



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103237807 B

(45)授权公告日 2016.10.26

(21)申请号 201180047913.3

约翰·兰登

(22)申请日 2011.10.05

(74)专利代理机构 北京骥驰知识产权代理有限公司 11422

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103237807 A

代理人 唐晓峰

(43)申请公布日 2013.08.07

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

1016742.7 2010.10.05 GB

C07K 14/33(2006.01)

C07K 16/12(2006.01)

A61K 39/08(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2013.04.02

(56)对比文件

WO 96/12802 A1,1996.05.02,

WO 96/12802 A1,1996.05.02,

WO 2010/017383 A1,2010.02.11,

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2011/051910 2011.10.05

Iouri F. Belyi, et al..Construction of a fusion protein carrying antigenic determinants of enteric clostridial toxins.《FEMS Microbiology Letters》.2003,第225卷第325-329页. (续)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/046061 EN 2012.04.12

(73)专利权人 英国卫生部

地址 英国伦敦白厅79,里士满楼

专利权人 麦克罗弗姆有限公司

审查员 李子东

(72)发明人 克利福德·肖恩

埃普尔尔·罗伯茨 海伦·埃亨

迈克尔·梅纳德-史密斯

权利要求书2页 说明书71页 附图3页

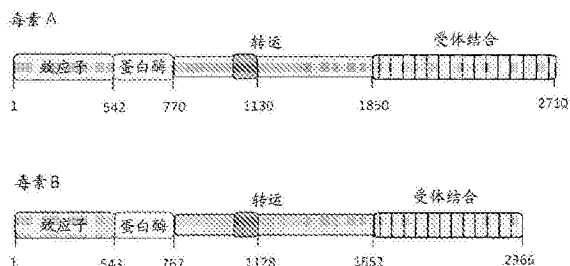
(54)发明名称

艰难梭菌抗原

(57)摘要

本发明涉及基于融合蛋白的重组艰难梭菌(Clostridium difficile)抗原,所述融合蛋白由第一氨基酸序列和第二氨基酸序列组成或包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,其中:a)所述第一氨基酸序列由与由艰难梭菌毒素A序列的残基500-1850或艰难梭菌毒素B序列的残基1500-1851组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;和b)所述第二氨基酸序列由与由位于艰难梭菌毒素A序列的氨基酸残基1851-2710或艰难梭菌毒素B序列的氨基酸残基1852-2366中的长重复单元组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;而前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素A

的氨基酸残基543-2710的多肽,且前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素B的氨基酸残基543-2366的多肽。还提供了所述抗原用于预防/治疗/抑制艰难梭菌感染(CDI)的应用,以及用于产生所述抗原的方法,用于产生结合所述抗原的抗体的方法,和所述抗体用于预防/治疗/抑制CDI的应用。



[转续页]

[接上页]

(56)对比文件

Iouri F. Belyi, et al..Construction of a fusion protein carrying antigenic determinants of enteric clostridial toxins.《FEMS Microbiology Letters》.2003,

第225卷第325-329页.

N.J.ASHA, et al..Laboratory diagnosis of Clostridium perfringens antibiotic-associated diarrhoea.《J.Med.Microbiol.》.2002,第51卷第891-894页.

1. 一种蛋白,所述蛋白包含抗原多肽序列,所述抗原多肽序列由以下组成:
 - a)由艰难梭菌(*C.difficile*)毒素B序列的残基767-2366组成的氨基酸序列;
 - b)由艰难梭菌毒素A序列的残基770-2710组成的氨基酸序列;
 - c)由艰难梭菌毒素B序列的残基1145-2366组成的氨基酸序列;或
 - d)由艰难梭菌毒素A序列的残基770-2389组成的氨基酸序列;前提是,所述蛋白不是包含艰难梭菌毒素A的氨基酸残基543-2710的多肽;
前提是,所述蛋白不是包含艰难梭菌毒素B的氨基酸残基543-2366的多肽;且
其中半胱氨酸蛋白酶结构域的部分或全部的氨基酸序列不存在;
并且其中所述抗原多肽序列能够引起保护性免疫应答。
2. 根据权利要求1所述的蛋白,在产生结合艰难梭菌毒素A和/或艰难梭菌毒素B的抗体的方法中用作抗原。
3. 根据权利要求2所述的蛋白,其中所述抗体包括完整IgG、Fab抗体或F(ab')₂抗体。
4. 一种用于分离结合艰难梭菌毒素A和/或艰难梭菌毒素B的抗体的体外方法,所述方法包括:
 - a)在表面上固定一种或多种根据权利要求1的艰难梭菌蛋白;
 - b)将固定的蛋白与包含结合艰难梭菌毒素A和/或毒素B的抗体的溶液接触;
 - c)允许所述抗体结合所述蛋白,从而形成抗体与蛋白的结合复合体;
 - d)洗去任何未结合的抗体或蛋白;和
 - e)从所述表面洗脱所结合的抗体,从而提供亲和纯化的抗体。
5. 根据权利要求4所述的体外方法,其中所述在表面上固定一种或多种根据权利要求1的艰难梭菌蛋白为在柱中的介质上固定一种或多种根据权利要求1的艰难梭菌蛋白。
6. 一种结合并中和艰难梭菌毒素A和/或艰难梭菌毒素B的抗体,其中所述抗体是通过权利要求2-3任一项中限定的方法或根据权利要求4-5任一项所述的方法可获得的,且其中所述抗体不结合艰难梭菌毒素A或毒素B的效应结构域和/或半胱氨酸蛋白酶结构域。
7. 根据权利要求6所述的抗体,其中所述抗体包括完整IgG、Fab抗体或F(ab')₂抗体。
8. 根据权利要求6或7所述的抗体,其中所述抗体结合由艰难梭菌毒素A的残基1500-1850和/或艰难梭菌毒素B残基1500-1851展示的表位。
9. 根据权利要求1所述的蛋白和/或根据权利要求6-8任一项所述的抗体在制备用于预防、治疗或抑制CDI的药物中的用途。
10. 根据权利要求1所述的蛋白和/或根据权利要求6-8任一项所述的抗体在制备用于在人类中预防、治疗或抑制CDI的药物中的用途。
11. 治疗有效量的根据权利要求1所述的蛋白和/或根据权利要求6-8任一项所述的抗体在制备用于在人类中预防、治疗或抑制CDI的药物中的用途,所述药物当使用时被施用于人类。
12. 治疗有效量的根据权利要求1所述的蛋白在制备用于在人类中预防、治疗或抑制CDI的药物中的用途,所述药物当使用时被施用于人类并且作为与以下一起的联合疗法的部分施用:选自艰难梭菌非毒素抗原、灭活的或减毒的全细胞艰难梭菌细菌、和艰难梭菌细胞提取物的一种或多种另外的抗原;和
 - a. 任选地选自1)来自导致医院感染的细菌的抗原、和2)导致医院感染的灭活的或减毒

的全细胞细菌的一种或多种抗原;和

b. 任选地一种或多种抗生素。

13. 根据权利要求12所述的用途, 其中所述抗生素为对导致医院感染的细菌有效的抗生素。

14. 治疗有效量的根据权利要求6-8任一项所述的抗体在制备用于在人类中预防、治疗或抑制CDI的药物中的用途, 所述药物当使用时被施用于人类并且作为与以下一起的联合疗法的部分施用: 选自结合艰难梭菌非毒素抗原的抗体、和结合全细胞艰难梭菌细菌的抗体的一种或多种另外的抗体; 和

a. 任选地选自1) 结合来自导致医院感染的细菌的抗原的抗体、和2) 结合导致医院感染的全细胞细菌的抗体的一种或多种抗体; 和

b. 任选地一种或多种抗生素。

15. 根据权利要求14所述的用途, 其中所述抗生素为对导致医院感染的细菌有效的抗生素。

16. 根据权利要求6-8任一项所述的抗体在制备用于证实患者样品中存在或不存在艰难梭菌感染的试剂盒中的用途, 其中艰难梭菌感染的存在通过检测所述抗体与所述样品中存在的艰难梭菌毒素A和/或毒素B的结合来证实, 且其中未能检测所述抗体与所述样品中存在的艰难梭菌毒素A和/或毒素B的结合证实不存在艰难梭菌感染。

17. 根据权利要求1-3所述的蛋白在制备用于证实患者样品中存在或不存在艰难梭菌感染的试剂盒中的用途, 其中艰难梭菌感染的存在通过检测所述蛋白与所述样品中存在的抗体的结合来证实, 且其中未能检测所述蛋白与所述样品中存在的抗体的结合证实不存在艰难梭菌感染。

艰难梭菌抗原

[0001] 本发明涉及用于预防/治疗/抑制艰难梭菌(*Clostridium difficile*)感染(CDI)的抗原。还提供了用于产生所述抗原的方法,用于产生结合所述抗原的抗体的方法,和所述抗体用于预防/治疗/抑制CDI的应用。

[0002] 艰难梭菌感染(CDI)目前是世界范围内医院的主要问题。该细菌引起医院的抗生素相关疾病,这种疾病自身表现为从轻度自身限制性腹泻至可能威胁生命的严重结肠炎的几种形式。中老年患者大部分具有这些可能威胁生命的疾病的风险并且CDI的发病率在过去10年内急剧增加。在2010年,英国有21,000多例CDI,其中2,700多例伴随着死亡。CDI每年度花费英国国民卫生服务(NHS)超过5亿英镑。

[0003] 各种艰难梭菌菌株可以通过大量方法来分类。最常用的方法之一是聚合酶链式反应(PCR)核糖核酸分型(ribotyping),其中使用PCR来扩增艰难梭菌的16S-23S rRNA基因的基因间间隔区。来自这种方法的反应产物提供了鉴定分离株细菌核糖核酸型的特征带型。毒素分型(toxinotyping)是另一分型方法,其中使用源自编码艰难梭菌毒素的DNA的限制模式来鉴定菌株的毒素型。在不同菌株的毒素基因之间观察到的限制模式的差异还表示艰难梭菌毒素家族内的序列变异。例如,毒素型0毒素B的C末端60kDa区域与毒素型III毒素B的相同区域相比具有大约13%的序列差异。

[0004] 艰难梭菌菌株产生多种毒力因子,其中值得注意的是几种蛋白毒素:毒素A、毒素B以及在某些菌株中的二元毒素,该二元毒素与产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*) ι 毒素类似。毒素A是大的蛋白细胞毒素/肠毒素,它在感染的病理中起作用并且可能影响肠定殖过程。已经报道了毒素A阴性/毒素B阳性菌株的CDI发作,这表明毒素B也能够疾病病理中起重要作用。

[0005] 编码毒素A和毒素B(分别是Mw308k和Mw269k)的基因序列是已知的-参见例如,Moncrief等人.(1997)*Infect. Immun*63:1105-1108。这两种毒素具有高的序列同源性,被认为是基因复制产生的。毒素还共有共同的结构(参见图1),即N末端葡糖基转移酶结构域、中央疏水区、四个保守半胱氨酸、和长串的C末端重复单元(RU)。

[0006] 毒素A包括39个连续重复单元(RU),其跨毒素A多肽序列的氨基酸残基1851-2710。毒素B包括较少的RU(19与24个之间),其跨毒素B多肽序列的氨基酸残基1852-2366。对于毒素A和B二者,重复单元为两种不同类型:大约15-25个残基的短重复(SR)和大约30个残基的长重复(LR)。LR互相之间以3或4个SR间隔,且LR与侧翼SR一起为毒素的糖类受体提供结合位点。毒素A在其C末端结构域中具有7个LR,认为其提供7个受体结合位点(Greco等人.(2005)*Nature Structural Biol*1.13:460-461)。毒素B具有4个LR,认为其提供4个糖类结合单元。毒素A和毒素B SR/LR簇(还称为受体结合“模块”)的实例的大小从92-141个氨基酸残基变化,通过参考表1和2来示例。

[0007] 毒素A和毒素B二者都是经由包括下列的多步机制来实现它们的作用机制的:结合细胞表面的受体,内化,随后转运(translocation)并释放效应结构域进入细胞胞质溶胶以及最终的胞内作用。所述作用机制牵涉了Rho家族的小GTP酶的灭活。在这一方面,毒素催化葡萄糖部分(来自UDP-葡萄糖)转移至Rho蛋白的氨基残基。毒素A和毒素B还含有半胱氨酸

蛋白酶形式的第二种酶活性,该第二种酶活性似乎在转运后效应结构域释放到胞质溶胶中起重要作用。艰难梭菌二元毒素通过牵涉将ADP-核糖部分由NAD转移至其靶蛋白的机制而修饰细胞肌动蛋白。

[0008] 治疗艰难梭菌感染的目前疗法依赖于抗生素的使用,特别是甲硝唑和万古霉素。然而,这些抗生素不是在所有情况下都有效,并且20-30%的患者会遭受疾病复发。最受关注的是在英国出现了毒力更强的菌株,该菌株在2002年首次在加拿大被鉴定。这些菌株包括属于PCR核糖核酸型027和毒素型III的那些,它们会引起具有比之前观察到的高3倍的直接归因死亡率的CDI。

[0009] 因此现在尤其迫切地需要新的治疗,因为目前的抗生素功效似乎在降低。

[0010] 一种有吸引力的替代方案是使用结合并中和毒素A和毒素B的活性的抗体。这是基于以下知识:不释放这些毒素的艰难梭菌菌株,即所谓的非产毒菌株,不导致CDI。在一种方法中,可用抗原免疫患有CDI的患者或处于发展此类感染的风险中的受治疗者,这导致针对毒素A和毒素B的循环中的和粘膜的抗体增加。这定义为主动免疫。可选地,可免疫动物诸如马或绵羊,收集它们的血清并纯化抗体用于向患者施用-被动免疫。

[0011] 主动免疫和被动免疫二者的关键要求是分别用于免疫患者或动物的适当抗原的可获得性。这些可包括可以从在其中培养了艰难梭菌的适当产毒菌株的培养基纯化的天然毒素。这种方法存在多种缺点。毒素A和毒素B二者在培养基中以仅少量存在,难以纯化而不引起显著的损失。如此,获得满足世界范围的需求所需的量将是昂贵和困难的。此外,天然毒素是不稳定的,而且由于其毒性,在用作免疫原之前必须被转化为其类毒素(灭活的毒素)。

[0012] 上述问题导致存在极少的可获得的艰难梭菌疫苗候选物。迄今,处于晚期开发的唯一CDI疫苗是基于天然(即,天然存在的)毒素A和B的混合物,其已经由化学改性被灭活(Salnikova等人2008,J Pharm Sci97:3735-3752)。

[0013] 使用天然毒素和其类毒素的一种替代方案包括设计、开发和使用衍生自毒素A和B的重组片段。它们的优点有,此类片段能够以更大量和比天然毒素更低成本地表达和纯化。预期用于治疗/预防艰难梭菌感染的现有抗原的实例包括基于毒素A或毒素B的C末端重复单元(RU)的肽-参见例如,W000/61762。然而,此类抗原的问题是,它们的免疫原性差(即,抗原产生差的抗体滴度),或当产生较高的抗体滴度时,抗体表现针对艰难梭菌细胞毒活性的差的中和效力(即,产生不足的中和性抗体)。

[0014] 因此,本领域内存在对能够特别地解决艰难梭菌感染(CDI)的新疫苗/疗法/治疗的需要。这种需要被本发明解决了,本发明解决了上述问题的一个或多个。

[0015] 在一个实施方案中,本发明提供能够引起针对艰难梭菌毒素A和/或B的强力的毒素中和响应的抗原。本发明还提供用于制备重组抗原的方法。在另一个实施方案中,所述抗原用作免疫原,使得能够大规模制备治疗性抗体。在一个进一步的实施方案中,所述抗体能够引起针对艰难梭菌毒素A和/或B的强力的毒素中和响应,从而具有预防和/或治疗应用。

[0016] 如以上提到的(参见W000/61762),此前的研究描述基于毒素A和/或毒素B的C末端重复单元(RU)的疫苗制品。所述RU片段具有差的毒素中和效果,和/或难以大量生产。

[0017] 与之相比,本发明提供基于毒素A和/或毒素B重复单元的艰难梭菌抗原,还包括另外的艰难梭菌毒素结构域,本发明的发明人认为所述另外的艰难梭菌毒素结构域为该抗原

