]	1280	1285	1290
[1882]	Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser		
[1883]	1295	1300	1305
[1884]	Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp		
[1885]	1310	1315	1320
[1886]	Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln		
[1887]	1325	1330	1335
[1888]	Asp Glu Asp		

79

[1931]	Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn		
[1932]	275	280	285
[1933]	Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr		
[1934]	290	295	300
[1935]	Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro		
[1936]	305	310	315
[1937]	Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln		
[1938]	325	330	335
[1939]	Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly		
[1940]	340	345	350
[1941]	Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Asn Phe		
[1942]	355	360	365
[1943]	Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn		
[1944]	370	375	380
[1945]	Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly		
[1946]	385	390	395
[1947]	Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr		
[1948]	405	410	415
[1949]	Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly		
[1950]	420	425	430
[1951]	Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser		
[1952]	435	440	445
[1953]	Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly		
[1954]	450	455	460
[1955]	Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg		
[1956]	465	470	475
[1957]	Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys		
[1958]	485	490	495
[1959]	Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg		
[1960]	500	505	510
[1961]	Glu Glu Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly		
[1962]	515	520	525
[1963]	Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln		
[1964]	530	535	540
[1965]	Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu		
[1966]	545	550	555
[1967]	Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly		
[1968]	565	570	575
[1969]	Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln		
[1970]	580	585	590
[1971]	Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys		
[1972]	595	600	605

[1973]	Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr
[1974]	610 615 620
[1975]	Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly
[1976]	625 630 635 640
[1977]	Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln
[1978]	645 650 655
[1979]	Gln Glu Lys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser
[1980]	660 665 670
[1981]	Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile
[1982]	675 680 685
[1983]	Gly Glu Val Gly Ser Gly Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val
[1984]	690 695 700
[1985]	Gln Arg Glu Lys Arg
[1986]	705
[1987]	<210> 31
[1988]	<211> 867
[1989]	<212> PRT
[1990]	<213> 人工序列
[1991]	<220>
[1992]	<223> C1 序列
[1993]	<400> 31
[1994]	Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp
[1995]	1 5 10 15
[1996]	Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val Met Gly Asn
[1997]	20 25 30
[1998]	Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys
[1999]	35 40 45
[2000]	Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val
[2001]	50 55 60
[2002]	His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
[2003]	65 70 75 80
[2004]	Gln Glu Met Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
[2005]	85 90 95
[2006]	Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg Leu Trp Asp
[2007]	100 105 110
[2008]	Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
[2009]	115 120 125
[2010]	Glu Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Ile
[2011]	130 135 140
[2012]	Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala
[2013]	145 150 155 160
[2014]	Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr

[2015]	165							170							175				
[2016]	Arg	Leu	Asp	Ile	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Ser			
[2017]	180							185							190				
[2018]	Ser	Glu	Asn	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ile	Asn	Cys	Asn	Thr	Ser			
[2019]	195							200							205				
[2020]	Ala	Ile	Thr	Gln	Ala	Cys	Pro	Lys	Val	Ser	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ile			
[2021]	210							215							220				
[2022]	His	Tyr	Cys	Ala	Pro	Ala	Gly	Tyr	Ala	Ile	Leu	Lys	Cys	Asn	Asn	Lys			
[2023]	225							230							235			240	
[2024]	Thr	Phe	Asn	Gly	Thr	Gly	Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys			
[2025]	245							250							255				
[2026]	Thr	His	Gly	Ile	Lys	Pro	Val	Val	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Gly			
[2027]	260							265							270				
[2028]	Ser	Leu	Ala	Glu	Glu	Glu	Ile	Ile	Ile	Arg	Ser	Glu	Asn	Leu	Thr	Asn			
[2029]	275							280							285				
[2030]	Asn	Ala	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	His	Leu	Asn	Glu	Thr	Val	Asn	Ile	Thr			
[2031]	290							295							300				
[2032]	Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Pro			
[2033]	305							310							315			320	
[2034]	Gly	Gln	Thr	Phe	Tyr	Ala	Thr	Gly	Asp	Ile	Ile	Gly	Asp	Ile	Arg	Gln			
[2035]	325							330							335				
[2036]	Ala	His	Cys	Asn	Leu	Ser	Arg	Asp	Gly	Trp	Asn	Lys	Thr	Leu	Gln	Gly			
[2037]	340							345							350				
[2038]	Val	Lys	Lys	Lys	Leu	Ala	Glu	His	Phe	Pro	Asn	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe			
[2039]	355							360							365				
[2040]	Thr	Ser	Ser	Ser	Gly	Gly	Asp	Leu	Glu	Ile	Thr	Thr	His	Ser	Phe	Asn			
[2041]	370							375							380				
[2042]	Cys	Arg	Gly	Glu	Phe	Phe	Tyr	Cys	Asn	Thr	Ser	Gly	Leu	Phe	Asn	Gly			
[2043]	385							390							395			400	
[2044]	Thr	Tyr	Met	Pro	Asn	Gly	Thr	Asn	Ser	Asn	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Thr			
[2045]	405							410							415				
[2046]	Leu	Pro	Cys	Arg	Ile	Lys	Gln	Ile	Ile	Asn	Met	Trp	Gln	Glu	Val	Gly			
[2047]	420							425							430				
[2048]	Arg	Ala	Met	Tyr	Ala	Pro	Pro	Ile	Ala	Gly	Asn	Ile	Thr	Cys	Arg	Ser			
[2049]	435							440							445				
[2050]	Asn	Ile	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Thr	Arg	Asp	Gly	Gly	Ser	Asn	Asn	Gly			
[2051]	450							455							460				
[2052]	Val	Pro	Asn	Asp	Thr	Glu	Thr	Phe	Arg	Pro	Gly	Gly	Gly	Asp	Met	Arg			
[2053]	465							470							475			480	
[2054]	Asn	Asn	Trp	Arg	Ser	Glu	Leu	Tyr	Lys	Tyr	Lys	Val	Val	Glu	Val	Lys			
[2055]	485							490							495				
[2056]	Pro	Leu	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Ala	Lys	Arg	Arg	Val	Val	Glu	Arg			