提供重要的‘支架’功能。本发明的所述抗原表现良好的毒素中和免疫应答和/或容易大规模生产。

[0018] 本发明的发明人惊讶地鉴定,“支架”第一氨基酸序列(如以上)的存在提供比仅包含毒素A或毒素B的重复区的对应片段增加10-100倍的保护性(毒素-中和)免疫应答。表3-10清楚地显示与仅包含艰难梭菌毒素的重复结构域的片段相比,本发明的融合蛋白引起毒素中和免疫应答的极佳能力。表5和6中的数据比较证实,本发明的基于毒素B的构建体比仅基于毒素B的C末端重复单元的对构建体(称为TxB2)引起显著更强力的毒素中和免疫应答。更详细地,在18周的免疫期后,本发明的构建体提供的毒素中和免疫应答是TxB2构建体提供的毒素中和免疫应答的大约128倍高。表9和10显示本发明的基于毒素A的构建体的类似数据。所述表中的数据比较证实,本发明的基于毒素A的构建体比仅基于毒素A的C末端重复单元的对构建体(称为TxA2)引起显著更强力的毒素中和免疫应答。更详细地,在18周的免疫期后,本发明的构建体提供的毒素中和免疫应答是TxA2构建体提供的毒素中和免疫应答的大约12倍高。

[0019] 出于多种原因,这些发现是令人惊讶的。以前的研究已经显示,由艰难梭菌毒素RU组成的毒素片段正确地折叠,容易结晶形成有序结构(Ho等人.(2005)PNAS,102:18373-18378),并结合模拟天然艰难梭菌毒素受体的糖类部分(Greco等人.(2006)Nature Structure.&Molecular Biology,13:460-461)。因此,迄今为止的科学证据支持由艰难梭菌毒素RU组成的片段在抗原制剂中的应用并与其现有技术应用(例如,W000/61762)一致。然而更重要地,进一步的研究已经证实,用完整艰难梭菌产生的抗体,尽管识别由仅完整RU区组成的片段,不能识别由基于艰难梭菌的相同毒素的残基901-1750的“支架”区组成的片段(Genth等人,(2000)Infect.Immun.,68:1094-1101)。因此,这些数据表示,“支架”残基901-1750内的结构域不构成显著的抗体结合结构决定簇。在这一方面,除了在肽键处以外,“支架”毒素结构域与C末端重复区残基之间在三级结构中不存在接触-参见Pruitt等人,(2010)PNAS1002199107的在线出版物。总之,因此,在毒素A和/或毒素B的重组免疫原中包含艰难梭菌“支架”区具有显著增强毒素-中和免疫应答的作用是极其令人惊讶的。

[0020] 本发明的第一方面提供一种融合蛋白,由第一氨基酸序列和第二氨基酸序列组成或包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,其中:

[0021] 1)所述第一氨基酸序列由与由艰难梭菌毒素A序列的残基1500-1850组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;和

[0022] 2)所述第二氨基酸序列由与由位于艰难梭菌毒素A序列的氨基酸残基1851-2710中的长重复单元组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;

[0023] 前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素A的氨基酸残基543-2710的多肽。

[0024] 提及艰难梭菌毒素A序列是指天然存在的艰难梭菌毒素A的氨基酸序列(还称为艰难梭菌毒素A参考序列)。此类序列的实例是本领域技术人员容易理解的,且一些更常见的天然存在的毒素A序列在本说明书(参见例如,SEQ ID NO:1&3)以及文献中被鉴定。

[0025] 整个说明书中提及‘至少80%序列同一性’认为是与短语‘基于’同义的,并可以包括至少85%、至少90%、至少93%、至少95%、至少97%、至少99%和100%序列同一性的一种或多种。在评价序列同一性时,将具有指定数目的连续氨基酸残基的参考序列与来自本发明的融合蛋白的相应部分的氨基酸序列(具有相同数目的连续氨基酸残基)比对。

[0026] 在一个实施方案中,第一氨基酸序列是基于(即,与其具有80%序列同一性)艰难梭菌毒素A的氨基酸残基544-1850。在另一个实施方案中,第一氨基酸序列是基于艰难梭菌毒素A的氨基酸残基544-1850的N末端截短,诸如艰难梭菌毒素A的氨基酸残基564-1850、氨基酸残基584-1850、氨基酸残基594-1850、氨基酸残基614-1850、氨基酸残基634-1850、氨基酸残基654-1850、氨基酸残基674-1850、氨基酸残基694-1850、氨基酸残基714-1850、氨基酸残基734-1850、氨基酸残基754-1850、氨基酸残基767-1850、氨基酸残基770-1850、氨基酸残基774-1850、氨基酸残基794-1850、氨基酸残基814-1850、氨基酸残基834-1850、氨基酸残基854-1850、氨基酸残基874-1850、氨基酸残基894-1850、氨基酸残基914-1850、氨基酸残基934-1850、氨基酸残基954-1850、氨基酸残基974-1850、氨基酸残基994-1850、氨基酸残基1014-1850、氨基酸残基1034-1850、氨基酸残基1054-1850、氨基酸残基1074-1850、氨基酸残基1094-1850、氨基酸残基1104-1850、氨基酸残基1124-1850、氨基酸残基、氨基酸残基1131-1850、氨基酸残基1144-1850、氨基酸残基1164-1850、氨基酸残基1184-1850、氨基酸残基1204-1850、氨基酸残基1224-1850、氨基酸残基1244-1850、氨基酸残基1264-1850、氨基酸残基1284-1850、氨基酸残基1304-1850、氨基酸残基1324-1850、氨基酸残基1344-1850、氨基酸残基1364-1850、氨基酸残基1384-1850、氨基酸残基1404-1850、氨基酸残基1424-1850、氨基酸残基1444-1850、氨基酸残基1464-1850、或氨基酸残基1684-1850;而一般前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素A的氨基酸残基543-2710的多肽。仅以示例的方式,以上氨基酸位置编号可以是指标为SEQ ID NO:1和/或3的艰难梭菌毒素A序列。

[0027] 在一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于(即,与其具有80%序列同一性)来自艰难梭菌毒素A序列的任何一种或多种长重复(LR)氨基酸序列。仅以示例的方式,所述一种或多种LR序列可以基于SEQ ID NO:60、62、64、66、68、70和/或72的任一种。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于艰难梭菌毒素A序列的完整模块序列,其包括LR氨基酸序列加其(侧翼)短重复(SR)序列的一种或多种。仅以示例的方式,第二氨基酸可以基于SEQ ID NO:61、63、65、67、69、71和/或73的一种或多种。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列:来自艰难梭菌毒素A序列的完整模块1氨基酸序列(残基1851-2007)-参见例如,如表1中所示的模块1。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列:来自艰难梭菌毒素A序列的完整模块1加模块2氨基酸序列(例如,如表1中所示的残基1851-2141)。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列:来自艰难梭菌毒素A序列的完整模块1加模块2加模块3氨基酸序列(例如,如表1中所示的残基1851-2253)。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列:来自艰难梭菌毒素A序列的完整模块1加模块2加模块3加模块4氨基酸序列(例如,如表1中所示的残基1851-2389)。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列:来自艰难梭菌毒素A序列的完整模块1加模块2加模块3加模块4加模块5氨基酸序列(例如,如表1中所示的残基1851-2502)。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列:来自艰难梭菌毒素A序列的完整模块1加模块2加模块3加模块4加模块5加模块6氨基酸序列(例如,如表1中所示的残基1851-2594)。在另一个实施方案中,第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列:来自艰难梭菌毒素A序列的完整模块1加模块2加模块3加模块4加模块5加模块6加模块7氨

氨基酸序列(例如,如表1中所示的残基1851-2710)。仅以示例的方式,以上氨基酸位置编号可以是指标为SEQ ID NO:1和/或3的艰难梭菌毒素A序列。

[0028] 第二氨基酸序列的实施方案的任一种可以与对第一氨基酸序列描述的实施方案的任一种组合。

[0029] 在一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素A序列的氨基酸残基1851-2710的序列(或其部分)和基于毒素A多肽的氨基酸残基770-1850的N末端多肽(或其部分)。

[0030] 在另一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素A序列的氨基酸残基1851-2710的序列(或其部分)和基于毒素A多肽的氨基酸残基1131-1850的N末端多肽。

[0031] 在另一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素A多肽的氨基酸残基770-2710或1131-2710的序列(例如,SEQ ID NO5、6、7、8、18、19、20、21、22、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43或58)。

[0032] 在另一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素A多肽的氨基酸残基770-2007、770-2141、770-2253、770-2389或1131-2007、1131-2141、1131-2253或1131-2389的序列(例如,SEQ ID NO59)。

[0033] 本发明的相关第一方面提供一种融合蛋白,由第一氨基酸序列和第二氨基酸序列组成或包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,其中:

[0034] 1)所述第一氨基酸序列由与由艰难梭菌毒素B序列的残基1500-1851组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;和

[0035] 2)所述第二氨基酸序列由与由位于艰难梭菌毒素B序列的氨基酸残基1852-2366中的长重复单元组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;

[0036] 前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素B的氨基酸残基543-2366的多肽。

[0037] 提及艰难梭菌毒素B序列是指天然存在的艰难梭菌毒素B的氨基酸序列(还称为艰难梭菌毒素B参考序列)。此类序列的实例是本领域技术人员容易理解的,且一些更常见的天然存在的毒素B序列在本说明书(参见例如,SEQ ID NO:2&4)以及文献中被鉴定。

[0038] 在一个实施方案中,第一氨基酸序列是基于(即,与其具有80%序列同一性)艰难梭菌毒素B的氨基酸残基544-1851。在另一个实施方案中,第一氨基酸序列是基于艰难梭菌毒素B的氨基酸残基544-1851的N末端截短,诸如艰难梭菌毒素B的氨基酸残基564-1851、氨基酸残基584-1851、氨基酸残基594-1851、氨基酸残基614-1851、氨基酸残基634-1851、氨基酸残基654-1851、氨基酸残基674-1851、氨基酸残基694-1851、氨基酸残基714-1851、氨基酸残基734-1851、氨基酸残基754-1851、氨基酸残基767-1851、氨基酸残基770-1851、氨基酸残基774-1851、氨基酸残基794-1851、氨基酸残基814-1851、氨基酸残基834-1851、氨基酸残基854-1851、氨基酸残基874-1851、氨基酸残基894-1851、氨基酸残基914-1851、氨基酸残基934-1851、氨基酸残基954-1851、氨基酸残基974-1851、氨基酸残基994-1851、氨基酸残基1014-1851、氨基酸残基1034-1851、氨基酸残基1054-1851、氨基酸残基1074-1851、氨基酸残基1094-1851、氨基酸残基1104-1851、氨基酸残基1124-1851、氨基酸残基1131-1851、氨基酸残基1144-1851、氨基酸残基1164-1851、氨基酸残基1184-1851、氨基酸残基1204-1851、氨基酸残基1224-1851、氨基酸残基1244-1851、氨基酸残基1264-1851、氨

氨基酸残基1284-1851、氨基酸残基1304-1851、氨基酸残基1324-1851、氨基酸残基1344-1851、氨基酸残基1364-1851、氨基酸残基1384-1851、氨基酸残基1404-1851、氨基酸残基1424-1851、氨基酸残基1444-1851、氨基酸残基1464-1851、或氨基酸残基1684-1851；而一般前提是，所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素B的氨基酸残基543-2366的多肽。仅以示例的方式，以上氨基酸位置编号可以是指标为SEQ ID NO:2和/或4的艰难梭菌毒素B序列。

[0039] 在一个实施方案中，第二氨基酸序列是基于(即，与其具有80%序列同一性)来自艰难梭菌毒素B序列的长重复(LR)氨基酸序列的任何一种或多种。仅以示例的方式，所述一种或多种LR序列可以是基于SEQ ID NO:74、76、78和/或80的任一种。在另一个实施方案中，第二氨基酸序列是基于艰难梭菌毒素B序列的完整模块序列，其包括LR氨基酸序列加其(侧翼)短重复(SR)序列的一种或多种。仅以示例的方式，第二氨基酸序列可以基于SEQ ID NO:75、77、79和/或81的一种或多种。在另一个实施方案中，第二氨基酸是基于由以下组成或包含以下的序列：来自艰难梭菌毒素B序列的完整模块1氨基酸序列(残基1852-2007)-参见例如，如表2中所示的模块1。在另一个实施方案中，第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列：来自艰难梭菌毒素B序列的完整模块1加模块2氨基酸序列(例如，如表2中所示的残基1852-2139)。在另一个实施方案中，第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列：来自艰难梭菌毒素B序列的完整模块1加模块2加模块3氨基酸序列(例如，如表2中所示的残基1851-2273)。在另一个实施方案中，第二氨基酸序列是基于由以下组成或包含以下的序列：来自艰难梭菌毒素B序列的完整模块1加模块2加模块3加模块4氨基酸序列(例如，如表2中所示的残基1851-2366)。仅以示例的方式，以上氨基酸位置编号可以是指标为SEQ ID NO:2和/或4的艰难梭菌毒素B序列。

[0040] 第二氨基酸序列的实施方案的任一种可以与对第一氨基酸序列描述的实施方案的任一种组合。

[0041] 在一个实施方案中，当第一和第二氨基酸序列都是基于毒素B序列时，融合蛋白可由以下组成或包括以下：基于艰难梭菌毒素B序列诸如SEQ ID NO:2和/或4的至少871或至少876或至少881或至少886或至少891或至少896或至少901个连续氨基酸残基(例如，从C末端氨基酸残基开始)的氨基酸序列)。

[0042] 在一个实施方案中，提供一种融合蛋白，其包括或由以下组成：基于毒素B多肽的氨基酸残基1852-2366的序列(或其部分)和基于毒素B多肽的氨基酸残基767-1851的N末端多肽(或其部分)。

[0043] 在另一个实施方案中，提供一种融合蛋白，其包括或由以下组成：基于毒素B多肽的氨基酸残基1852-2366的序列(或其部分)和基于毒素B多肽的氨基酸残基1145-1851的N末端多肽(或其部分)。

[0044] 在另一个实施方案中，提供一种融合蛋白，其包括或由以下组成：基于毒素B多肽的氨基酸残基767-2366或957-2366或1138-2366的序列(例如，SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、23、24、25、26、27、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56或57)。

[0045] 本发明还提供为毒素A和B结构域的嵌合体的融合蛋白。例如，基于毒素B多肽的一个或多个长重复单元(任选地包括一个或多个短重复单元；或一个、多个或所有模块)可与毒素A多肽的“支架”区组合。类似地，基于毒素A多肽的一个或多个长重复单元(任选地包括一个或多个短重复单元；或一个、多个或所有模块)可与毒素B多肽的“支架”区组合。

[0046] 因此,本发明的进一步相关方面提供一种杂合/嵌合的融合蛋白,由第一氨基酸序列和第二氨基酸序列组成或包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,其中:

[0047] 1)所述第一氨基酸序列由与由艰难梭菌毒素A序列的残基1500-1851组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;和

[0048] 2)所述第二氨基酸序列由与由位于艰难梭菌毒素B序列的氨基酸残基1852-2366中的长重复单元组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;

[0049] 前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素A的氨基酸残基543-2710的多肽;

[0050] 且前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素B的氨基酸残基543-2366的多肽。

[0051] 第一和第二氨基酸序列的实施方案如以上详述的。

[0052] 例如,在一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素B多肽的氨基酸残基1852-2366的序列(或其部分)和基于毒素A多肽的氨基酸残基770-1849的N末端多肽(或其部分)。

[0053] 在另一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素B多肽的氨基酸残基1852-2366的序列(或其部分)和基于毒素A多肽的氨基酸残基1131-1849的N末端多肽(或其部分)。

[0054] 在另一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素B多肽的氨基酸残基1852-2366的序列(或其部分)和基于毒素A多肽的氨基酸残基1500-1849的N末端多肽(或其部分)。在一个实施方案中,所述毒素A多肽组分优选地是基于比毒素A多肽的残基543-1849短的序列。

[0055] 具体实例包括由以下组成或包括以下的融合蛋白:基于SEQ ID NO:16或17的任何一种或多种的氨基酸序列。

[0056] 类似地,本发明的进一步相关第一方面提供一种杂合/嵌合的融合蛋白,由第一氨基酸序列和第二氨基酸序列组成或包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,其中:

[0057] 1)所述第一氨基酸序列由与由艰难梭菌毒素B序列的残基1500-1851组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;和

[0058] 2)所述第二氨基酸序列由与由位于艰难梭菌毒素A序列的氨基酸残基1851-2710中的长重复单元组成的氨基酸序列具有至少80%序列同一性的氨基酸序列提供;

[0059] 前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素A的氨基酸残基543-2710的多肽;

[0060] 且前提是,所述融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素B的氨基酸残基543-2366的多肽。

[0061] 第一和第二氨基酸序列的实施方案如以上详述的。

[0062] 在一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素A多肽的氨基酸残基1850-2710的序列(或其部分)和基于毒素B多肽的氨基酸残基767-1851的N末端多肽(或其部分)。

[0063] 在另一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素A多肽的氨基酸残基1850-2710的序列(或其部分)和基于毒素B多肽的氨基酸残基1145-1851的N末端多肽(或其部分)。

[0064] 在另一个实施方案中,提供一种融合蛋白,其包括或由以下组成:基于毒素A多肽的氨基酸残基1850-2710的序列(或其部分)和基于毒素B多肽的1500-1851的N末端多肽。在一个实施方案中,毒素B多肽组分优选地是基于比毒素B多肽的残基543-1851短的序列。

[0065] 具体实例包括由以下组成或包括以下的融合蛋白：基于SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

[0066] 如以上描述的，本发明涉及基于艰难梭菌毒素A和/或艰难梭菌毒素B的“支架”段加(C末端重复单元的)LR部分的融合蛋白。在这方面，基于所述艰难梭菌毒素A和/或毒素B序列的所述融合蛋白的总的部分通常合计最多1940个连续氨基酸残基(例如最多1890、或1840、或1790、或1740、或1690、或1640、或1590、或1540、或1490、1440、或1390、或1340、或1290、或1240个连续氨基酸残基)。

[0067] 在一个实施方案中，融合蛋白基本上缺少半胱氨酸蛋白酶活性。在另一个(或同一)实施方案中，融合蛋白基本上缺少葡糖基转移酶活性。例如，提供所述活性的氨基酸序列的部分或全部通常在本发明的融合蛋白中不存在(例如，缺失)。这些酶活性存在于天然毒素A和/或毒素B中，并与所述毒素的N末端结构域相关(参见图1)。

[0068] 在另一个实施方案中，融合蛋白基本上缺少天然艰难梭菌毒素的葡糖基转移酶结构域(毒素A的氨基酸残基1-542；毒素B的氨基酸残基1-543)。在另一个(或同一)实施方案中，融合蛋白基本上缺少天然艰难梭菌毒素的半胱氨酸蛋白酶结构域(毒素A的氨基酸残基543-770；毒素B的544-767)。所述氨基酸残基编号是指任何毒素A或毒素B的毒素型，例如本说明书中提及的参考毒素A和/或毒素B毒素型SEQ ID NO的任何一种或多种。因此，所述氨基酸残基编号可以是指本说明书中提及的任何具体毒素A和/或毒素B参考SEQ ID NO，包括与其具有至少80%、至少85%、至少90%、至少93%、至少95%、至少97%、或至少99%的氨基酸序列变体。

[0069] 本发明的融合蛋白构建体可衍生自任何毒素A和/或B序列(包括任何毒素型序列)，诸如本说明书中阐述的那些。例如，在一个实施方案中，第一和/或第二氨基酸序列衍生自毒素型0的毒素A和/或B(分别是SEQ ID1和2)。在另一个实施方案中，第一和/或第二氨基酸序列衍生自毒素型3的毒素A和/或B(分别是SEQ ID3和4)。

[0070] 本发明的融合蛋白还可包括融合蛋白伴侣以帮助可溶的表达。融合蛋白伴侣可被连接在抗原构建体的N末端或C末端，但通常被连接在N末端。融合伴侣的实例是：NusA、硫氧还蛋白、麦芽糖结合蛋白、小泛素样分子(Sumo-标签)。为了帮助在纯化期间去除融合蛋白伴侣，可将独特的蛋白酶位点插入在融合蛋白伴侣与融合蛋白本身之间。此类蛋白酶位点可包括用于凝血酶、因子Xa、肠激酶、PreScission™、Sumo™的那些。可选地，融合蛋白伴侣的去除可通过在融合蛋白伴侣与融合蛋白本身之间并入内蛋白序列来实现。内蛋白是自身裂解蛋白，并且响应于刺激(例如，pH降低)能够在内蛋白与抗原构建体的交叉点自身剪接，从而消除添加特定蛋白酶的需求。内蛋白的实例包括衍生自结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)(RecA)、和极端嗜热古菌(*Pyrococcus horikoshii*)(RadA)的结构域(Fong等人。(2010)*Trends Biotechnol.*28:272-279)。

[0071] 为了帮助纯化，本发明的融合蛋白可包括一种或多种纯化标签以使得纯化方法中能够包括特定的层析步骤(例如，金属离子螯合、亲和层析)。此类纯化标签可例如包括：重复组氨酸残基(例如，6-10个组氨酸残基)、麦芽糖结合蛋白、谷胱甘肽S-转移酶；和链霉亲和素。这些标签可被连接在本发明的抗原融合蛋白的N末端和/或C末端。为了帮助在纯化期间去除此类标签，可在融合蛋白与纯化标签之间插入蛋白酶位点和/或内蛋白(以上实例)。

[0072] 因此，本发明的典型融合蛋白构建体(从N末端开始)可包括：

[0073] -第一纯化标签

[0074] -融合蛋白伴侣(以帮助表达)

[0075] -第一(优选地特定)蛋白酶序列或内蛋白序列

[0076] -毒素A和/或B抗原序列

[0077] -任选的第二(优选地特定)蛋白酶序列或内蛋白序列

[0078] -任选的第二纯化标签。

[0079] 第一和第二纯化标签可以是相同或不同的。类似地,第一和第二蛋白酶/内蛋白序列可以是相同或不同的。第一和第二选项优选地不同,以使得能够选择性和可控地裂解/纯化。

[0080] 此类融合蛋白构建体的具体实例显示在SEQ ID18-27。

[0081] 在一个实施方案中,可引入间隔子以间隔纯化标签与融合蛋白-这可帮助增加对亲和纯化柱介质的结合效力。间隔子可被放置(紧接)在纯化标签之后,或在融合蛋白伴侣与融合蛋白本身之间。典型的间隔子序列可由10-40个氨基酸残基组成以提供线性或 α -螺旋结构。

[0082] 因此,在一个实施方案中,本发明的融合蛋白构建体可包括(从N末端开始):

[0083] -第一纯化标签

[0084] -任选的第一间隔子序列

[0085] -融合蛋白伴侣(以帮助表达)

[0086] -任选的第二间隔子序列

[0087] -(优选地特定)蛋白酶序列或内蛋白序列

[0088] -毒素A和/或B衍生的抗原序列

[0089] -任选的第二(优选地特定)蛋白酶序列或内蛋白序列

[0090] -任选第三间隔子序列

[0091] -任选的第二纯化标签

[0092] 此类蛋白融合构建体的具体实例显示在SEQ ID28-57。

[0093] 编码本发明的构建体的基因可由PCR从艰难梭菌基因组DNA产生,并由标准方法测序以确保完整性。可选地和优选地,可以合成基因,为表达宿主(例如,大肠杆菌(*E. coli*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*))提供最佳的密码子偏倚。如此,本发明提供编码本发明的上述融合蛋白的相应的核酸序列。

[0094] 因此,本发明的第二方面提供用于表达一种或多种上述融合蛋白的方法,所述方法包括:

[0095] 1)在宿主细胞中提供编码一种或多种所述融合蛋白的核酸序列,其中所述核酸序列可操作地连接于启动子;和

[0096] 2)在宿主细胞中表达所述核酸序列。

[0097] 本发明的融合蛋白可被配制为以多种方式用于人类或动物的疫苗。例如,配制可包括用试剂处理以引入分子内的交联。此类试剂的一个实例是甲醛,可将其与例如本发明的抗原融合蛋白一起培养1-24小时。可选地,可采用例如达2、4、6、8或10天的更长的培养时间。用此类试剂处理后,可将本发明的抗原融合体与适当的佐剂组合,适当的佐剂可取决于抗原融合蛋白预期用于人类还是动物。

[0098] 人类或动物疫苗制剂可包含本发明的毒素A和/或毒素B和/或相应的杂合/嵌合的抗原融合体。因此,在一个实施方案中,本发明的疫苗配制方案包括以下步骤:

[0099] -在适当的缓冲体系中提供重组毒素A和/或毒素B和/或杂合/嵌合的毒素融合蛋白

[0100] -任选地(优选地)用类毒化组分诸如甲醛处理所述混合物

[0101] -任选地转移融合蛋白到新的缓冲体系

[0102] -组合融合蛋白与一种或多种适当的佐剂和任选地其他赋形剂

[0103] 因此,本发明的第三方面提供本发明的一种或多种上述融合蛋白,所述融合蛋白用于产生结合艰难梭菌毒素A和/或毒素B的抗体。在一个实施方案中,所述抗体结合并中和艰难梭菌毒素A和/或毒素B。

[0104] 对于动物的免疫,本发明的艰难梭菌重组融合蛋白抗原可以单独地或者同时或顺序地组合用作免疫原,以产生对单个艰难梭菌毒素或艰难梭菌毒素组合特异的抗体。例如,两种或更多种重组抗原可以混合在一起并用作单个免疫原。可选地,艰难梭菌毒素融合蛋白抗原(例如,毒素A衍生的)可单独地用作第一动物组的第一免疫原,并且另一艰难梭菌毒素抗原(例如,毒素B衍生的)可单独地用于第二动物组。可以组合由单独免疫产生的抗体以产生针对艰难梭菌毒素的抗体组合物。用于动物/兽医应用的合适的佐剂的非限制性实例包括弗氏佐剂(完全形式和不完全形式)、铝(磷酸铝或氢氧化铝),皂苷及其纯化组分Quil A。

[0105] 本发明的第四(疫苗)方面提供本发明的一种或多种上述融合蛋白,所述融合蛋白用于预防、治疗或抑制CDI(例如,在哺乳动物诸如人类中)。换言之,本发明提供用于预防、治疗或抑制CDI(例如,在哺乳动物诸如人类中)的方法,所述方法包括向受治疗者(例如,哺乳动物诸如人类)施用治疗有效量的本发明的一种或多种上述融合蛋白。

[0106] 举例来说,基于毒素A的融合蛋白(任何A毒素型)可单独采用或联合基于毒素B的融合蛋白(任何B毒素型)采用。类似地,基于毒素B的融合蛋白(任何B毒素型)可单独采用或联合基于毒素A的融合蛋白(任何A毒素型)采用。所述融合蛋白可以相继(sequential)或同时方式施用。本发明的疫苗应用还可包括联合使用(例如,在先、相继或随后施用)一种或多种抗原诸如艰难梭菌抗原(例如,非毒素抗原;或艰难梭菌细菌诸如已被灭活的或减毒的)、和任选地一种或多种医院感染抗原(例如,来自导致医院感染的细菌的抗原、特别是表面抗原;和/或导致医院感染的细菌诸如已被灭活的或减毒的)。导致医院感染的细菌的实例包括以下一种或多种:大肠杆菌、肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)诸如MRSA、军团菌属(*Legionella*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、肠杆菌属物种(*Enterobacter spp*)、柠檬酸杆菌属物种(*Citrobacter spp*)、嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)、不动杆菌属物种(*Acinetobacter spp*)诸如鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)、洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*)、和肠球菌属(*Enterococcus*)诸如万古霉素抗性的肠球菌属(VRE)。

[0107] 在一个实施方案中,所述疫苗应用可预防地采用,例如在所述患者进入医院(或类似的治疗设施)之前治疗患者以帮助预防医院获得性感染。可选地,所述疫苗应用可例行地施用于易受伤害的患者。

[0108] 本发明的相关疫苗方面提供结合本发明的一种或多种上述融合蛋白的一种或多种抗体(包含或由以下组成:完整IgG和/或Fab和/或F(ab')₂片段),所述抗体用于预防、治疗或抑制CDI(例如,在哺乳动物诸如人类中)。换言之,本发明提供用于预防、治疗或抑制CDI(例如,在哺乳动物诸如人类中)的方法,所述方法包括向受治疗者(例如,哺乳动物诸如人类)施用治疗有效量的所述抗体。

[0109] 举例来说,基于抗毒素A的融合蛋白(任何A毒素型)抗体可单独采用或联合基于抗毒素B的融合蛋白(任何B毒素型)抗体采用。类似地,基于抗毒素B的融合蛋白(任何B毒素型)抗体可单独采用或联合基于抗毒素A的融合蛋白(任何A毒素型)抗体采用。所述抗体可以相继或同时方式施用。本发明的疫苗应用还可包括联合使用(例如,在先、相继或随后施用)结合抗原诸如艰难梭菌抗原(例如,非毒素抗原;或艰难梭菌细菌)的一种或多种抗体、和任选地结合一种或多种医院感染抗原(例如,来自导致医院感染的细菌的抗原、特别是表面抗原;和/或导致医院感染的细菌)的一种或多种抗体。导致医院感染的细菌的实例包括以下一种或多种:大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌诸如MRSA、军团菌属、铜绿假单胞菌、粘质沙雷氏菌、肠杆菌属物种、柠檬酸杆菌属物种、嗜麦芽寡养单胞菌、不动杆菌属物种诸如鲍曼不动杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、和肠球菌属诸如万古霉素抗性的肠球菌属(VRE)。

[0110] 在一个实施方案中,所述疫苗应用可预防地采用,例如在患者已经进入医院(或类似的治疗设施)后。可选地,所述疫苗应用可联合一种或多种抗生素施用于患者。

[0111] 在一个实施方案中,所述抗体通过用本发明的一种或多种上述融合蛋白免疫动物(例如,哺乳动物诸如人类、或非人类动物诸如山羊或绵羊)来产生。

[0112] 在一个实施方案中,本发明的抗体(基本上)不结合艰难梭菌毒素A和/或毒素B的效应结构域和/或半胱氨酸蛋白酶结构域。

[0113] 对于用于人类(或非人类动物)的疫苗的制备,可将活性免疫原性成分(无论这些是本发明的抗原性融合蛋白/和/或与其结合的本发明的相应的抗体)与载体或赋形剂混合,所述载体或赋形剂是药学上可接受的并与活性成分相容。适当的载体和赋形剂包括,例如,水、盐水、葡萄糖、甘油、乙醇、或类似物和其组合。此外,如果需要,疫苗可包含微量的辅助物质诸如湿润剂或乳化剂、pH缓冲剂、和/或增强疫苗效力的佐剂。

[0114] 疫苗还可包括一种或多种佐剂。在本发明范围中的佐剂的一种非限制性实例是氢氧化铝。佐剂的其他非限制性实例包括但不限于:N-乙酰基-胞壁酰基-L-苏氨酸-D-异谷氨酰胺(thr-MDP)、N-乙酰基-去甲胞壁酰基-L-丙氨酸-D-异谷氨酰胺(CGP11637,称为去甲MDP)、N-乙酰基胞壁酰基-L-丙氨酸-D-异谷氨酰胺基-L-丙氨酸-2-(1'-2'-二棕榈酰-sn-甘油-3-羟基磷酸氧)-乙胺(CGP19835A,称为MTP-PE)、和RIBI,其在2%角鲨烯/Tween80乳液中包含从细菌提取的三种组分:单磷脂A、海藻糖二霉菌酸酯和细胞壁骨架(MPL+TDM+CWS)。

[0115] 通常,疫苗制备为可注射物,以液体溶液或悬液。当然,还可制备适于在注射前在液体中成溶液或成悬液的固体形式。制品还可被乳化,或肽被包裹在脂质体或微胶囊中。

[0116] 疫苗施用通常是通过常规途径,例如,肌肉内、皮下、腹膜内或粘膜途径。施用可通过肠胃外注射,例如,皮下或肌肉内注射。

[0117] 疫苗以与剂量制剂(dosage formulation)相容的方式施用,施用的量将是预防

和/或治疗有效的。将施用的量通常在每次剂量5微克至250微克抗原的范围中,取决于被治疗的受治疗者、受治疗者的免疫系统合成抗体的能力、和期望的保护程度。施用所需的活性成分的准确量可取决于医师的判断,并且对每个受治疗者是特定是。

[0118] 疫苗可以单剂量方案提供,或任选地以多剂量方案提供。多剂量方案是以下方案:其中主要接种过程可以是以1-6个分别的剂量,随后是以保持和/或加强免疫应答所需的随后时间间隔提供的其他剂量,例如,对于第二剂量在1-4个月,和如果需要,数月之后的随后剂量。给药方案至少部分地还由个体的需求决定,并取决于从业医师的判断。

[0119] 此外,包含免疫原性抗原的疫苗可联合其他免疫调节剂例如,免疫球蛋白、抗生素、白介素(例如,IL-2、IL-12)、和/或细胞因子(例如,IFN γ)施用。