[2057]	500	505	510
[2058]	Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly		
[2059]	515	520	525
[2060]	Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln		
[2061]	530	535	540
[2062]	Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu		
[2063]	545	550	555
[2064]	Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly		
[2065]	565	570	575
[2066]	Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln		
[2067]	580	585	590
[2068]	Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys		
[2069]	595	600	605
[2070]	Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr		
[2071]	610	615	620
[2072]	Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly		
[2073]	625	630	635
[2074]	Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln		
[2075]	645	650	655
[2076]	Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn		
[2077]	660	665	670
[2078]	Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile		
[2079]	675	680	685
[2080]	Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala		
[2081]	690	695	700
[2082]	Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser		
[2083]	705	710	715
[2084]	Leu Gln Thr Leu Thr Gln Asn Pro Gly Gly Leu Asp Arg Leu Gly Arg		
[2085]	725	730	735
[2086]	Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Gln Asp Lys Asp Arg Ser Ile Arg Leu		
[2087]	740	745	750
[2088]	Val Asn Gly Phe Phe Ala Leu Phe Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys		
[2089]	755	760	765
[2090]	Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Phe Ile Leu Ile Val Ala Arg		
[2091]	770	775	780
[2092]	Ala Val Glu Leu Leu Gly Arg Ser Ser Leu Arg Gly Leu Gln Arg Gly		
[2093]	785	790	795
[2094]	Trp Glu Ile Leu Lys Tyr Leu Gly Ser Leu Leu Gln Tyr Trp Gly Leu		
[2095]	805	810	815
[2096]	Glu Leu Lys Lys Ser Ala Ile Asn Leu Leu Asp Thr Ile Ala Ile Ala		
[2097]	820	825	830
[2098]	Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Ile Ile Glu Leu Ile Gln Arg Ile Cys		

[2099]	835	840	845
[2100]	Arg Ala Ile Cys Asn Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Phe Glu Ala		
[2101]	850	855	860
[2102]	Ala Leu Gln		
[2103]	865		
[2104]	<210> 32		
[2105]	<211> 716		
[2106]	<212> PRT		
[2107]	<213> 人工序列		
[2108]	<220>		
[2109]	<223> C1D7 序列		
[2110]	<400> 32		
[2111]	Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp		
[2112]	1 5 10 15		
[2113]	Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val Met Gly Asn		
[2114]	20 25 30		
[2115]	Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys		
[2116]	35 40 45		
[2117]	Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val		
[2118]	50 55 60		
[2119]	His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro		
[2120]	65 70 75 80		
[2121]	Gln Glu Met Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys		
[2122]	85 90 95		
[2123]	Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg Leu Trp Asp		
[2124]	100 105 110		
[2125]	Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu		
[2126]	115 120 125		
[2127]	Glu Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Ile		
[2128]	130 135 140		
[2129]	Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala		
[2130]	145 150 155 160		
[2131]	Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr		
[2132]	165 170 175		
[2133]	Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser		
[2134]	180 185 190		
[2135]	Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser		
[2136]	195 200 205		
[2137]	Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile		
[2138]	210 215 220		
[2139]	His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys		
[2140]	225 230 235 240		

[2141]	Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys		
[2142]		245	250 255
[2143]	Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly		
[2144]		260	265 270
[2145]	Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn		
[2146]		275	280 285
[2147]	Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr		
[2148]		290	295 300
[2149]	Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro		
[2150]	305	310	315 320
[2151]	Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln		
[2152]		325	330 335
[2153]	Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly		
[2154]		340	345 350
[2155]	Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Asn Phe		
[2156]		355	360 365
[2157]	Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn		
[2158]		370	375 380
[2159]	Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly		
[2160]	385	390	395 400
[2161]	Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr		
[2162]		405	410 415
[2163]	Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly		
[2164]		420	425 430
[2165]	Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser		
[2166]		435	440 445
[2167]	Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly		
[2168]		450	455 460
[2169]	Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg		
[2170]	465	470	475 480
[2171]	Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys		
[2172]		485	490 495
[2173]	Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg		
[2174]		500	505 510
[2175]	Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly		
[2176]		515	520 525
[2177]	Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln		
[2178]		530	535 540
[2179]	Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu		
[2180]	545	550	555 560
[2181]	Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly		
[2182]		565	570 575

[2183]	Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln	
[2184]	580	585 590
[2185]	Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys	
[2186]	595	600 605
[2187]	Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr	
[2188]	610	615 620
[2189]	Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly	
[2190]	625	630 635 640
[2191]	Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln	
[2192]	645	650 655
[2193]	Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn	
[2194]	660	665 670
[2195]	Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile	
[2196]	675	680 685
[2197]	Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala	
[2198]	690	695 700
[2199]	Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr	
[2200]	705	710 715
[2201]	<210> 33	
[2202]	<211> 2127	
[2203]	<212> DNA	
[2204]	<213> 人工序列	
[2205]	<220>	
[2206]	<223> 编码 sC1的核苷酸序列	
[2207]	<400> 33	
[2208]	atgagagtgc ggggcattca gagaaactgg cccagtggt ggatctgggg catcctgggc	60
[2209]	ttttgatga tcattatctg ccgcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
[2210]	gtgcccgtgt ggaaagaggc caagaccacc ctgtttctgcg ccagcgacgc caaggcctac	180
[2211]	gagaaagagg tgcacaacgt ctggggccacc cacgcctgtg tgcccaccga cccaatccc	240
[2212]	caggaaatgg tcttgaaaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatgggtg	300
[2213]	gaccagatgc acgaggacat catccggctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgcgtgaag	360
[2214]	ctgacccctc tgtgcgtgac cctggaatgc cggaacgtgc gcaacgtgtc cagcaacggc	420
[2215]	acctacaata tcatccacaa cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct	480
[2216]	accaccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttttaccg gctggacatc	540
[2217]	gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtcctccg agaacagctc cgagtactac	600
[2218]	agactgatca actgcaacac cagcgccatc acccaggcct gcccgaaggt gtccttcgac	660
[2219]	cctatcccca tccactactg cgccctgcc ggctacgcca tctgaagtg caacaacaag	720
[2220]	accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc	780
[2221]	aagcccgtgg tgtctacca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatc	840
[2222]	atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aagacaatca tcgtccacct gaacgaaacc	900
[2223]	gtgaacatca cctgtaccgc gcctaacaac aacaccgga agtccatccg gatcggcct	960
[2224]	ggccagacct tttagccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccaactgcaat	1020

[2225]	ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcgtca agaagaagct ggccgaacac	1080
[2226]	ttccccaaca aaaccatcaa cttcaccagc tcctctggcg gcgacctgga aatcaccacc	1140
[2227]	cacagcttta actgcagagg cgagttcttc tactgcaata cctccggcct gttcaatgga	1200
[2228]	acctacatgc ccaacgggac caacagcaac tccagcagca atatcacctt gccttgccgg	1260
[2229]	atcaagcaga ttatcaatat gtggcaggaa gtgggcagag ctatgtacgc ccctccaatc	1320
[2230]	gccggcaaca tcacatgcag aagcaacatt accggcctgc tgctcaccag ggacggcggc	1380
[2231]	tctaacaatg gcgtgccaaa cgacaccgag acattcagac ccggcggagg cgacatgcgg	1440
[2232]	aacaattggc ggagcgagct gtacaagtac aaggtggtgg aagtgaagcc cctgggcgtg	1500
[2233]	gccctaccg aagccaagag aagagtggc gaacgcgagg aacgggccgt gggcattgga	1560
[2234]	gccgtgtttc tgggaatcct gggagccgt ggcagacca tgggcgctgc ctctatcaca	1620
[2235]	ctgacagtgc aggccagaca gctcctgagc ggcacgtgc agcagcagag caacctgctg	1680
[2236]	agagccatcg aggacagca gcacatgctg cagctgaccg tgtggggcat taagcagctc	1740
[2237]	cagacacggg tgctggccat tgagagatac ctgcaggatc agcagctgct cggcctgtgg	1800
[2238]	ggctgtagcg gcaagctgat ctgtaccacc gccgtgcctt ggaacacctc ctggtccaac	1860
[2239]	aagagccaga ccgacatctg ggacaacatg acctggatgc agtgggacaa agaaatcggc	1920
[2240]	aactataccg gcgagatcta ccgactctg gaagagtccc agaaccagca ggaaaagatg	1980
[2241]	aagcagatcg aggacaagat cgaagagatt ctgagcaaaa tctaccacat cgagaacgag	2040
[2242]	atgcccgcga tcaagaaact gatcgcgcaa gtgggatccg gcgctccac aaaggccaaa	2100
[2243]	agacgggtgg tgcagcgcga gaaacgc	2127
[2244]	<210>	34
[2245]	<211>	2601
[2246]	<212>	DNA
[2247]	<213>	人工序列
[2248]	<220>	
[2249]	<223>	编码 C1的核苷酸序列
[2250]	<400>	34
[2251]	atgagagtgc ggggcattca gagaaactgg cccagtggt ggatctgggg catcctgggc	60
[2252]	ttttgatga tcattatctg ccgctgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
[2253]	gtgcccgtgt ggaaagagc caagaccacc ctgttctgc ccagcgacgc caaggcctac	180
[2254]	gagaaagagg tgcacaacgt ctgggccacc cagcctgtg tgcccaccga ccccaatccc	240
[2255]	caggaaatgg tcctggaaaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatgggtg	300
[2256]	gaccagatgc acgaggacat catccggctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgcgtgaag	360
[2257]	ctgaccctc tgtgctgac cctggaatgc cggaacgtgc gcaacgtgc cagcaacggc	420
[2258]	acctacaata tcattccaca cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgt	480
[2259]	accaccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgcc tgttttaccg gctggacatc	540
[2260]	gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtcctccg agaacagctc cgagtactac	600
[2261]	agactgatca actgcaacac cagcgccatc accaggcct gcccgaaggt gtccttcgac	660
[2262]	cctatcccca tccactactg cgccctgcc ggctacgcca tcctgaagtg caacaacaag	720
[2263]	acctcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc	780
[2264]	aagcccgtgg tgtctacca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatc	840
[2265]	atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aagacaatca tcgtccacct gaacgaaacc	900
[2266]	gtgaacatca cctgtaccg gcctaacaac aacaccgga agtccatccg gatcgccct	960

[2267]	ggccagacct tttacgccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccaactgcaat	1020
[2268]	ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcgctca agaagaagct ggccgaacac	1080
[2269]	ttccccaaca aaaccatcaa cttcaccagc tectctggcg ggcacctgga aatcaccacc	1140
[2270]	cacagcttta actgcagagg cgagttcttc tactgcaata cctccggcct gttcaatgga	1200
[2271]	acctacatgc ccaacgggac caacagcaac tccagcagca atatcacctc gccttgccgg	1260
[2272]	atcaagcaga ttatcaatat gtggcaggaa gtgggcagag ctatgtacgc ccctccaatc	1320
[2273]	gccggcaaca tcacatgcag aagcaacatt accggcctgc tgctcaccag ggacggcggc	1380
[2274]	tctaacaatg gcgtgccaaa cgacaccgag acattcagac ccggcggagg cgacatgcgg	1440
[2275]	aacaattggc ggagcgagct gtacaagtac aaggtggtgg aagtgaagcc cctgggcgtg	1500
[2276]	gcccctaccg aagccaagag aagagtggtc gaacgcgaga agcgggccgt gggcattgga	1560
[2277]	gccgtgtttc tgggaatcct gggagccgct ggcagacca tgggcgctgc ctctatcaca	1620
[2278]	ctgacagtgc aggccagaca gctcctgagc ggcatcgtgc agcagcagag caacctgctg	1680
[2279]	agagccatcg aggcacagca gcacatgtg cagctgaccg tgtggggcat taagcagctc	1740
[2280]	cagacacggg tgctggccat tgagagatac ctgcaggatc agcagctgct cggcctgtgg	1800
[2281]	ggctgtagcg gcaagctgat ctgtaccacc gccgtgcctt ggaacacctc ctggtccaac	1860
[2282]	aagagccaga ccgacatctg ggacaacatg acctggatgc agtgggacaa agaaatcggc	1920
[2283]	aactataccg gcgagatcta ccgactgtg gaagagtccc agaaccagca ggaaaagaac	1980
[2284]	gagaaggacc tgctggccct ggacagctgg aaaaatctgt ggaattgggt cgacatcacc	2040
[2285]	aactggctgt ggtacatcaa gatcttcac atgatcgtgg gcggcctgat cggcctgcgg	2100
[2286]	atcatctttg ccgtgctgag catcgtgaac cgcgtgcggc agggatacag ccctctgagc	2160
[2287]	ctgcagaccc tgaccagaa tccaggcgga ctggatcggc tgggccggat tgaggaagaa	2220
[2288]	ggcggcgagc aggacaagga ccgcagcatc agactcgtga acggcttctt cgctctgttt	2280
[2289]	tgggacgacc tgccggagcct gtgcctgttc tcctaccaca gactgcggga ctttatcctg	2340
[2290]	attgtggcca gagccgtcga gctgctgggc agatcttctc tgagaggcct gcagcggggc	2400
[2291]	tgggagattc tgaagtacct gggctccctg ctgcagtatt ggggcctgga actgaagaag	2460
[2292]	tccgccatca atctgctcga cacaatcgt attgccgtgg ccgaaggcac cgacagaatc	2520
[2293]	atcgagctga tccagcggat ctgccgggcc atctgcaaca tcccagacg gatcagacag	2580
[2294]	ggctttgaag ccgccctcca g	2601
[2295]	<210>	35
[2296]	<211>	2148
[2297]	<212>	DNA
[2298]	<213>	人工序列
[2299]	<220>	
[2300]	<223>	编码C1D7的核苷酸序列
[2301]	<400>	35
[2302]	atgagagtgc ggggcattca gagaaactgg cccagtggt ggatctgggg catcctgggc	60
[2303]	ttttgatga tcattatctg ccgcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
[2304]	gtccccgtgt ggaaagagc caagaccacc ctgttctgcg ccagcgacgc caaggcctac	180
[2305]	gagaaagagg tgcacaacgt ctgggccacc cagcctgtg tgccaccga cccaatccc	240
[2306]	caggaaatgg tcctggaaaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatgggtg	300
[2307]	gaccagatgc acgaggacat catccggctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgcgtgaag	360
[2308]	ctgacccctc tgtcgtgac cctggaatgc cggaacgtgc gcaacgtgtc cagcaacggc	420