[0120] 适于用于本发明的另外的制剂包括微胶囊、栓剂,和在一些情形中,口服制剂或适于分配的制剂如气雾剂。对于栓剂,常规的粘合剂和载体可包括,例如,聚亚烷基二醇或甘油三酯;此类栓剂可从包含约0.5%至10%的范围,包括例如约1%-2%的活性成分的混合物形成。

[0121] 本发明的融合蛋白还可具有作为用于亲和层析方案中的配体的用途。在此类方案中,本发明的融合蛋白可被共价固定在介质,诸如琼脂糖,例如使用溴化氰活化的琼脂糖上。然后,此类亲和柱可用于从抗血清或部分纯化的免疫球蛋白溶液纯化抗体,通过将它们通过柱,然后洗脱结合的IgG级分(例如,以低pH)。洗脱的级分中几乎所有抗体是针对本发明的融合蛋白的,且非特异性抗体和其他蛋白已被去除。这些亲和纯化的IgG级分具有作为免疫治疗剂和作为诊断用剂二者的应用。对于免疫治疗剂,亲和纯化的抗体使得能够施用较低剂量,使得不利的副作用较不可能。对于诊断,亲和纯化的剂通常提供改进的特异性和较少的假阳性结果。

[0122] 定义部分

[0123] 艰难梭菌是梭状芽孢杆菌属的革兰氏阳性菌物种。

[0124] 艰难梭菌感染(CDI)意指影响人和动物并且导致如下的一系列症状的细菌感染:从轻度自身限制性腹泻至威胁生命的病症,如假膜性结肠炎和细胞毒性巨结肠。在这种疾病中,艰难梭菌取代了一些正常的肠道菌群并开始产生攻击和损坏肠道上皮的细胞毒素。人CDI的主要风险因子包括:接受广谱抗生素、超过65岁以及住院。

[0125] 艰难梭菌毒素A是大小为大约300kDa的蛋白细胞毒素/肠毒素家族。毒素A具有在N末端区域内的酶活性,该酶活性起作用破坏哺乳动物细胞的细胞骨架而引起细胞死亡。在艰难梭菌菌株中存在大量天然存在的毒素A变体,它们称为‘毒素型’。毒素A的各毒素型在它们的一级序列中总体具有通常小于10%的变异。合适的毒素A序列的实例包括SEQ ID No:1和SEQ ID No:3。

[0126] 艰难梭菌毒素B是大小为大约270kDa的蛋白细胞毒素家族,其与毒素A类似但具有显著更高的细胞毒性。像毒素A一样,毒素B具有在N末端区域内的酶活性,该酶活性起作用破坏哺乳动物细胞的细胞骨架而引起细胞死亡。在艰难梭菌菌株中存在大量天然存在的毒素B变体,它们称为‘毒素型’。毒素B的各毒素型在它们的一级序列中总体具有通常达到15%的变异。合适的毒素B序列的实例包括SEQ ID No:2和SEQ ID No:4。

[0127] 艰难梭菌重复单元是在毒素A和B的C末端中的区域,包含首次由von Eichel-Streiber和Sauerborn(1990;Gene30:107-113)鉴定的重复基序。在毒素A的情形中,存在31

个短重复和7个长重复,每个重复由 β -发夹、随后是环组成。毒素B由类似的结构组成,但重复段较少。毒素A的重复单元被包含在残基1850-2710中,毒素B的被包含在残基1852-2366中。重复区在受体结合中起作用。受体结合区(即,界定毒素的结构结合袋)表现为围绕长重复区成簇以形成‘结合模块’参见表1和2)。

[0128] 认为毒素A和B的中心结构域在毒素向哺乳动物细胞的转运中起作用。毒素A的中心结构域是基于残基543-1849,毒素B的是基于残基543-1851。在毒素A和B的中心结构域区域之中,第一结构域是半胱氨酸蛋白酶,其在毒素的效应结构域(其包含葡糖基转移酶活性)的内化中起作用。

[0129] 毒素型通常用于分类艰难梭菌菌株。毒素分型是基于表征所获得的毒素基因的限制模式的方法。

[0130] 毒素A和B的毒素型代表这些蛋白毒素的一级氨基酸序列变体。在一个实施方案中,艰难梭菌毒素选自毒素型0至XV中的一种。优选的毒素型(加上示例核糖核酸型和菌株)列在下面的表中。所列的毒素型纯粹是示例,并不旨在限制本发明。

[0131]

毒素型	示例的核糖核酸型	示例的菌株	参考文献
0	001、106	VPI10463	Rupnik 等人(1998) J. Clinical Microbiol. 36:2240-2247
1	003、012、102	EX623	
2	103	AC008	
3	027、034、075、080	R20291、QCD-32g58	
4	023、034、075、080	55767	
5	066、078	SE881	
6	045、063、066	51377	
7	063	57267	
8	017、047	1470	
9	019	51680	
10	036	8864	
11	033	IS58、R11402	Rupnik 等人(2001) Microbiology 147:439-447
12	056	IS25	
13	070	R9367	
14	111	R10870	
15	122	R9385	

[0132] “抗体”以最广含义使用,并且具体涵盖多克隆抗体和抗体片段,只要它们表现出期望的生物活性即可。例如,抗体是包括至少一个或两个重链(H)可变区(本文缩写为VHC)和至少一个或两个轻链(L)可变区(本文缩写为VLC)的蛋白。VHC区和VLC区可进一步细分为称为“互补决定区”(“CDR”)的高变区,其散布于更保守的称为“框架区”(FR)的区域中。框架区和CDR的范围已被精确定义(参见,Kabat,E.A.,等人Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,美国卫生和公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH公布第91-3242号,1991,和Chothia,C.等人,J.Mol.Biol.196:901-917,1987,它们通过引用并入本文)。优选地,各VHC和VLC由从氨基末端到羧基末端以如下次序排列的三个CDR和四个FR组成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0133] 抗体的VHC或VLC链可以进一步包括重链或轻链恒定区的全部或部分。在一个实施方案中,抗体是两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的四聚体,其中所述免疫球蛋白重链和轻链通过例如二硫键互相连接。重链恒定区包括三个结构域:CH1、CH2和CH3。轻链

恒定区由一个结构域CL构成。重链和轻链的可变区含有与抗原互相作用的结合结构域。抗体的恒定区通常介导抗体与包括下列的宿主组织或因子的结合：免疫系统的多种细胞(例如，效应细胞)和经典补系统的第一成分(C1q)。术语“抗体”包括型IgA、IgG、IgE、IgD、IgM(以及它们的亚型)的完整免疫球蛋白，其中所述免疫球蛋白的轻链可以是κ型或λ型。

[0134] 如本文所用的术语抗体还指结合艰难梭菌的毒素(例如，毒素A或B)的抗体的部分，例如，其中一条或更多条免疫球蛋白链不是全长，但结合毒素的分子。涵盖在术语抗体中的结合部分的实例包括(i)Fab片段，由VLC、VHC、CL和CH1结构域组成的单价片段；(ii)F(ab')₂片段，包括由较链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段；(iii)由VHC和CH1结构域组成的Fc片段；(iv)由抗体单臂的VLC和VHC结构域组成的Fv片段；(v)dAb片段(Ward等人，Nature341:544-546,1989)，其由VHC结构域组成；和(vi)分离的互补决定区(CDR)，其具有足够的框架来结合例如可变区的抗原结合部分。轻链可变区的抗原结合部分和重链可变区的抗原结合部分，例如，Fv片段的两个结构域VLC和VHC可以使用重组方法通过合成的连接子连接，所述合成的连接子使得它们可以作为单个蛋白链制备，在该单个蛋白链中VLC和VHC区配对以形成单价分子(称为单链Fv(scFv)；参见，例如，Bird等人(1988)Science IAI-AI β ；和Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci USA85:5879-5883)。这种单链抗体(以及camelids)也涵盖在术语抗体内。这些是使用本领域的技术人员已知的常规技术获得的，并且以与完整抗体相同的方式筛选这些部分的效用。

[0135] 术语“片段”是指通常具有参考序列的连续氨基酸序列的至少70%、优选地至少80%、更优选地至少90%的肽。

[0136] 术语“变体”是指具有与艰难梭菌毒素多肽的至少80%、优选地至少85%、更优选地至少90%氨基酸序列同源性的肽或肽片段。对于序列比较，通常一个序列作为参考序列，测试序列可以与其比较。当使用序列比较算法时，将测试序列和参考序列输入计算机中，若需要则随后指定坐标，并指定序列算法程序参数。然后，序列比较算法基于指定的程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0137] 多种序列比对方法的任一种可用于确定同一性百分比，包括但不限于，全局方法、局部方法和混合方法，诸如，例如，区段接近方法。确定同一性百分比的方案是本领域技术人员能力范围内的常规方案。全局方法从分子的起点向终点比对序列，并通过合计单独残基对的得分和加入缺口罚分来确定最佳比对。非限制性方法包括例如，CLUSTAL W，参见例如，Julie D.Thompson等人，CLUSTAL W:Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting,Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice,22(22)Nucleic Acids Research4673-4680(1994)；和迭代改善，参见例如，Osamu Gotoh,Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein.Sequence Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments,264(4)J.Mol.Biol.823-838(1996)。局部方法通过鉴定所有输入序列共有的一个或多个保守基序来比对序列。非限制性方法包括例如，Match-box，参见例如，Eric Depiereux和Ernest Feytmans,Match-Box:A Fundamentally New Algorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences,8(5)CABIOS501509(1992)；Gibbs取样，参见例如，C.E.Lawrence等人，Detecting Subtle Sequence Signals:A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment,262(5131)

Science208-214(1993);Align-M,参见例如,Ivo Van Walle等人,Align-M-A New Algorithm for Multiple Alignment of Highly Divergent Sequences,20(9) Bioinformatics:1428-1435(2004)。

[0138] 如此,由常规方法确定序列同一性百分比。参见例如,Altschul等人,Bull.Math.Bio.48:603-16,1986,以及Henikoff和Henikoff,Proc.Natl.Acad.Sci.USA89:10915-19,1992。简要地说,比对两条氨基酸序列以优化比对得分,使用缺口开放罚分为10、缺口延伸罚分为1、和Henikoff和Henikoff(同上)的“blosum62”评分矩阵,如以下所示(氨基酸以标准的单字母编码表示)。

[0139] 用于确定序列同一性的比对得分

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4																			
R	-1	5																		
N	-2	0	6																	
D	-2	-2	1	6																
C	0	-3	-3	-3	9															
Q	-1	1	0	0	-3	5														
E	-1	0	0	2	-4	2	5													
G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6												
H	-2	0	1	-1	-3	0	0	-2	8											
I	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4										
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4									
K	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5								
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	1	2	-1	5							
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	6						
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7					
S	1	-1	1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4				
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	5			
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	1	-4	-3	-2	11		
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	2	-1	-1	-2	-1	3	-3	-2	-2	2	7	
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	3	1	-2	1	-1	-2	-2	0	-3	-1	4

[0141] 然后如下计算同一性百分比:

鉴定的匹配的总数

_____ x 100

[0142]

[加上为了比对两条序列而引入较长序列的

缺口的数目的较长序列的长度]

[0143] 基本上同源的多肽特征为具有一个或多个氨基酸取代、缺失或添加。这些改变优

选地是性质轻微的,即,保守氨基酸取代(参见以下)和不显著影响多肽的折叠或活性的其他取代;小的缺失,通常为1至约30个氨基酸;和小的氨基末端或羧基末端延伸物,诸如氨基末端甲硫氨酸残基、最多约20-25个残基的小的连接肽、或亲和标签。

[0144] 保守氨基酸取代

[0145] 碱性:精氨酸

[0146] 赖氨酸

[0147] 组氨酸

[0148] 酸性:谷氨酸

[0149] 天冬氨酸

[0150] 极性:谷氨酰胺

[0151] 天冬酰胺

[0152] 疏水:亮氨酸

[0153] 异亮氨酸

[0154] 缬氨酸

[0155] 芳香族:苯丙氨酸

[0156] 色氨酸

[0157] 酪氨酸

[0158] 小的:甘氨酸

[0159] 丙氨酸

[0160] 丝氨酸

[0161] 苏氨酸

[0162] 甲硫氨酸

[0163] 除了20种标准氨基酸以外,非标准氨基酸(诸如4-羟脯氨酸、6-N-甲基赖氨酸、2-氨基异丁酸、异缬氨酸和 α -甲基丝氨酸)可取代本发明的多肽的氨基酸残基。有限数目的非保守氨基酸、不由遗传密码编码的氨基酸、和非天然氨基酸可取代梭菌多肽的氨基酸残基。本发明的多肽还可包括非天然存在的氨基酸残基。

[0164] 非天然存在的氨基酸包括但不限于,反式-3-甲基脯氨酸、2,4-甲醇基-脯氨酸、顺式-4-羟脯氨酸、反式-4-羟脯氨酸、N-甲基甘氨酸、别-苏氨酸、甲基-苏氨酸、羟基-乙基半胱氨酸、羟基乙基高半胱氨酸、硝基-谷氨酰胺、高谷氨酰胺、哌可酸、叔-亮氨酸、正缬氨酸、2-氮杂苯基丙氨酸、3-氮杂苯基-丙氨酸、4-氮杂苯基-丙氨酸、和4-氟苯丙氨酸。用于向蛋白掺入非天然存在的氨基酸残基的多种方法是本领域已知的。例如,可采用体外系统,其中使用化学氨基酰化的阻遏tRNA阻遏无义突变。用于合成氨基酸和氨基酰化tRNA的方法是本领域公知的。包含无义突变的质粒的转录和翻译在包含大肠杆菌S30提取物和可商购获得的酶和其他试剂的无细胞体系中进行。蛋白通过层析纯化。参见例如,Robertson等人,J. Am. Chem. Soc. 113:2722,1991;Ellman等人,Methods Enzymol. 202:301,1991;Chung等人,Science 259:806-9,1993;和Chung等人,Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:10145-9,1993)。在第二种方法中,翻译通过微注射突变的mRNA和化学氨基酰化的阻遏tRNA在非洲爪蟾卵母细胞中进行(Turcatti等人,J. Biol. Chem. 271:19991-8,1996)。在第三种方法中,在不存在将被替换的天然氨基酸(例如,苯丙氨酸)和期望的非天然存在的氨基酸(例如,2-氮杂苯基

丙氨酸、3-氮杂苯基丙氨酸、4-氮杂苯基丙氨酸、或4-氟苯丙氨酸)的存在下培养大肠杆菌细胞。将非天然存在的氨基酸掺入肽中,代替其天然对应物。参见Koide等人,Biochem.33:7470-6,1994。可通过体外化学修饰将天然存在的氨基酸残基转化为非天然存在的物质。化学修饰可与定点诱变组合来进一步扩大取代的范围(Wynn和Richards,Protein Sci.2:395-403,1993)。

[0165] 有限数目的非保守氨基酸、不由遗传密码编码的氨基酸、非天然存在的氨基酸、和非天然氨基酸可取代本发明的多肽的氨基酸残基。

[0166] 本发明的多肽中的必需氨基酸可按照本领域已知的方案来鉴定,诸如定点诱变或丙氨酸扫描诱变(Cunningham和Wells,Science244:1081-5,1989)。生物相互作用的位点,连同推定的接触位点氨基酸的突变还可由结构的物理分析来确定,如由诸如核磁共振、晶体学、电子衍射或光亲和标记的技术来确定。参见例如,de Vos等人,Science255:306-12,1992;Smith等人,J.Mol.Biol.224:899-904,1992;Wlodaver等人,FEBS Lett.309:59-64,1992。必需氨基酸的身份还可从与本发明的多肽的相关组分(例如,转运或蛋白酶组分)的同源性分析来推断。

[0167] 多种氨基酸取代可使用诱变和筛选的已知方法产生和试验,诸如由Reidhaar-Olson和Sauer(Science241:53-7,1988)或Bowie和Sauer(Proc.Natl.Acad.Sci.USA86:2152-6,1989)公开的方法。简言之,这些作者公开了以下方法:在多肽中的两个或多个位置同时随机化,筛选功能性多肽,然后将突变的多肽测序来确定在每个位置可允许的取代的谱。可使用的其他方法包括噬菌体展示(例如,Lowman等人,Biochem.30:10832-7,1991;Ladner等人,美国专利号5,223,409;Huse,WIPO公布W092/06204)和区域定向诱变(Derbyshire等人,Gene46:145,1986;Ner等人,DNA7:127,1988)。