[2309]	acctacaata tcattccacaa cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct	480
[2310]	accaccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttttaccg gctggacatc	540
[2311]	gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtctctccg agaacagctc cgagtactac	600
[2312]	agactgatca actgcaacac cagcgccatc acccaggcct gcccgaaggt gtccttcgac	660
[2313]	cctatcccca tccactactg cgccccctgc ggctacgcca tcctgaagtg caacaacaag	720
[2314]	accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc	780
[2315]	aagcccgtgg tgtctacca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatc	840
[2316]	atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aagacaatca tcgtccacct gaacgaaacc	900
[2317]	gtgaacatca cctgtaccgg gcctaacaac aacaccggga agtccatccg gatcggcct	960
[2318]	ggccagacct tttagccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccaactgcaat	1020
[2319]	ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcgctc agaagaagct ggccgaacac	1080
[2320]	ttccccaaca aaaccatcaa cttaccagc tctctggcg gcgacctgga aatcaccacc	1140
[2321]	cacagcttta actgcagagg cgagttcttc tactgcaata cctccggcct gttcaatgga	1200
[2322]	acctacatgc ccaacgggac caacagcaac tccagcagca atatcacct gccttgccgg	1260
[2323]	atcaagcaga ttatcaatat gtggcaggaa gtgggcagag ctatgtacgc ccctccaatc	1320
[2324]	gccggcaaca tcacatgcag aagcaacatt accggcctgc tgcctaccag ggacggcggc	1380
[2325]	tctaacaatg gcgtgcaaaa cgacaccgag acattcagac ccggcggagg cgacatgcgg	1440
[2326]	aacaattggc ggagcgagct gtacaagtac aaggtggtgg aagtgaagcc cctgggcgtg	1500
[2327]	gcccctaccg aagccaagag aagagtggtc gaacgcgaga agcgggccgt gggcattgga	1560
[2328]	gccgtgtttc tgggaatcct gggagccgct ggcagacca tgggcgtgc ctctatcaca	1620
[2329]	ctgacagtgc aggccagaca gctcctgagc ggcacgtgc agcagcagag caacctgctg	1680
[2330]	agagccatcg aggcacagca gcacatgctg cagctgaccg tgtggggcat taagcagctc	1740
[2331]	cagacacggg tgctggccat tgagagatac ctgcaggatc agcagctgct cggcctgtgg	1800
[2332]	ggctgtagcg gcaagctgat ctgtaccacc gccgtgcctt ggaacacctc ctggtccaac	1860
[2333]	aagagccaga ccgacatctg ggacaacatg acctggatgc agtgggacaa agaaatcggc	1920
[2334]	aactataccg gcgagatcta ccgactgctg gaagagtccc agaaccagca ggaaaagaac	1980
[2335]	gagaaggacc tgctggccct ggacagctgg aaaaatctgt ggaattggtt cgacatcacc	2040
[2336]	aactggctgt ggtacatcaa gatcttcatc atgatcgtgg gcggcctgat cggcctgcgg	2100
[2337]	atcatctttg ccgtgctgag catcgtgaac cgcgtgcggc agggctac	2148
[2338]	<210>	36
[2339]	<211>	724
[2340]	<212>	PRT
[2341]	<213>	人工序列
[2342]	<220>	
[2343]	<223>	嵌合Env 三聚体序列
[2344]	<400>	36
[2345]	Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Cys Gln His Leu Trp Arg Trp	
[2346]	1 5 10 15	
[2347]	Gly Thr Leu Ile Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Gly Lys	
[2348]	20 25 30	
[2349]	Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Thr	
[2350]	35 40 45	