[0168] 毒素中和是指一种物质阻止毒素A或B对哺乳动物细胞的细胞毒性作用的能力。在用于毒素中和活性的检验中,将固定量的毒素与不同浓度的中和物质(例如,抗体)混合,将该混合物施加于哺乳动物细胞系(例如,Vero细胞)并与其培养固定的时间。该物质(抗体)完全保护细胞免受毒素A或B的细胞毒性作用(由细胞变圆表示)的稀释度可被定义为中和滴度。

[0169] 附图

[0170] 图1图解艰难梭菌毒素A和B的结构,显示在不同结构域边界的氨基酸残基。

[0171] 图2图解TxB3纯化。左图显示TxB3的4-12% SDS-PAGE分析。M1=SeeBlue® Plus2 Pre-Stained 标准,M2=MagicMark™ XP标准。右图显示用羊抗TcdB多克隆抗体对TxB3的蛋白印迹分析。M1和M2如左图所述的。

[0172] 图3图解TxB4纯化。左图显示TxB4的4-12% SDS-PAGE分析。M=SeeBlue® Plus2 Pre-Stained 标准。右图显示用羊抗TcdB多克隆抗体对TxB4的蛋白印迹分析,M=MagicMark™ XP标准。

[0173] 图4图解TxB5纯化。左图显示TxB5的4-12% SDS-PAGE分析。M=SeeBlue® Plus2 Pre-Stained标准。右图显示用羊抗TcdB多克隆抗体对TxB5的蛋白印迹分析,M=MagicMark™ XP标准。

[0174] 图5图解TxA4纯化和HRV3C蛋白酶处理的TxA4的镍亲和纯化的SDS-PAGE分析。M=分子量标志物,L=柱负载,A8=柱流通液(column flow-through)。级分A14-B14显示纯化

的TxA4。

实施例

[0175] 实施例1-衍生自毒素A和B的抗原的克隆和表达

[0176] 具有对于任何期望表达宿主(例如,大肠杆菌、巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*))的密码子偏倚的编码这些肽的基因可以商业形式得到。使用标准的分子生物学方法(例如Sambrook等人1989, *Molecular Cloning a Laboratory Manual*, 第二版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York)从这些基因表达肽。一种方便的克隆方法是Gateway[®] system(Invitrogen),其允许以模块方式组装遗传构建体。

[0177] 方案1:Gateway LR重组反应-一般方案

[0178] 材料:抗原基因(毒素A或B)进入克隆(entry clone)由Entelechon合成。Gateway[®] LR Clonase[™] II酶混合物购自Invitrogen。Gateway[®] Nova pET目的载体购自Calbiochem Nova,即Merck Chemicals Ltd.的部分。

[0179] 将毒素A或B进入克隆(1 μ l)、目的载体(1 μ l)和TE缓冲液(6 μ l)在室温在1.5ml微量离心管中混合。将LR Clonase[™] II放置在冰上2分钟并以涡旋(2x2s)简短地混合。将clonase酶(2 μ l)加入微量离心管,以轻柔移液混合各组分。将重组物在25 $^{\circ}$ C培养1小时。加入蛋白酶K溶液(1 μ l, 2 μ g/ μ l),在37 $^{\circ}$ C培养反应物10分钟。所得的溶液(1 μ l)用于转化化学感受态大肠杆菌。

[0180] 方案2:转化化学感受态细胞-一般方案

[0181] 材料:OneShot[®]BL21Star[™](DE3)和OneShot[®]TOP10化学感受态大肠杆菌以及SOC培养基购自Invitrogen。氨苄西林购自SigmaAldrich。

[0182] 将LR重组反应物或质粒DNA(1 μ l)移液到BL21Star[™]或TOP10化学感受态大肠杆菌的等份(50 μ l)中。在冰上培养混合物30分钟,随后在42 $^{\circ}$ C水浴中热激30秒。将细胞等份返回冰上,加入SOC培养基(250 μ l)。将转化物在37 $^{\circ}$ C在SOC培养基中保持1小时,伴随轨道摇动(180rpm)。将转化培养物(100-200 μ l)取出,放置到补充有氨苄西林(100 μ g/ml)的LB琼脂上。在37 $^{\circ}$ C培养板15分钟,倒置并在相同温度下保持过夜。

[0183] 实施例2-纯化本发明的抗原-艰难梭菌毒素B片段TxB3的表达和纯化

[0184] 毒素B衍生的抗原TxB3(-h)(例如,Seq ID9)作为硫氧还蛋白融合蛋白(Seq ID27)表达。

[0185] TxB3的N-his6-硫氧还蛋白融合体在含质粒pDest59TxB3的BL21Star[™](DE3)大肠杆菌中表达。从甘油细胞母液(细胞培养物<OD₆₀₀1[500 μ l]+甘油[125 μ l])接种补充有100 μ g/ml氨苄西林和0.5%葡萄糖的LB培养基(3x20ml)。在37 $^{\circ}$ C保持培养物6-7小时,伴随轨道摇动(180rpm)。每种培养物用于接种补充有100 μ g/ml氨苄西林和0.5%葡萄糖的LB培养基(100ml)。在37 $^{\circ}$ C保持培养物1小时,伴随轨道摇动(180rpm)。对补充有100 μ g/ml氨苄西林和0.1%葡萄糖的Terrific Broth(3x1L)接种LB培养物(100ml/升)并如前所述37 $^{\circ}$ C保持,直到在600nm的吸光度为0.5。通过加入IPTG至终浓度为1mM来诱导表达,并在16 $^{\circ}$ C保持培养物过夜,伴随轨道摇动(180rpm)。通过离心30分钟(3000rpm, Sorvall RC3BP离心机,转子#

H6000A)来收获细胞,重悬于低咪唑缓冲液(100ml, pH7.4, 50mM HEPES, 500mM 氯化钠, 20mM 咪唑)中,在-80℃冷冻。

[0186] (i) 硫氧还蛋白TxB3融合蛋白的镍亲和纯化

[0187] 在室温融化细胞糊,随后放置在冰上直到液化。用声裂法(30s开和30s关的10个循环)破坏细胞,通过离心30分钟(14,000rpm, Sorvall RC5C离心机,转子#SS-34)澄清所得的溶解产物。将澄清的溶解产物以1ml/min的流速施加到充有镍离子的快速流整合琼脂糖(40ml床体积)。用低咪唑缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES, 500mM 氯化钠, 20mM 咪唑)洗涤柱,直到流通液在280nm的吸光度回到接近基线水平。以连续步骤洗脱结合的材料到15、25和70%高咪唑缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES, 500mM 氯化钠, 500mM 咪唑)。汇集在70%高咪唑缓冲液洗脱的材料,并在凝血酶裂解缓冲液(20mM Tris-HCl pH8.4, 150mM 氯化钠, 2.5mM 氯化钙)中透析过夜。

[0188] (ii) 硫氧还蛋白TxB3融合蛋白的凝血酶消化

[0189] 将人类凝血酶(Novagen, 1U/mg总蛋白)加入到已经在凝血酶裂解缓冲液中透析的汇集的镍柱级分。将消化物在25℃培养4小时,并在-80℃冷冻以阻止继续裂解。

[0190] (iii) TxB3的镍亲和纯化

[0191] 将凝血酶消化物在冰上融化,加入对氨基苄胺树脂(0.1ml干燥树脂/6U凝血酶)。在冰上轻柔摇动混合物30分钟,滤出树脂。将澄清的滤液以1ml/min的流速通过充有镍离子的快速流整合琼脂糖(6ml床体积),汇集流通液,在储存缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES, 150mM 氯化钠)中透析。将溶液无菌过滤为1ml等份。获得的总蛋白是10.5mg,估计其是55%TxB3。还用羊抗TcdB多克隆抗体通过蛋白印迹分析蛋白(图2)。

[0192] 实施例3-纯化本发明的抗原-艰难梭菌毒素B片段TxB4的表达和纯化

[0193] Nus TxB4融合蛋白的大规模表达

[0194] 将一滴含质粒pDest57TxB4His的BL21Star(DE3)大肠杆菌的-80℃母液在补充有100μg/ml氨苄西林的L-琼脂上涂板并在37℃培养过夜。单菌落用于接种补充有100μg/ml氨苄西林和0.5%葡萄糖的2YT培养基(100ml)。在37℃保持培养物,伴随轨道摇动(180rpm),直到在600nm的吸光度为0.6,用作补充有100μg/ml氨苄西林和0.5%葡萄糖的Terrific Broth(2x1L)的5%接种物。如前述地保持培养物,直到在600nm的吸光度为0.6,将温度降低至16℃。热平衡后通过加入IPTG至终浓度为1mM来诱导蛋白表达,并保持培养物过夜。通过离心30分钟(3000rpm, SorvallRC3BP离心机,转子#H6000A)来收获细胞,重悬于低咪唑缓冲液(1:4细胞糊比缓冲液w/v, 50mM HEPES pH7.4, 500mM 氯化钠, 20mM 咪唑)中,在-80℃冷冻。

[0195] Nus TxB4融合蛋白的镍亲和纯化

[0196] 在室温融化细胞糊,随后放置在冰上直到液化。用声裂法(30s开和30s关的15个循环)破坏细胞,通过在4℃离心30分钟(16,000rpm, SorvallRC5C离心机,转子#SS-34)澄清所得的溶解产物。将澄清的溶解产物以2ml/min的流速施加到充有镍离子的快速流整合琼脂糖(40ml床体积)。用低咪唑缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES, 500mM 氯化钠, 20mM 咪唑)洗涤柱,直到流通液在280nm的吸光度回到接近基线水平。以一个步骤洗脱结合的材料到50%高咪唑缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES, 500mM 氯化钠, 500mM 咪唑)。由SDS-PAGE分析从柱洗脱的材料,汇集选择的级分。蛋白浓度从在280nm的吸光度确定。

[0197] Nus TxB4融合蛋白的凝血酶消化

[0198] 向每10 μ g蛋白,加入5 μ l凝血酶消化缓冲液(200mM Tris-HCl pH8.4,1.5M NaCl,25mM CaCl₂)、在凝血酶稀释缓冲液(50mM柠檬酸钠,pH6.5,200mM NaCl,0.1%PEG-8000,50%甘油)中200倍稀释的1 μ l人类凝血酶(Novagen),并加水至50 μ l的体积。在室温消化蛋白过夜,并在4℃在低咪唑缓冲液中透析。

[0199] TxB4的镍亲和纯化

[0200] 将低咪唑缓冲液中的TxB4以3ml/min的流速施加到充有镍离子的快速流整合琼脂糖(40ml床体积)。用低咪唑缓冲液洗涤柱,直到流通液在280nm的吸光度回到接近基线水平。用80mM咪唑洗涤柱,收集UV吸光度(280nm)中的所得最初峰值后洗脱的蛋白,在储存缓冲液(50mM HEPES pH7.4,150mM氯化钠)中透析。由SDS-PAGE和用羊抗TcdB多克隆抗体以蛋白印迹分析蛋白(图3)。

[0201] 实施例4-艰难梭菌毒素B片段TxB5(毒素B的残基544-2366)的表达和纯化

[0202] Nus TxB5融合蛋白的大规模表达

[0203] TxB5的N-his6-Nus融合物在含质粒pDest57TxB5的BL21Star™(DE3)大肠杆菌中表达。在补充有100 μ g/ml氨苄西林的LB培养基中的过夜培养物用作补充有100 μ g/ml氨苄西林的Terrific Broth(3L)的3%接种物。在37℃保持培养物,直到在600nm的吸光度为0.6,伴随轨道摇动(180rpm)。通过加入IPTG至终浓度为1mM来诱导表达,并在16℃保持培养物过夜,伴随轨道摇动(180rpm)。通过离心30分钟(3000rpm,Sorvall RC3BP离心机,转子#H6000A)来收获细胞,重悬于低咪唑缓冲液(250ml,pH7.4,50mM HEPES,500mM氯化钠,20mM咪唑)中。

[0204] Nus TxB5融合蛋白的镍亲和纯化

[0205] 将溶菌酶(10mg)加入重悬的细胞并搅拌混合物15分钟。用声裂法(30s开和30s关的10个循环)破坏细胞,通过离心30分钟(14,000rpm,SorvallRC5C离心机,转子#SS-34)澄清所得的溶解产物。将澄清的溶解产物的一半以2ml/min的流速施加到充有镍离子的快速流整合琼脂糖(40ml床体积)。用低咪唑缓冲液洗涤柱,直到流通液在280nm的UV吸光度回到接近基线水平。以一个步骤洗脱包括Nus TxB5的蛋白到38%(200mM咪唑)高咪唑缓冲液(pH7.4,50mM HEPES,500mM氯化钠,500mM咪唑)。以相同方式处理溶解产物的第二半,在高盐HIC缓冲液(pH7.4,50mM HEPES,750mM硫酸铵)中透析汇集的洗脱的蛋白过夜。

[0206] Nus TxB5的丁基-s疏水相互作用层析纯化

[0207] 将在高盐HIC缓冲液中汇集的蛋白溶液的一半施加到包含丁基-s-琼脂糖6快流速树脂(butyl-s-sepharose6fast flow resin)的柱(9ml床体积)。用高盐HIC缓冲液(pH7.4,50mM HEPES,750mM硫酸铵)洗涤柱,直到流通液在280nm的UV吸光度回到接近基线水平。以一个步骤从柱洗脱蛋白到100%低盐HIC缓冲液((pH7.4,50mM HEPES)。以相同方式纯化来自第一镍柱的蛋白的另一半。将洗脱的蛋白汇集在制品中,用于凝血酶消化。

[0208] Nus TxB5融合蛋白的凝血酶消化

[0209] 将从HIC柱汇集的蛋白(69mg,30ml)加入到包含10x凝血酶裂解缓冲液(15ml,200mM Tris-HCl pH8.4,1.5M氯化钠,25mM氯化钙)、去离子水(105ml)和人类凝血酶(Novagen,40U)的溶液中。在室温培养该溶液4小时,加入PMSF至终浓度为1mM。将所得的包括TxB5的蛋白在高盐HIC缓冲液中透析。

[0210] TxB5的丁基-s疏水相互作用层析纯化

[0211] 将来自凝血酶消化物的TxB5以两个批次纯化。将每个批次以1ml/min的流速在高盐HIC缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES, 750mM硫酸铵)中施加到包含丁基-s-琼脂糖6快流速树脂的柱(9ml床体积)。用高盐HIC缓冲液洗涤柱,直到流通液在280nm的UV吸光度回到接近基线水平。以一个步骤从柱洗脱蛋白到100%低盐HIC缓冲液((pH7.4, 50mM HEPES)。将洗脱的材料对缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES)透析过夜。

[0212] TxB5的Q琼脂糖离子交换层析纯化

[0213] 将缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES)中的TxB5以1ml/min的流速流经包含Q琼脂糖快速流树脂的柱(5ml床体积)。汇集流通液并在储存缓冲液(pH7.4, 50mM HEPES, 150mM氯化钠)中透析。产生大约20mg的蛋白,基于SDS-PAGE分析其中60%是TxB5。将蛋白以1ml等份冷冻在-80℃。由SDS-PAGE和用羊抗TcdB多克隆抗体用以蛋白印迹分析蛋白(图4)。

[0214] 实施例5-艰难梭菌毒素A片段TxA4(毒素A的残基770-2710)的表达和纯化

[0215] 表达

[0216] 对补充有50μg/ml卡那霉素和0.2%葡萄糖的L-肉汤(100ml)接种来自甘油冷冻物(含质粒pET28aHis6TrxHRV3CaNaturalTxA4的BL21(DE3)大肠杆菌)的一刮(scrape)并在30℃和180rpm保持过夜。过夜培养物用作补充有50μg/ml卡那霉素和0.2%葡萄糖的Terrific Broth(2L无挡板烧瓶中的4x0.5L)的2%接种物。将培养物保持在37℃,伴随轨道摇动(180rpm),直到在600nm的吸光度为0.6。将培养物的温度降低至16℃,通过加入1mM IPTG来诱导蛋白表达。在16℃保持培养物过夜,伴随如前述的轨道摇动。通过离心(Sorvall RC3BP离心机, H6000A转子, 4000g, 20分钟)来收获细胞糊(23g)。通过重悬于低咪唑缓冲液(pH7.5, 50mM Hepes, 0.5M氯化钠, 20mM咪唑)中来从离心锅回收细胞糊,并储存在-80℃。

[0217] TxA4前体的固定的镍亲和纯化

[0218] 对用85ml低咪唑缓冲液(pH7.5, 50mM Hepes, 0.5M NaCl 20mM咪唑)重悬的细胞(23g)用声裂法进行溶解。通过离心(Sorvall RC5C离心机, SS-34转子, 20,000g, 20分钟)澄清溶解产物,以1.5ml/min的流速施加到20ml镍柱(Ø 26 mm)。用10倍柱体积的低咪唑缓冲液洗涤柱,使用5倍柱体积梯度至100%高咪唑缓冲液(pH7.5, 50mM Hepes, 0.5M NaCl, 0.5M咪唑)洗脱结合的蛋白。在4-12%NuPAGE Bis-Tris聚丙烯酰胺凝胶上分析级分,以考马斯染色。

[0219] 融合伴侣和His6-标签的裂解

[0220] 汇集最纯的级分并在4℃对HRV3C裂解缓冲液(2L, pH7.5, 20mM Tris-HCl, 0.5M NaCl)透析过夜。向溶液加入HRV3C蛋白酶(10U/mg全长靶蛋白),在20℃培养5小时,随后在4℃培养过夜。

[0221] 裂解后TxA4的固定的镍亲和纯化

[0222] 将蛋白溶液(pH7.5 20mM Tris-HCl, 0.5M NaCl)以1.5ml/min的流速流经20ml镍柱(Ø 26 mm)。观察到一些蛋白在流通液中洗脱,如由UV吸光度判断的。以HRV3C裂解缓冲液短时洗涤柱,以5%高咪唑缓冲液(pH7.5, 50mM Hepes, 0.5M NaCl, 0.5M咪唑)洗脱TxA4,以25mM的咪唑浓度。以4倍柱体积梯度从柱洗脱剩余的蛋白至100%高咪唑缓冲液。汇集最纯的级分,在储存缓冲液(pH7.5 50mM Hepes, 0.5M NaCl)中透析。来自最后的纯化柱的级分显示于图5。

[0223] 实施例6-艰难梭菌毒素A片段截短的TxA4(毒素A的残基770-2389)的表达和纯化

[0224] 表达

[0225] 对补充有100 μ g/ml氨苄西林和0.5%葡萄糖的L-肉汤(100ml)接种来自在补充有100 μ g/ml氨苄西林的L-琼脂平板上的过夜生长的菌落(含pET59His6TRXtcsanaturalTxA4truncate)并在30℃和180rpm保持过夜。过夜培养物用作补充有100 μ g/ml氨苄西林和0.5%葡萄糖的Terrific Broth(2000ml无挡板烧瓶中的6x1000ml)的接种物。将培养物保持在37℃,伴随轨道摇动(180rpm),直到在600nm的吸光度为0.6。将培养物的温度降低至16℃,通过加入IPTG至1mM的终浓度来诱导蛋白表达。在16℃保持培养物过夜,伴随如前述的轨道摇动。通过离心(Sorvall RC3BP离心机,H6000A转子,4000g,30分钟)来收获细胞糊。通过重悬于Hepes缓冲液(50mM Hepes pH7.4,0.5M氯化钠)中来从离心锅回收细胞糊,并储存在-20℃。

[0226] TxA4截短前体的固定的镍亲和纯化

[0227] 对用180ml Hepes缓冲液(50mM Hepes pH7.4,500mM NaCl)重悬的细胞(44g)用声裂法进行溶解。通过以4000rpm离心20分钟(Heraeus Multifuge)澄清溶解产物。保留上清液,以5ml/分钟的流速施加到64ml琼脂糖锌柱(XK26x12)。洗涤柱,直到在280nm的吸光度减少到基线。使用50mM Hepes pH7.4,500mM氯化钠中0-250mM咪唑的梯度洗脱结合的蛋白。在4-12%NuPAGE Bis-Tris聚丙烯酰胺凝胶上分析级分,以考马斯染色。

[0228] 融合伴侣和His₆-标签的裂解

[0229] 汇集最纯的级分并在+4℃对凝血酶裂解缓冲液(20mM Tris/HCl pH8.4+150mM NaCl+2.5mM CaCl₂)透析过夜。以相对于靶蛋白1:2000wt:wt加入限制级凝血酶(Novagen)。在室温培养混合物过夜。

[0230] 裂解后TxA4截短物的固定的锌亲和纯化

[0231] 将蛋白溶液(在50mM Hepes pH7.4,500mM氯化钠中)以2ml/分钟的流速流经24ml锌柱(XK16x12)。用平衡缓冲液(50mM Hepes pH7.4,500mM氯化钠)洗涤柱,直到在280nm的吸光度减少到基线。使用50mMHepes pH7.4,500mM氯化钠中0-250mM咪唑的梯度洗脱结合的蛋白。

[0232] 实施例7-配制本发明的抗原用于免疫动物

[0233] 将浓度为0.5-2mg/ml(标称1mg/ml)的纯化的艰难梭菌抗原对合适的缓冲液(例如,含有150mM NaCl的10mM Hepes缓冲液pH7.4)透析,然后添加甲醛至终浓度0.2%并在35℃下培养达7天。培养后,任选地可通过对合适的缓冲液例如磷酸盐缓冲盐水透析来移除甲醛。

[0234] 对于绵羊,将含有10至500 μ g的上述艰难梭菌抗原的2ml缓冲液与2.6ml弗氏佐剂混合,形成乳液。佐剂混合持续进行几分钟以确保稳定的乳液。完全形式的佐剂用于初免,不完全弗氏佐剂用于所有的后续加强。

[0235] 实施例8-针对本发明的抗原的抗体的产生

[0236] 在制备抗血清期间要考虑大量常规因素以达成最佳的体液抗体应答。这些因素包括:动物品种;佐剂选择;免疫位点的数目和位置;免疫原的数量;以及给药的次数和给药之间的间隔。对于这些参数的常规优化,常规的是获得超过6g/L血清的特异性抗体水平。

[0237] 对于绵羊,如实施例7所述地制备带有弗氏佐剂的抗原的乳液。完全形式的佐剂用于初免,不完全弗氏佐剂用于所有的后续加强。使用约4.2ml的抗原/佐剂混合物来通过肌

内注射免疫每只绵羊并覆盖了包括颈部和所有上肢的6个位点。每28天重复一次这种免疫。在每次免疫后的14天取血液样品。

[0238] 为了比较对不同抗原的毒素中和免疫应答,每种抗原使用3只绵羊。如上述地免疫它们,使用相同的方案和每次免疫相同的蛋白剂量。

[0239] 实施例9-使用体外细胞检验进行的抗血清对毒素的中和功效的评价

[0240] 抗艰难梭菌毒素抗血清的毒素中和活性通过使用Vera细胞的细胞毒性检验来测量。将固定量的纯化的艰难梭菌毒素A或毒素B与多种稀释度的抗体混合,在37℃下培养30min,然后应用于生长在96孔组织培养板上的Vera细胞。毒素A和B均具有导致Vera细胞在24-72小时的期间内特征性变圆的细胞毒活性。在存在中和抗体的条件下,这种活性被抑制并且抗体制剂的中和强度可以通过中和指定量的毒素A或B的作用所需的稀释度来评估。

[0241] 展示羊抗体对多种重组艰难梭菌毒素B抗原的中和活性的数据显示在表3-6中。在这些实验中,将多种稀释度的羊抗体与终浓度为0.5ng/ml的毒素B混合并在37℃下培养30min,然后应用于上述Vera细胞并在37℃下培养,在24-72小时期间监测。计算完全保护细胞抵抗毒素B的细胞毒作用的抗体稀释度。毒素A衍生的抗原的类似数据显示在表7-10。

[0242] 总之,表3-10中的数据显示与仅包含毒素A或B的重复结构域的片段相比,本发明的融合蛋白引发毒素中和免疫应答的极佳能力。

[0243] 实施例10-使用本发明的重组抗原产生的抗血清在体内治疗CDI的功效的评价

[0244] 为证明使用重组抗原产生的抗血清在体内治疗CDI的功效,用具有针对一种或多种艰难梭菌的毒素的中和活性的抗体被动免疫叙利亚仓鼠。为评估治疗制剂的功效,在用艰难梭菌攻击后6小时至攻击后240小时的不同时间以静脉内或腹膜内途径给予仓鼠抗体。

[0245] 在被动免疫之前,给仓鼠施用广谱抗生素(例如,克林霉素)并且在12-72小时后用艰难梭菌孢子经口攻击。然后监测动物艰难梭菌相关疾病的症状多达15天。对照、未免疫的动物发展有疾病的病征(例如,腹泻、腹胀、昏睡、皱毛),而用羊抗体处理的那些则显示正常。

[0246] 实施例11-接种本发明的肽/肽片段

[0247] 由本发明的肽/肽片段表现的一种疫苗通过当前的良好作业规范来制备。使用此类规范,可将本发明的肽/肽片段与可商购获得的氢氧化铝佐剂(例如,Alhydrogel)结合。疫苗通常将包含衍生自毒素A和毒素B的本发明的抗原的组合,但还可包含毒素A或B抗原。疫苗还可包含毒素A和B抗原联合细菌或病毒来源的其他抗原。

[0248] 本发明的纯化的艰难梭菌毒素A和/或毒素B抗原可用终浓度为0.2%的甲醛处理并在35℃培养达24小时(如实施例7所述)。

[0249] 除了本发明的抗原以外,典型的疫苗组合物包括:

[0250] A)缓冲液(例如,5至20mM的Hepes缓冲液和7.0至7.5的pH;

[0251] B)使得疫苗生理学上等渗的盐组分(例如,100至150mM的NaCl);

[0252] C)佐剂(例如,以100至700μg的最终铝浓度的氢氧化铝/疫苗剂量);和

[0253] D)防腐剂(例如,0.01%硫柳汞或0.01%甲醛)。

[0254] 此类疫苗组合物通过多种不同免疫方案施用于人类,诸如:

[0255] 1.以0.5ml的单个剂量(例如,20μg本发明的吸附片段)皮下施用。

[0256] 2.以0.5ml的两个剂量(例如,10μg本发明的吸附片段)在第0和4周施用。

[0257] 3.以0.5ml的三个剂量(例如,10 μ g本发明的吸附片段)在第0、2和12周施用。

[0258] 这些接种方案赋予针对暴露于艰难梭菌毒素的同源血清型的保护水平。

[0259] 实施例12-使用固定的本发明的构建体亲和纯化IgG

[0260] 亲和层析介质的制备

[0261] 将待固定的本发明的构建体对适当的偶联缓冲液例如,含0.5M NaCl的0.1M NaHCO₃pH8.3透析。将1-3mg/ml的大约5ml蛋白溶液加入到每ml CNBr-活化的琼脂糖4B粉末。在室温底对底地旋转混合物1h或在4 $^{\circ}$ C过夜。可以采取其他轻柔的搅拌方法。然后用至少5倍介质(凝胶)体积的偶联缓冲液洗去过量的配体。然后封闭任何剩余的活性基团。将介质转移到0.1M Tris-HCl缓冲液,pH8.0或1M乙醇胺,pH8.0,并在室温培养2小时。然后用至少3个循环的交替pH(至少5倍介质体积的每种缓冲液)洗涤凝胶。每个循环应当由用包含0.5M NaCl的0.1M乙酸/乙酸钠,pH4.0洗涤、随后用包含0.5M NaCl的0.1M Tris-HCl,pH8洗涤组成。洗涤后,将凝胶转移到适当的储存缓冲液(例如,包含0.15M NaCl的50mM HEPESpH7.4,并储存在4 $^{\circ}$ C直到使用。

[0262] IgG的纯化

[0263] 使用衍生自毒素A或B的本发明的抗原如上所述地制备亲和柱。对于纯化针对毒素B的抗体,可使用构建体诸如TxB4(残基767-2366)。对于纯化针对毒素A的抗体,可使用构建体诸如TxA4(残基770-2710)。对于亲和纯化结合毒素B的抗体,用适当的缓冲液(例如,包含0.5M NaCl的20mM HEPES pH7.4缓冲液)1:1稀释包含针对毒素B的抗体的血清,将混合物施加到包含在适当的柱中填充的固定的TxB4的柱(2-6ml混合物/ml凝胶)。用至少10倍柱体积的包含0.5M NaCl缓冲液的20mM HEPES pH7.4缓冲液洗去未结合的级分(其包含血清白蛋白和非特异性IgG)后,用5倍柱体积的洗脱缓冲液(例如,100mM甘氨酸缓冲液,pH2.5)从柱洗脱结合的级分。然后立即用1M Tris-HCl pH8.0中和包含IgG的洗脱的级分到大约pH7.0。然后对包含0.15m NaCl的50mM HEPES pH7.4透析包含结合毒素B的IgG的这些级分,并冷冻储存直到需要。

[0264] 结合并中和毒素A或B的亲和纯化的IgG级分可用作治疗剂来治疗或预防CDI。它们还可用于检测毒素A或B的检验系统诸如酶联免疫吸附检验(ELISA)中。在此类诊断系统中,亲和纯化的抗体可为检验提供更高灵敏度和减少的背景干扰。

[0265] 附图和表格

[0266] 表1-毒素A受体-结合重复模块

[0267]

毒素A受体-结合 模块	氨基酸序列 (长重复区以粗体显示)
模块 1 LR = SEQ ID NO: 60 模块 1 (残基 1851-2007 = SEQ ID NO: 61)	<u>GVFKGPDGFEYFAPANTQNNIEGQAIVYQS</u> VTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNIEGQAIVYQSKFLTLNGI YFDNNSKAVTGWRIINNEKYYFNPNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDDTDAIFN
模块 2 LR = SEQ ID NO: 62 模块 2 (残基 2008-2141 = SEQ ID NO: 63)	<u>GVFSTSNNGFEYFAPANTYNNIEGQAIVYQS</u> GYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYY TNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIAST
模块 3 LR = SEQ ID NO: 64 模块 3 (残基 2142-2253 = SEQ ID NO: 65)	<u>GVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIIYQN</u> GYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIIYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYI NNAIAAHLCTINNDKYYFSYDGILQN
模块 4 LR = SEQ ID NO: 66 模块 4 (残基 2254-2389 = SEQ ID NO: 67)	<u>GVFKGPNNGFEYFAPANTHNNIEGQAIVYQN</u> GYTIERNNIFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGK YFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIAST
模块 5 LR = SEQ ID NO: 68 模块 5 (残基 2390-2502 = SEQ ID NO: 69)	<u>GVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIIYQN</u> GYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIIYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYY TNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTAIAST
模块 6 LR = SEQ ID NO: 70 模块 6 (残基 2503-2594 = SEQ ID NO: 71)	<u>GVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN</u> GYTIISGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVWTIDGNRY PNTAMGAN
模块 7 LR = SEQ ID NO: 72 模块 7 (残基 2595-2710 = SEQ ID NO: 73)	<u>GVFKGNSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN</u> GYKTIDNKNIFYFRNGLPQIGVFKGNSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKYYI PDTAMAAAGGLFEIDGVYIFFGVGVKAPGIYG

[0268] 表2-毒素B受体-结合重复模块

[0269]

毒素B受体-结合模块	氨基酸序列 (长重复区以粗体显示)
模块 1 LR = SEQ ID NO: 74 模块 1 (残基 1852-2007 = SEQ ID NO: 75)	<u>GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFI</u> DDKYYFNPIPGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQT <u>GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFT</u> GKLIIDE NIYYFDDNRYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFYFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYYFDDS GVMKV
模块 2 LR = SEQ ID NO: 76 模块 2 (残基 2008-2139 = SEQ ID NO: 77)	<u>GVFNTEGDKFYFAHHNEDLGNEEGEEISYS</u> GYTEIDGKHIFYAENGEMQIGVFNTEGDKFYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFSAVVG WKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFTINDKVYFSDSGIIES
模块 3 LR = SEQ ID NO: 78 模块 3 (残基 2140-2273 = SEQ ID NO: 79)	<u>GVFDTSDGKYFAPANTVNDNIYQAVEYS</u> GVQNIDDNIFYIDDNGIVQIGVFDTSDDGKYFAPANTVNDNIYQAVEYSGLVVRGDEVYFGETYTIETG WYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGIIMRTGLISFENNYYFNENGEMQF
模块 4 LR = SEQ ID NO: 80 模块 4 (残基 2274-2366 = SEQ ID NO: 81)	<u>GVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYT</u> GYNIEDKMFYFGEDGVMMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATG SVIIDGEEYYFDPDPTAQLVISE

[0270] 表3-用重组毒素B衍生的抗原免疫绵羊获得的中和滴度(6周时间点;2个剂量,各100μg)

[0271]

毒素B衍生的抗原 (氨基酸序列)	针对毒素B的中和滴度 (0.5ng/ml)
重组毒素 B (1756-2366)	<10
重组毒素 B (1145-2366)	960
重组毒素 B (767-2366)	2,560
重组毒素 B (543-2366)	1,280