[2351]	Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu Val		
[2352]	50	55	60
[2353]	His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro		
[2354]	65	70	75
[2355]	Gln Glu Val Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys		
[2356]	85	90	95
[2357]	Asn Asn Met Val Glu Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp		
[2358]	100	105	110
[2359]	Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu		
[2360]	115	120	125
[2361]	Asn Cys Thr Asp Asp Val Arg Asn Val Thr Asn Asn Ala Thr Asn Thr		
[2362]	130	135	140
[2363]	Asn Ser Ser Trp Gly Glu Pro Met Glu Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys		
[2364]	145	150	155
[2365]	Ser Phe Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asn Lys Val Gln Lys Gln Tyr		
[2366]	165	170	175
[2367]	Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asn Asp Ser Asn		
[2368]	180	185	190
[2369]	Asn Thr Asn Tyr Arg Leu Ile Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln		
[2370]	195	200	205
[2371]	Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala		
[2372]	210	215	220
[2373]	Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asp Lys Lys Phe Asn Gly		
[2374]	225	230	235
[2375]	Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile		
[2376]	245	250	255
[2377]	Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu		
[2378]	260	265	270
[2379]	Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Glu Asn Phe Thr Asn Asn Ala Lys Thr		
[2380]	275	280	285
[2381]	Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro		
[2382]	290	295	300
[2383]	Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe		
[2384]	305	310	315
[2385]	Tyr Thr Ala Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn		
[2386]	325	330	335
[2387]	Ile Ser Arg Ala Asn Trp Asn Asn Thr Leu Arg Gln Ile Val Glu Lys		
[2388]	340	345	350
[2389]	Leu Gly Lys Gln Phe Gly Asn Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn His Ser		
[2390]	355	360	365
[2391]	Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Gly Gly		
[2392]	370	375	380

[2393]	Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Ser Thr Lys Leu Phe Asn Ser Thr Trp Thr		
[2394]	385	390	395 400
[2395]	Trp Asn Asn Ser Thr Trp Asn Asn Thr Lys Arg Ser Asn Asp Thr Glu		
[2396]		405 410	415
[2397]	Glu His Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp		
[2398]		420 425	430
[2399]	Gln Glu Val Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Arg Gly Gln Ile		
[2400]		435 440	445
[2401]	Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly		
[2402]	450	455	460
[2403]	Asn Asp Thr Ser Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met		
[2404]	465	470 475	480
[2405]	Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile		
[2406]		485 490	495
[2407]	Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Lys Ala Lys Glu Arg Val Val Gln		
[2408]		500 505	510
[2409]	Arg Glu Glu Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu		
[2410]		515 520	525
[2411]	Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val		
[2412]	530	535	540
[2413]	Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu		
[2414]	545	550 555	560
[2415]	Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp		
[2416]		565 570	575
[2417]	Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu		
[2418]		580 585	590
[2419]	Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile		
[2420]		595 600	605
[2421]	Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu		
[2422]	610	615	620
[2423]	Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile		
[2424]	625	630 635	640
[2425]	Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn		
[2426]		645 650	655
[2427]	Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala		
[2428]		660 665	670
[2429]	Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys		
[2430]		675 680	685
[2431]	Ser Arg Ile Glu Gly Arg Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro		
[2432]	690	695	700
[2433]	Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu		
[2434]	705	710 715	720

[2435] Ser Thr Phe Leu
[2436] <210> 37
[2437] <211> 28
[2438] <212> PRT
[2439] <213> 人工序列
[2440] <220>
[2441] <223> SEQ ID NO:18的残基655-682
[2442] <400> 37
[2443] Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Asn Asn Leu Trp Asn
[2444] 1 5 10 15
[2445] Trp Phe Ser Ile Ser Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys
[2446] 20 25