[0272] 表4-用重组毒素B衍生的抗原免疫绵羊获得的中和滴度(18周时间点;5个剂量,各100μg)

[0273]

毒素B衍生的抗原 (氨基酸序列)	针对毒素B的中和滴度 (0.5ng/ml)
重组毒素 B (1756-2366)	80
重组毒素 B (1145-2366)	5,120
重组毒素 B (767-2366)	10,250
重组毒素 B (543-2366)	5,120

[0274] 表5-用本发明的重组毒素B衍生的抗原(TxB4;残基767-2366)免疫绵羊获得的中和滴度

[0275]

抗原	剂量数目	免疫时间段 (周)	针对毒素B的 中和滴度 (0.5ng/ml)
100μg/剂量的 重组毒素 B (残基 767-2366)	2	6	2,560
	3	10	2,560
	4	14	10,250
	5	18	10,250
	6	22	20,480

[0276] 表6-用代表重复区的重组毒素B衍生的抗原(TxB2,1756-2366)免疫绵羊获得的中和滴度

	抗原	剂量数目	免疫时间段 (周)	针对毒素B的 中和滴度 (0.5ng/ml)
[0277]	100 μ g/剂量的 重组毒素 B (残基 767-2366)	2	6	<10
		3	10	10
		4	14	10
		5	18	80

[0278] 表7-用重组毒素A衍生的抗原免疫绵羊获得的中和滴度(10周时间点)

[0279]

毒素A衍生的抗原 (氨基酸序列)	剂量数目 (100 μ g)	针对毒素A的中和滴度 (50ng/ml)
重组毒素 A (1850-2710)	3	640
重组毒素 A (770-2710)	2	7,680
重组毒素 A(770-2389)	3	10,240

[0280] 表8-用重组毒素A衍生的抗原免疫绵羊获得的中和滴度(18周时间点)

[0281]

毒素A衍生的抗原 (氨基酸序列)	剂量数目 (100 μ g)	针对毒素A的中和滴度 (50ng/ml)
重组毒素 A (1850-2710)	5	1,280
重组毒素 A (770-2710)	4	15,360

[0282] 表9-用本发明的重组毒素A衍生的抗原(TxA4;残基770-2710)免疫绵羊获得的中和滴度

	抗原	剂量数目	免疫时间段 (周)	针对毒素A的 中和滴度 (50ng/ml)
[0283]	100 μ g/剂量的 重组毒素 A (残基 770-2710)	2	10	7,680
		3	14	10,240
		4	18	15,360

[0284] 表10-用仅代表重复区的重组毒素A衍生的抗原(TxA2;残基1850-2710)免疫绵羊

获得的中和滴度

[0285]

抗原	剂量数目	免疫时间段 (周)	针对毒素A的 中和滴度 (50ng/ml)
100 μ g/剂量的 重组毒素A (残基 1850-2710)	2	6	320
	3	10	630
	4	14	1,280
	5	18	1,280

[0286] SED ID NO

[0287] SEQ ID NO:1-艰难梭菌毒素A(毒素型0)

[0288] MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTNNNENKYLQKKLNESIDVFMNKYKTSSRNR
 ALSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLYWDSEAFVNTLKKAIIVE
 SSTTEALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPTIDDIKSHLVSEYNRDETIVLESY
 RTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVDMPLPGIHSDFKTI
 SRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIESKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFA
 LGSVINQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIAPYLQ
 VGFMPPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFE
 KYVRDYTGGSLSSEDNGVDFNKNTALDKNYLLNKNIPSNVVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSI
 IIQRMNESAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIK
 LDISPKNVEVNLLGCNMFSDYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNISITIGANQYEVRIINSEGRKELLAHSGK
 WINKEEAIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIY
 YEKLEPVKNIITHNSIDDLIDEFNLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETE
 KEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYA
 QLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITIEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVL
 INMSLSIAATVASIVGIGAETIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILV
 PIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNLAAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMML
 PNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIM
 PTITTNEIRNKLSSYFDGAGGTYSLLLSSYPISITNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDI
 NKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIENLVAKSYLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDS
 KNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDN
 NTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDISFWKLFGFENINVIDKYFT
 LVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYPEPLYGIDRYIN
 KVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVINLNDSSSFYKWSTRGSDFILVRYLEESNKKILQKI
 RIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSL
 FYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEG

QAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWRI INNEKYYFNPNNIAAAGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGS
RYFFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFD
NNSKAVTGLQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIING
KHFFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRI INNKKYYFN
PNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAI
VYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYY
FNTNTFIASSTGYTSINGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDS
KAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASSTGYTIISGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEY
FAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGL
PQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGG
LFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0289] SEQ ID NO:2-艰难梭菌毒素B(毒素型0)

[0290] MSLVNRKQLEKMANVRFRTEDEYVAIILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLDINSLTDIYIDTYKKSGRN
KALKKFKEYLVTEVLELKNLTPVEKNLHFWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTVV
ESAINDTLESFRENLDPRFDYNKFFRKRMEI IYDKQKNFINYYKAQREENPELI IDDIVKTYLSNEYSKEIDELNT
YIEESLNKITQNSGNDVRNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKEIGGMYLDVDMPLG IQPDLFES
IEKPSSVTVDWFEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFMDLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAF
NSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAISEDNFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYL
RVGFFPDVKTITINLSGPEAYAAAYQDLLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLSFDDARAKAQF
EEYKRNYFEGSLGEDDNLDFSQNIIVVDKEYLLEKISSLARSSERYIHYIVQLQGDKISYEACNLFAKTPYDSVLF
QKNIEDSEIAYYNNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKED
ISPKSIEINLLGCNMFSSYSINVEETYPGKLLLVKDKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRIINSEGRRELLDHSGEWI
NKEESI IKDISSKEYISFNPKENKIVKSKNLPSTLLQEI RNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVVEE
RIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLI ESISDALCDLKQQNELED SHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEXT
IFSEYANHITTEEISKIKGTIFDVTNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQL
FSTGLNTITDAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATI IDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVN
LTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQ
DDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPN
APNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVP
IITTEYIREKLSYSFYGSGGTIALSLSQYNMGINIELSESVDWI IDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIE
ENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSE
LQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYL
KDDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESNIKSIFVNFLQSNIKFILDAN
FIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDS
CVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQV
KIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYIND
SLYYFKPPVNNLITGFVTVGD

[0291] DKYYFNPINGGAASIGETI IDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLI
IDENIYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKV

GYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNKIIYYFDDSFATAVVGWKDLED
GSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGV
FDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLI
DDIKYYFDEKGI MRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENF
EGESINYTGVLDDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYYFDPDTAQLVISE

[0292] SEQ ID NO:3-艰难梭菌毒素A(毒素型3)

[0293]

MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTNNNNENKYLQLKKLNESIDVFMNKYKNSSRNRLSNLKKD
ILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFVNTLKKAIVESSTTEALQ
LLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYKYSQINKPTVPTIDDIKSHLVSEYNRDETLLSYRTNSLRKI
NSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGVYLDVMDLPGIHSDFKTIIPRPSIGL
DRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIESKSEKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQA
LISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFTDTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIAPYLQVGFMPPEAR
STISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKASDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTG
GSLSEDNGVDFNKNTALDKNYLLNNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSIIQRNMNE
SAKSYFLSDDGESILELNKYRIPERLKNKEKVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNV
EVNLLGCNMFSDYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVRIINSEGRKELLAHSGKWINKEEAI
MSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LNKLNI ESSIGDYIYYEKLEPVK
NIIHNSIDDLIDEFNLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDI SKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYS
EHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLN
TIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLKKELEAKVGLAINMSLSIA
ATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKEYGPLKTEDDKILVPIDDLVIS
EIDFNNSI KLGTCNILAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSVYSAIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRV
FWWETGAVPGLRSLNNGTKLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKDTRNFIMPTITTDE
IRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLI
GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIENLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAYNY
TDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNGSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYVDNNTDKSID
FSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDVFVKNSDGHHNTSNFMNLFNNISFWKLFGFENINVIDKYFTLVGKTNL
GYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYPELYGIDRYINKVLIAPD
LYTSLININTNYSNEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFYKWSSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILS
NTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
SNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIIINGKHFYFNNGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQS
KFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVLQVIDNNKYFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTD
TAIAFNGYKTIDGKHFYFSDSCVVKIGVFGSGNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVT
GWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASGTIINGKYFYFNT
DGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNIAA
THLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFL
TLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDSKYYFNLNTAVAVTGWQTIDGEKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKRYFNTNTYI
ASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGRL

TIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIASTGYTIIISGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTD
ANNIEGQAI RYQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFK
GPNGFEYFAPANTDANNIDGQAI RYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGV
IYFFGVDGVKAPGIYG

[0294] SEQ ID NO:4-艰难梭菌毒素B(毒素型3)

[0295]

MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAIILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLDINSLTDIYIDTYKKSGRNKALKKFKE
YLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVFYDSNAFLINTLKKTIVESATNDTL
ESFRENLDNPRFDYNKFYRKRMEI IYDKQKNFINYKTKREENPDLIIDDI VKIYLSNEYSKDIDELNSYIEESLNK
VTENSGNDVRNFEEFKGGESFKLYEQELVERWNAAAASDILRISALKEVGGVYLDVDMPLGIQPDLFESIEKPSSVT
VDFWEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSSFESVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAFN SKGIINQ
GLISVKDSYCSNLI VKQIENRYKILNNSLNPAISEDNDNFNTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFPPDV
KTTINLSGPEAYAAAYQDLLMFKEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYF
EGSLGEDDNLD FSQNTVV DKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAKTPYDSVLFQKNIEDSE
IAYYYNPGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGLDVDSLSTEIETAIDLAKEDISP KSI EI
NLLGCNMFYSYVNVEETYPGKLLLRVKDKVSELMP SISIQSIIIVSANQYEVRI NSEGRRELLDHSGEWINKESI IK
DISSKEYISFNPKENKIIVKSKNLP ELSTLLQEIRNNSNSSDIELEKVM LAECEINVISNIDTQVVEGRIEEAKSL
TSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRFIDKETGESIFVETEKAFSEYANH
ITEEISKIKGTIFDVTNGKLVKKVNL DATHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTI
TDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQIEAKIGIMAVNLTAATTAI
ITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRD KATKVVDYFSHISLAESEGAFTSLDDKIMPPQDDLVI SEI
DFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVPNAPNRVFAW
ETGWTPLRSLENDGT KLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIR
EKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMNINIELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIENILSKLSIEDNKIILDN
HEINFSGTLNGGNFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSNSVQQKIDYIGL NSELQKNIPYS
FMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVILITGYLLKDDIKISL
SFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESNIKSIFINSLQSNTKLILD TNFIISGTT S
IGQFEFICDKDNNIQPYFIKFNLTETKYTLVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVIIS
PNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLD TNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVF
K G N T I S D K I S F N F S D K Q D V S I N K V I S T F T P S Y Y V E G L L N Y D L G L I S L Y N E K F Y I
NNFGMMVSGLVYINDSLYF KPPIKNLITGFTTIGDDKYFNP DNNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTE
DGFKYFAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYF GDNYRAAIEWQTLDDDEVYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYF
NSDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHD EDLGNEEGEALS Y
SGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYFDEDTA EAYIGISINDGKYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSD
S G I V E S G M Q N I D D N Y F Y I D E N G L V Q I G V F D T S D G Y K Y F A P A N T V N D N
IYGQAVEYSGLVRVGEDVYFGETYTIETGWIIDMENESDKYFDPETKKAYKGINVIDDIKYFDENGIMRTGLIT
FEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRY Y
FTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0296] SEQ ID5-毒素A片段-TxA3(毒素型0)(残基1131-2710)

[0297]

ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSA
IGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVEE
DTNIKIKLKDTRNFI MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIEN
GTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYL
ISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDIN
VFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISF
WKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDIS
TSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYEYKSTEGSD
FILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTY
YDESKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYFDINTGAALISYKII NGKHFFYFNDGVMQLGVFKGP
DGEYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYFDNDSKAVTGWRI INNEKYFNPNNIAA VGLQVIDNNKY
FNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQ
I VYQSKFLTNGKKYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKY
YFNTNTAIASTGYTII NGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYFGSD
SKAVTGWRI INNKKYFNPNNIAA IHLCTINNDKYFSYD GILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGF
EYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYFNL
NTAEAAATGWQTIDGKKYFNTNTFIASTGYTSINGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
QNKFLTNGKKYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASTGYTII ISGKHFFYN
TDGIMQIGVFKGPDGEYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMG
ANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTI
NGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGV DGVKAPGIYG

[0298] SEQ ID6-毒素A片段-TxA3(毒素型3)(残基1131-2710)

[0299]

ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSA
IGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVEE
DTNIKIKLKDTRNFI MPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENG
TIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLI
SNLSNTIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDIN
FMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISF
KLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDIST
SLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYEYKSTEGSD
ILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTY
YDESKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYFDINTGAALTSYKII NGKHFFYFNDGVMQLGVFKGPD
GFEYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYFDNNSKAVTGWRI INNEKYFNPNNIAA VGLQVIDNNKY
FNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNN
IEGQAI VYQSKFLTNGKKYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYFNTNTAEAAATGWQTI
DGGKYFNTNTAIASTGYTII NGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKY
YFGSDSKAVTGWRI INNKKYFNPNNIAA IHLCTINNDKYFSYD G

ILQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVT
GWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASSTGYTSINGKHFYFNT
DGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAV
TGWQTINGKKYYFNTNTSIASSTGYTIIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLY
LHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANN
IEGQAIYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0300] SEQ ID7-毒素A片段-TxA4(毒素型0)(残基770-2710)

[0301]

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LN NLKLNIESSIGDYIYYEKLEPV
KNI IHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKY
SEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITIEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLA INMSLSI
AATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVI
SEIDFNNSIKLGT CNILAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS K KIMMLPNAPSRV
FWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTN IKIKLDKDTRNFIMPTITTNE
IRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLII
GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELD D KISLIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINY
TDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSID
FSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENIN FVIDKYFTLVGKTNL
GYVEFICDNNKNIDIYFGWKTS SSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPD TGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPD
LYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYEYK WSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILS
NTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
FNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQS
KFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAA VGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTD
TAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFST SNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVT
GWQTIDSKKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIIINGKHFYFNT
DGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNIAA
IHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFL
TLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFI
ASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGL
RTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASSTGYTIIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANT
DANNIEGQAIYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGV
KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDG
VIYFFGVDGVKAPGIYG

[0302] SEQ ID8-毒素A片段-TxA4(毒素型3)(残基770-2710)

[0303]

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LN NLKLNIESSIGDYIYYEKLEPV
KNI IHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKY
SEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL

NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLA INMSLSI
AATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKEYGPLKTEDDKILVPIDDLVI
SEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSVYSAIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRV
FWWETGAVPGLRSLNNGTKLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKDRNFIMPTITDE
IRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIE NGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLII
GNQ TIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLII E INLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIA NY
TDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNGSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVVDNNTDKSID
F S I S L V S K N Q V K V N G L Y L N E S V Y S S Y L D F V K N S D G H H N T S N F M N L F L N N
ISFWKLFGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPD TGE
DISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEII VLNPNTFHKKVNINLDSSSFYK WSTE
GSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNK
TYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIESNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKII NGKHFYFNNNGVMQLGVF
KGP DGF EYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI INNEKYYFNPNNIAA VGLQVIDNN
KYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFGSNGFEYFAPANTYNNNIE
GQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAA TGWQTIDGKKYYFNTNTAEAA TGWQTIDG
KKYYFNTNTSIASTGYTII NGKYFYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYF
GSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNIAAATHLCTINNDKYYFSYD GILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGP
NGFEYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQTIDGEKYY
FNLNTAEAA TGWQTIDGKRYFNTNTYIASTGYTII NGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGF EYFAPANTHNNNIEGQAI
ILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIASTGYTII ISGKHF
YFNTDGIMQIGVFKGPDGF EYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYFEPNT
AMGANGYKTIDKNFYFRNGLPQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIDGQAI RYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGW
QTINSKVYYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0304] SEQ ID9-毒素B片段-TxB3(-h)(毒素型0)(残基1145-2366)

[0305]