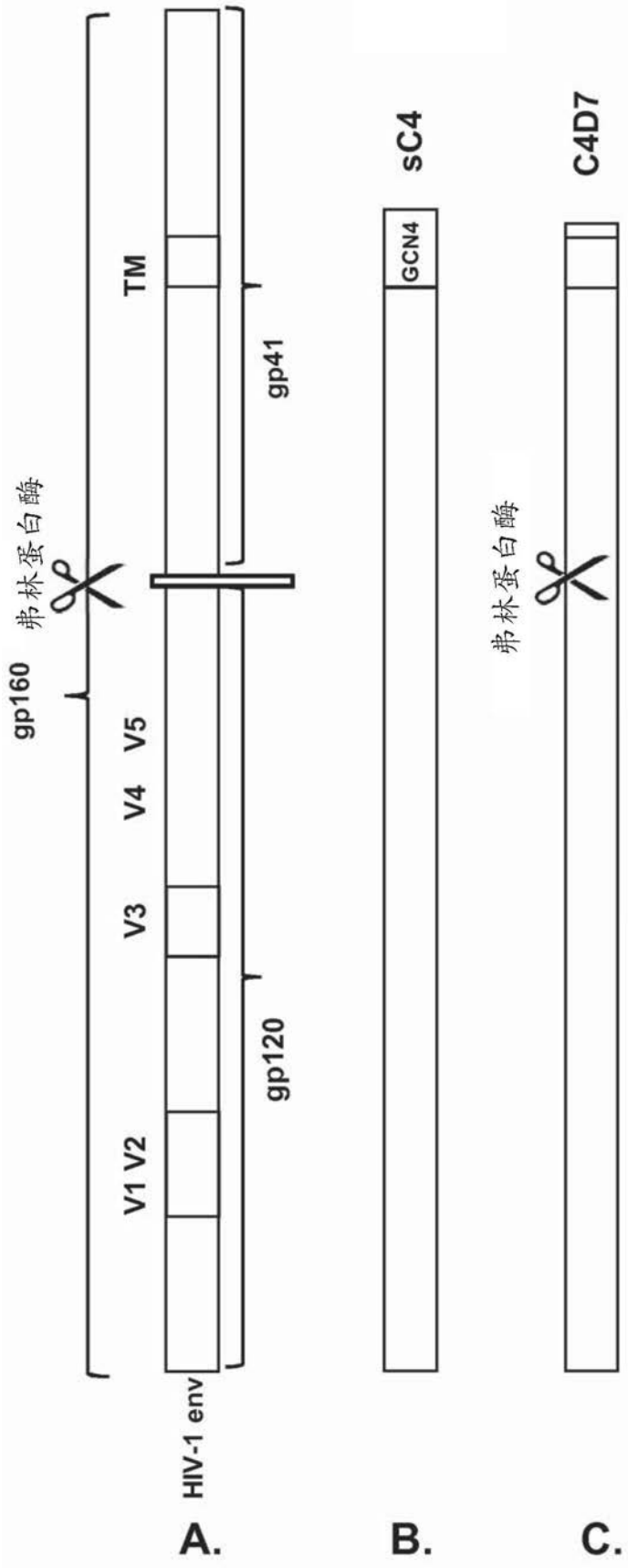


图1

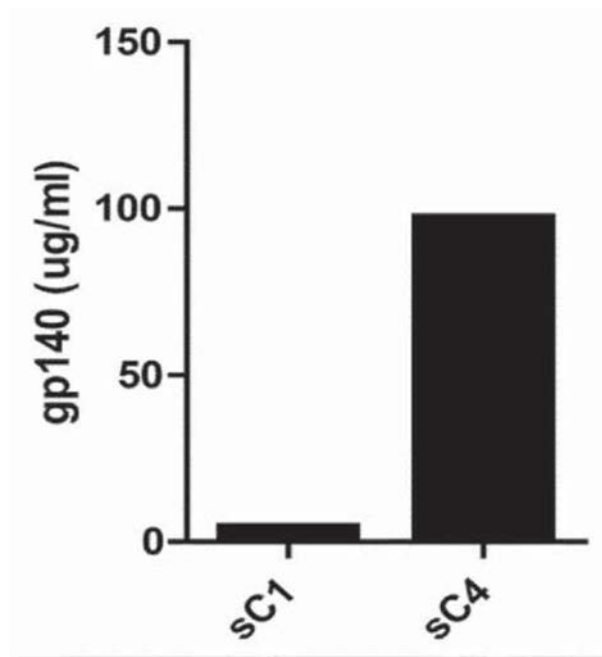


图2

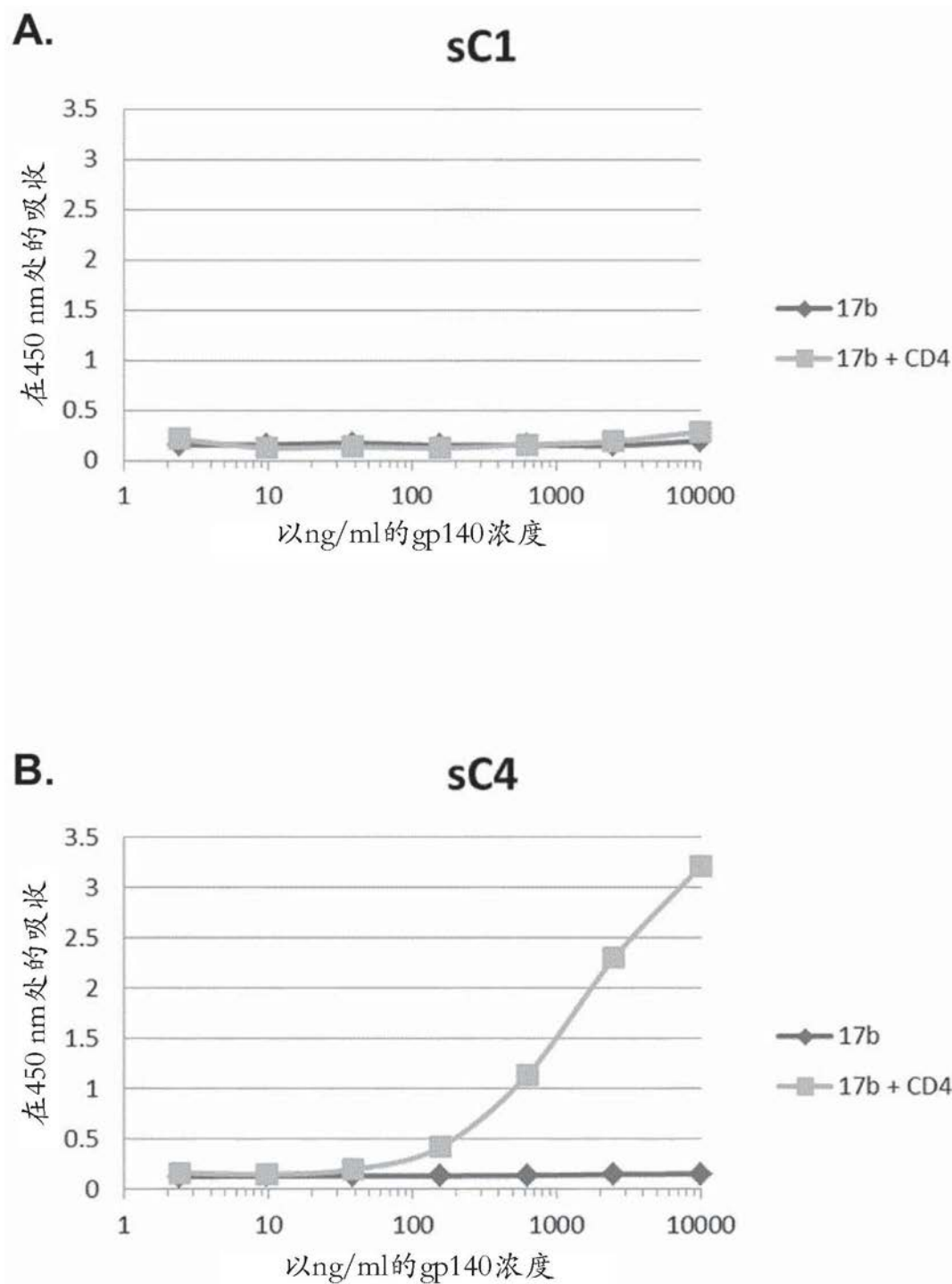


图3

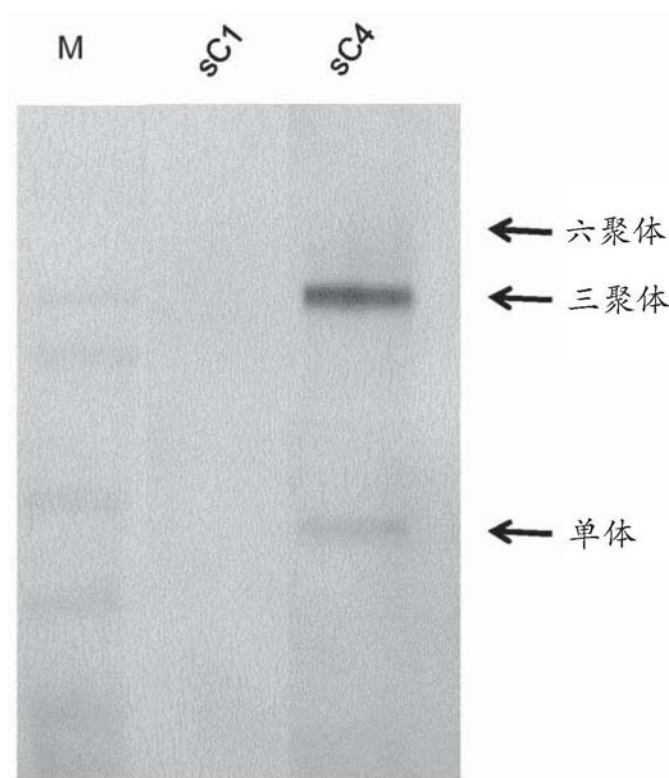


图4

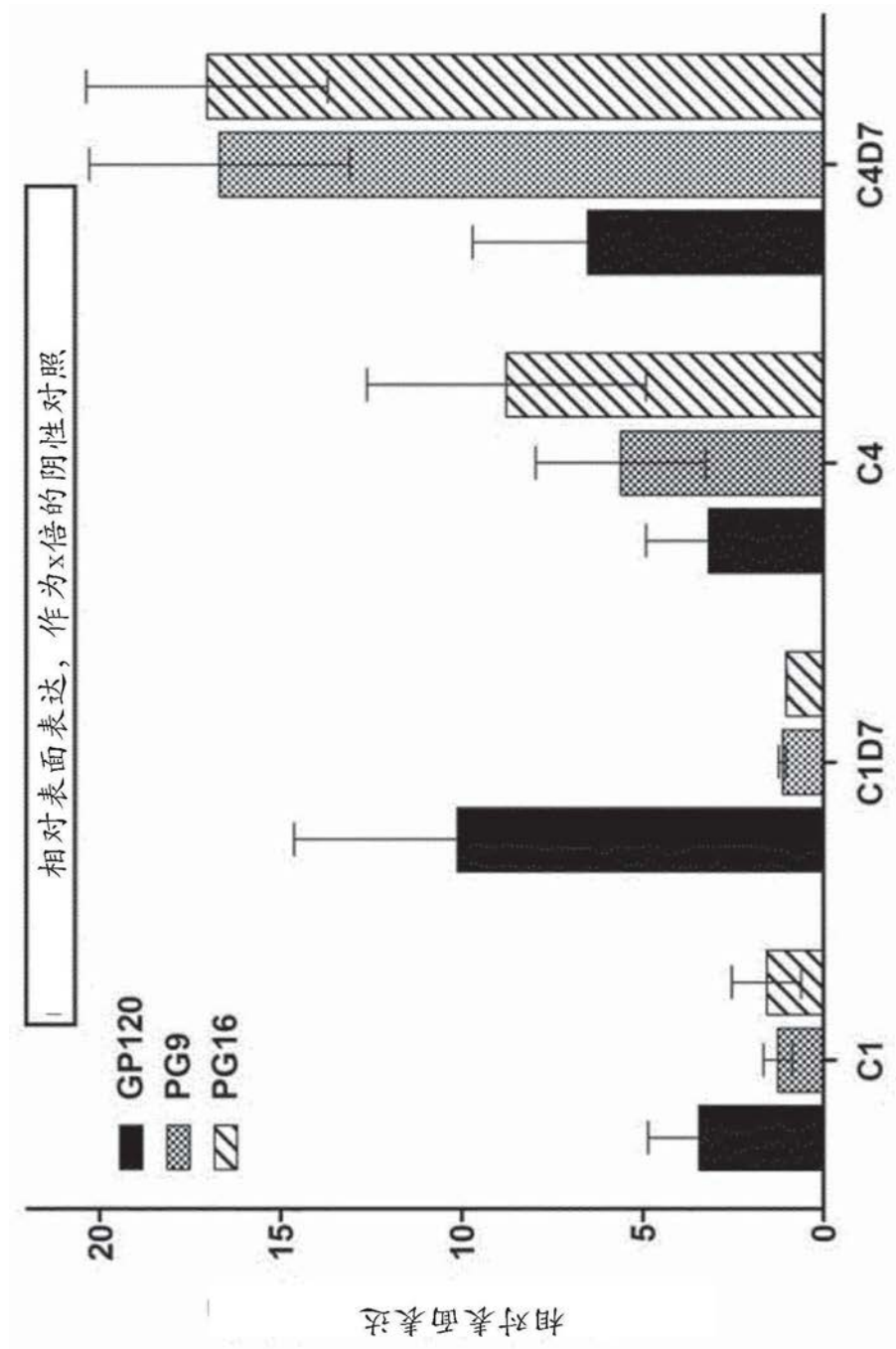


图5

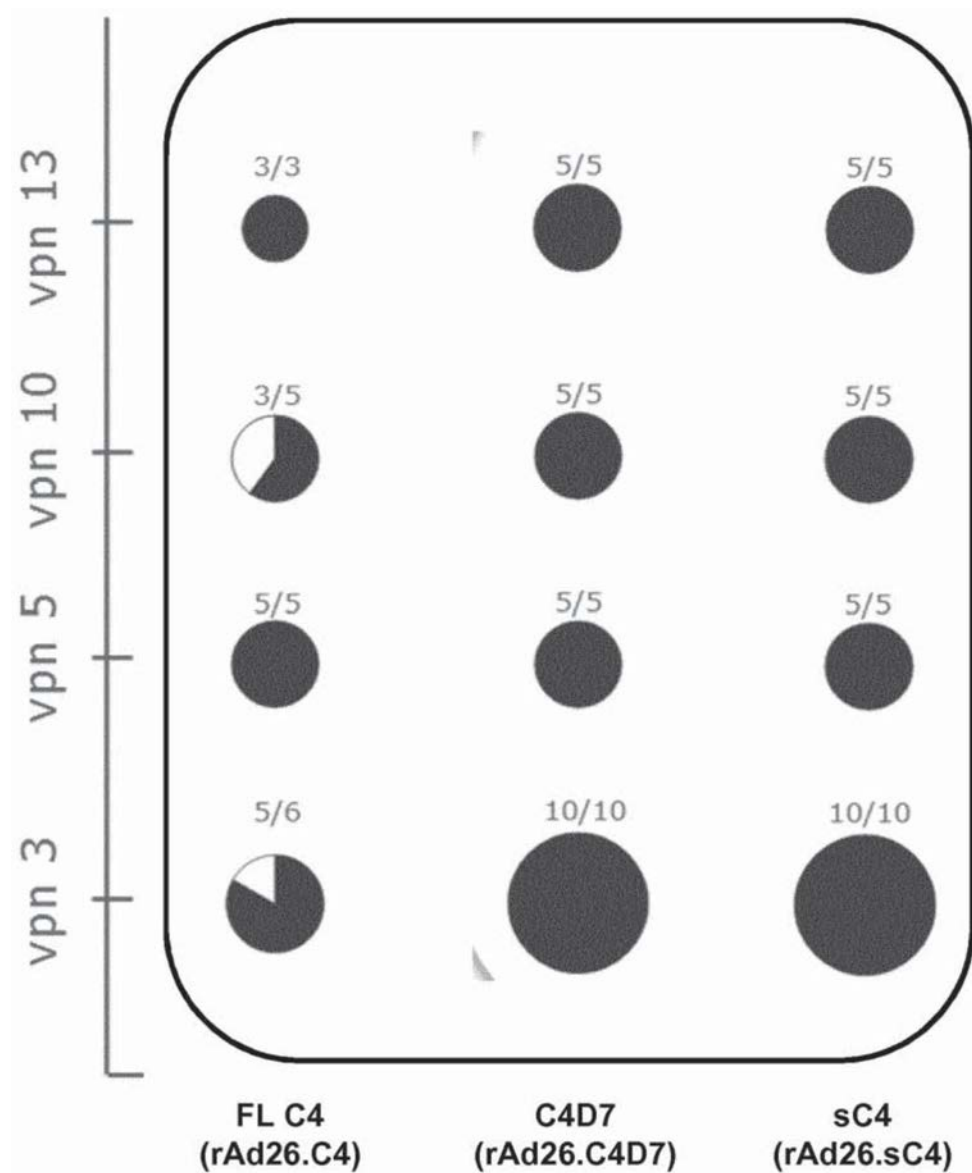


图6

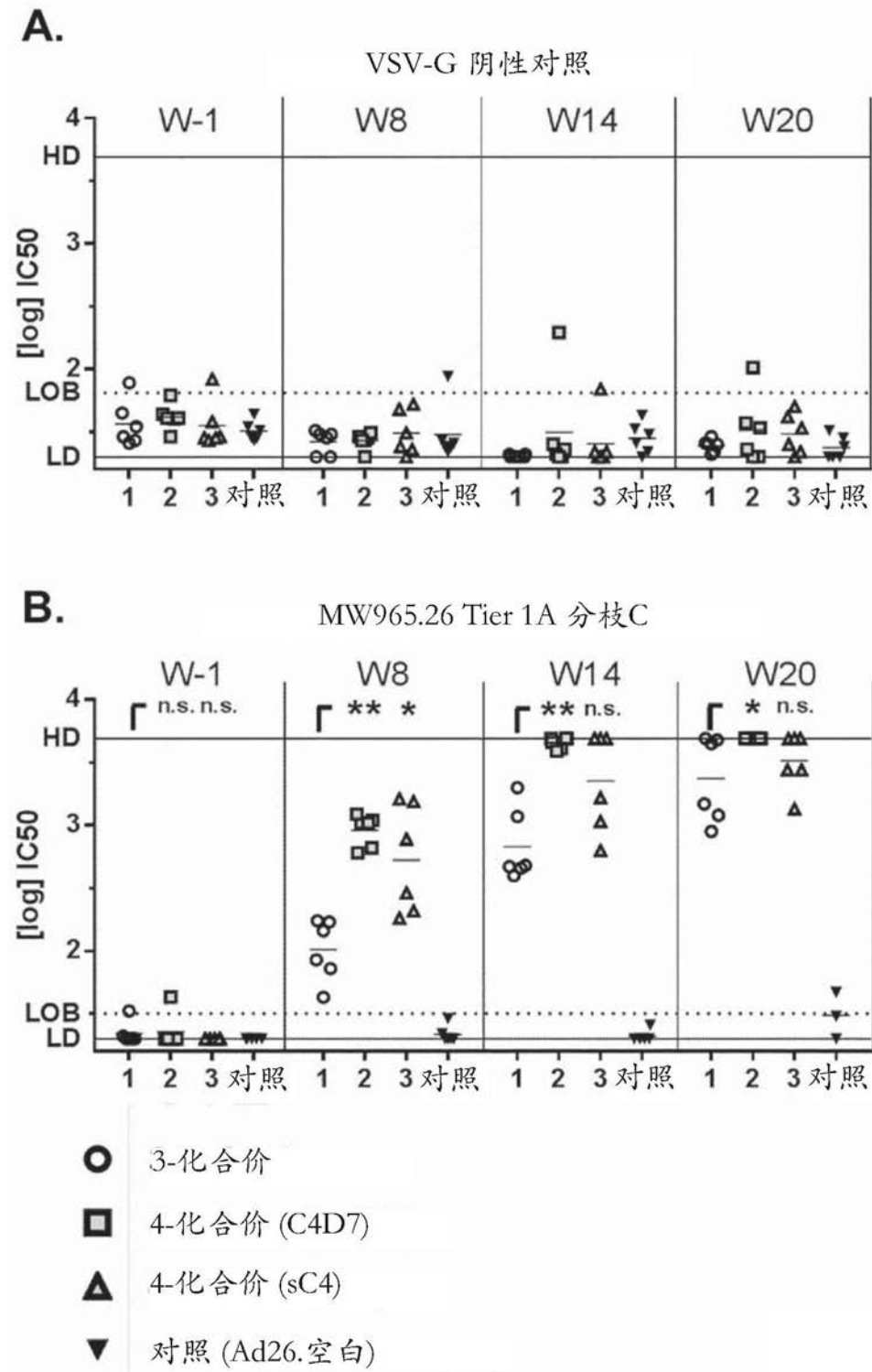


图7