MPQDDLVI SEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMV
LPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGT KLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADA
LITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYMGINIELSESDVWIIDVDN
VVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKII LNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSYKL
LISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENG FINGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKP
SFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSL
MSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFII SGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVE
PNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNIND
LSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFSKQDVPVSEI ILSFTPSYYEDGLIGYD
LGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFN
QSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAF
KGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHN
EDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVG
FVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQAVEYSGLVRVGED

VYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFG
YINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGE
EYYFDPDTAQLVISE

[0306] SEQ ID10-毒素B片段-TxB3(-h)(毒素型3)(残基1145-2366)

[0307] MPQDDLVI SEIDFNNSITLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEEL
DLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLDNGTKLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRIN
LDSNTRSFIVPVIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMNIENLNDTWIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD
IENILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSNSVQ
QKIDYIGLNSSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITK
DDVILITGYLKD DIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSL
QSNTKLILDTNFIISGTTSIGQFEFICDKDNNIQPYFIKFTNLETKYTLVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVIN
FSQKYLIGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEANTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILM
STDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISFNFSKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFG
MMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNP DNNGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFK
YFAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYFNGDNYRAAIEWQTLDDVYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDG
IMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHDEDLGNEEGEALSYS
ILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISINDGKYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIV
ESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRVGEDVYFGETYTIETGWIYD
MENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSDGIM
QIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0308] SEQ ID11-毒素B片段-TxB3(毒素型0)(残基957-2366)

[0309]

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIA
TIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLG IASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNE
LVLRDKATKVVDYFKHVS LVE TEGVF TLLDDKIMMPQDDLVI SEI
DFNNNSIVLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAW
ETGWTPLRSLDNGTKLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIR
EKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNS
HEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYS
FVDSEKENGFIN GSTKEGLFVSELDPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISL
SLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTT
SIGQFEFICDENDNIQPYFIKFTNLETNYTLVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLIGIDSCVNKVVIS
PNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN
VFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKP
VNNLITGFVTVGDDKYYFNPIINGAASIGETIIDGKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDF
TGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDD
GVMKVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGW
KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGI
VQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRVGEDVYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACK

GINLIDDIKYYFDEKGI MRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNT
LDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0310] SEQ ID12-毒素B片段-TxB3(毒素型3)(残基957-2366)

[0311]

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIA
TIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLV NNE
LILRDKATKVVDYFSHISLAESEGAFTSLDDKIMMPQDDL VISEIDFNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHF
FSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGT KLLDRIRDNYEGEFYW
RYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPITTEYIREKLSYSFYGSGGT YALSLSQYNMNI NIELNEN
DTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIENILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNFVSLTFSILEGINAVIEV
D L L S K S Y K V L I S G E L K T L M A N S N S V Q Q K I D Y I G L N S E L Q K N I
PYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKITKDDVIILTGYLKD DIK
ISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSN TKLILDTNFIISG
TTSIGQFEFICDKDNN IQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNK
V I I S P N I Y T D E I N I T P I Y E A N N T Y P E V I V L D T N Y I S E K I N I N I N D L S I R Y V V S N D G S D F I L M S T D E E N K V S Q V K I R
FTNVFKGNTISDKISFNFSKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLY
YFKPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEG
EAIDFTGKLTI DENVYFVFGDNYRAAIEWQTLDDDEVYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDGI MQKGFVNINDKTF
YFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHEDELGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDD SFT
AVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNI DDNYFYI
DENGLVQIGVFDTS DGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPET
KKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYF
AHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0312] SEQ ID13-毒素B片段-TxB4(毒素型0)(残基767-2366)

[0313] SIIKDISKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQ
IVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED SHFISFED ISETDEGFSIRFINKETGESIFVE
TEKTIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQV
YAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGI
MAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVS LVETEGVFTLLDDKI
MMPQDDL VISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDL M
VLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGT KLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTR S
FIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGT YALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILST
LSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIG
FNSELQKNIPYSFVDSEKENGFIN GSTKEGLFVSELDPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKITKDNVNILT
GYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFI
LDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLY
GIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENK
VSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLI
YINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPI NGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANT

LDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFV
SINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNKNIY
YFDDSFYAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIESGVQNI
DDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDK
YYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNT
PDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

[0314] SEQ ID14-毒素B片段-TxB4(毒素型3)(残基767-2366)

[0315]

SI IKDISSKEYISFNPKENKIIIVKSKNLPSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEGRIEE
AKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRFIDKETGESIFVETEKAI FSE
YANHI TEEISKIKGTIFDVTNGKLVKKVNLDA THEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTG
LNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIATIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNL TAA
TTAII TSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNEILRDKATKVVDFSHISLAESEGAFTSLDDKIMMPQDDL V
ISEIDFNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNR
VFAWETGWTPLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRIFYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVIT T
EYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMNIINELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIENILSKLSIEDNKI
ILDNHEINFSGTLNGGNFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSSVQQKIDYIGLNSELQKN
IPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVILTGYYLKDDI
KISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNKSIFINSLQSNTKLILDTNFIIS
GTTSIGQFEFICDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNK
VIISPNIYTDEIN ITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIR
FTNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNLYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLY
YFKPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEG
EAIDFTGKLTIDENYVYFGDNYRAAIEWQTLDDDEVYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDGMQKGFVNINDKTF
YFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHNEDLGNEEGEALS YSGILNFNKNIYYFDDSFY
AVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINN EVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFY
IDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPE
TKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKY
FAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

[0316] SEQ ID15-毒素B片段-毒素B-A杂合体(毒素型0)

[0317]

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIA
TIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAII TSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNE
LVLRDKATKVVDFYKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDL VISEIDFNNSIIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDD
IDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLNDGTKLLDRIRDNYEG
EFYWRIFYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIE
LSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINA
IIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDV
VLISKVYMDDSKPSFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKF

MNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNY
TLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDA
NYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGDNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFSKDQDVPVSEIILSF
TPSYIEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALIS
YKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINN
EKYYFNPNNIAIAVGLQVIDNKKYYFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYFFD TDAIAFNKYKTIDGKHFYFDSDCVVKIG
VFSTSN GFEYFAPANTYNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTID
GKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPN GFEYFAPANTDANN
IEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNIAIAIHLCTINNDKYYFSYD GILQNGYITIE
RNNFYFDANNESKMTGVFKGPN GFEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKY
YFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAS TGYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFK
GPN GFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTI
NGKKYYFNTNTSIAS TGYTIISGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIY
YFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAI
RYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIY

[0318] SEQ ID16-毒素B片段-毒素A-B杂合体(毒素型0)

[0319] IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LNNLKLNI ESSIGDYI
YYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDEFN LLENVSDELYELKKLNNLDEKY LISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVET
EKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDN IQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDV LNDLSTSVKVQLY
AQLFSTGLNTIYDSIQLVN LISNAVNDTINVLP TITEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVL
AINMSLSIAATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKKYGPLKTEDDKIL
VPIDDLVISEIDFN NNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS KIMM
LPNAPS RVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTN IKIKLDK DTRNFI
MPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKL IKDVL SKID
INKNKL IIGNQTIDFSGDIDNK DRYIFLTCELD D KISLII EINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNII EKINTLGLD
SKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDIN VFMKDDINTITGKY YVD
NNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHNTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENIN FVIDKYF
TLVGKTN LGYVEFICDNKNID IYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYI
NKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEI IVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYK WSTEGSDFILVRYLEESNKKILQK
IRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSELDRDHLGFKIIDNK TYYYDEDSKL VKGLININNS
LFYFDPIEFNLITGFVTVGDDKY YFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENL
EGEAIDFTGKLIIDENIYFFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFN SDGVMQKGFVSINDN
KHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDS
FTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNFY
YIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNP
ETKKACKGINLIDDIKY YFDEKGIMRTGLISFENNNYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFK
YFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRY YFTDEYIAATGSVIIDGEEYFFDPDTAQLVISE

[0320] SEQ ID17-毒素B片段-毒素A-B杂合体(毒素型0和3)

[0321]

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LN NLKLNIESSIGDYIYYEKLEPV
KNI IHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKY LISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKY
SEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLA INMSLSI
AATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKKYGPLKTEDDKILVPI
DDLVI SEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS K KIMMLPN
APSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDK DTRNFIMPT
ITTNEIRNKL SYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINK
NKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLII EINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNII EKINTLGLDSKN
IAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNT
DKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENIN FVIDKYFTLV
GKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKV
LIAPDLYTSLINI NTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSF EYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIR
IKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLF
YFDPIEFNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEG
EAIDFTGKLTIDENYVYFGDNYRAAIEWQTLDD EYVYFSTD TGRAF KGLNQIGDDKFYFNSD GIMQKGFVNINDKTF
YFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHD EDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDD SFT
AVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYFND SGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGI VESGMQNIDDNYFYI
DENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYVYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPET
KKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNI EDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYF
AHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0322] SEQ ID18-毒素A衍生的重组抗原His-NusA-[凝血酶位点]-TxA4-His

[0323]

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAL ESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWL VVDE
VTQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTTQTAQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEI
ITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVP
EIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPA
DVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDED
FATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDLA
FKLAARGVCTLEDLAEQGI DD LADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMI
MSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LN NLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVK
NIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKY LISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYS
EHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLN
TIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLA INMSLSIA
ATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVIS
EIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS K KIMMLPNAPSRV
FWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDK DTRNFIMPTITTNEI
RNKL SYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIG

NQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYT
DESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDF
SISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNLG
YVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDL
YTSLININTNYY SNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSF EYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSN
TQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKI IDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEF
NLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSK
FLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTD
AIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQAI VYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTG
WQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTD
GIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAAI
HLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLT
LNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIA
STGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRT
IDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASSTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDA
NNIEGQAI RYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDKNFYFRNGLPQIGVFKG
SNGFEYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVI
YFFGVDGVKAPGIYGGGSGGSLVPRGSGGSHHHHHH

[0324] SEQ ID19-毒素A衍生的重组抗原His-NusA-[凝血酶位点]-TxA4

[0325] HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAL SALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVDDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRI TTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGE
IITGVVKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEV
PEIGEEVIEIKAAARDPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAP
ADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDE
DFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDL
AFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTM
IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LNNLKLNI ESSIGDYIYYEKLEPV
KNI IHNSIDDLIDEFNLLENVSD ELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKY
SEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGL
NTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLP TITEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSI
AATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVI
SEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS KIMMLPNAPSRV
FWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITNE
IRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLI
GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINY
TDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSID
FSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNL
GYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPD
LYTSLININTNYY SNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSF EYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILS

NTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAAIHLCTINNDKYYFSYDGIHQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTFIASSTGYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIIVYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIIVYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0326] SEQ ID20-毒素A衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxA4

[0327] HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGLTVAKLNIHQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKFNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYKEKLEPVKNIHNSIDDLIDEFNLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITIEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGLAINMSLSIAATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNELILHDKATSVVNYFNHLSKSKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIETINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDISFWKLF GFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVPEIYNPDGTGEDIISTSLDFSYPELYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYKWKSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAAIHLCTINNDKYYFSYDGIHQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTFIASSTGYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANN

IEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSN
GFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYF
FGVDGVKAPGIYG

[0328] SEQ ID21-毒素A衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxA3

[0329] HHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLN
IDQNPGETAPKYGIRGIPTLLLKFNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESK
KYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGI
ETENLDFS KIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTN
IKIKLDDKTRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIK
KGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNL
SNIIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMK
DDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNE SVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF
GFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLD
FSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEI IVLNPNTFHKKNINLDSSSFYEYKSTEGSDFILV
RYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKI IDNKTYYYDED
SKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYK IINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGFE
YFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI INNEKYYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYFNP
TAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAI VYQ
SKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQIDS KKKYYFNTNTAEATGWQIDGKKYYFNTNTAEATGWQIDGKKYYFNT
NTAIASTGYTI IINGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAI LYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAV
TGWRI INNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFA
PANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQIDGKKYYFNLNTAEATGWQIDGKKYYFNLNTAE
AATGWQIDGKKYYFNTNTFIASSTGYTSINGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAI LYQNK
FLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASSTGYTI ISGKHFFYFNTDGI
MQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGY
KTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKV
YFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGVKAPGIYG

[0330] SEQ ID22-毒素A衍生的重组抗原-His-NusA-[凝血酶位点]-TxA3

[0331]

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEI DVRVQIDRKS GDFDTFRRWL VVDE
VTQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTTQAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKK
VNRDNISLDLGNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPIGEEVI
EIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVV
DEKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMVTDDLQAKHQA EVHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVE
EGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARG
VCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPL
KTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENL
DFS KIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKL
DKDTRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLI

KDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIE
KINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINT
ITGKYVVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENI
NFVIDKYFTLVGKTNLG YVEFICDNNKNIDIYFGWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYP
LYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYKWKSTEGSDFILVRYLEE
SNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVK
GLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPA
NTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVLQVIDNNKYYFNPDTAIIS
KGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSGFEYFAPANTYNNNIEGQAI VYQSKFLT
LNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIA
STGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRI
INNKKYYFNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTH
NNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGW
QTIDGKKYYFNTNTFIASGTYSI NGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNG
GKKYYFGSDSKAVTGWQTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTYSIISGKHFYFNTDGMQIG
VFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLYLHDNIYFNGNSKAATGWVTIDGNRYYPENTAMGANGYKTID
NKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLHLLGKIYFNGNSKAVTGWQTINGKVYYFM
PDTAMAAAGGLFEI DGVIYFFGVDGVKAPG IYG

[0332] SEQ ID23-毒素B衍生的重组抗原-His-NusA-[凝血酶位点]-TxB4-His

[0333]

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWL VVDE
VTQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTTQTAQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKK
VNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVP EIGEEVI
EIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVV
DEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVE
EGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARG
VCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKD ISS
KEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDS
INYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED SHFISFED ISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTI FSEYANHIT EE
ISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAA
KVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSS
LGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVI SEI
DFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAW
ETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIR
EKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNS
HEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNH
IQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSE GKENGFI NGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVI
TKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLD ESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVN
FLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTV

INFSQKYL YGIDSCVNKVVISPN IYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANY INE KINVNINDLSIRYVWSNDGNDFI
LMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFS DKQDVPVSEI ILSFTPSY YEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINN
FGMMVSGLIYINDSLY YFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDG
FKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNS
DGV MQKFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSG
ILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSG
IESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWI
YDMENESDKYYFN PETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDG
VMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEY YFDPDTAQLVISE
GHHHHHH

[0334] SEQ ID24-毒素B衍生的重组抗原-His-NusA-[凝血酶位点]-TxB4

[0335]

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAL ESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKS GDFDTFRRWL VVDE
VTQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTTQAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKK
VNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPIGEEVI
EIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVV
DEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQA EAHAAIDFTFKYLDIDEDFATVLVE
EGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARG
VCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSI IKDIS
SKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSD
SINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTI FSEYANHITE
EISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDA
AKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEI EAKIGIMAVNLTTATTAIITS
SLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVS LVE TEGVFTLLDDKIMMPQDDL VISEIDFN
NNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETG
WTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKL
SYSFYGSGGT YALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEI
NFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVD
SEKGENG FINGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLT
LQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ
FEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYL YGIDSCVNKVVISPN I
YTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANY INE KINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD K
TLANKLSFNFS DKQDVPVSEI ILSFTPSY YEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLY YFKPPVNN
LITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGK
LIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGV MQKFVSINDNKHYFDDSGVM
KVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKD L
EDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTI NDKVFYFSDSGIESGVQNIDDNYFYIDDNGIV
QIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFN PETKKACKG
INLIDDIKYYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTL

DENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0336] SEQ ID25-毒素B衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxB4

[0337]

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPOTA
PKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEY
ISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINY
IKDEFKLIESISDALCDLKQNELEDSEHFI SFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTI FSEYANHITTEEISK
IKGTIFDVTNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVV
ELVSTALDETIDLLPTLSEGLPI IATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLG
IASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVS LVETEGVFTLLDDKIMPPQDDL VISEIDFNNS
IVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTP
GLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYPFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYS
FYSGGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFS
GEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFV DSEG
KENGFINSTKEGLFVSELDPDVLI SKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLT LQD
EKTIKLNSVHLDSEGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLES MNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEF
ICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTD
EINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VFKDKT LA
NKL SFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLIT
GFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLII
DENIYYFDDNYRGAVEWKELDGMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVG
YTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDG
SKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVF
DTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLID
DIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFE
GESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0338] SEQ ID26-毒素B衍生的重组抗原-His-NusA-[凝血酶位点]-TxB3

[0339] HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAL SALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKS GDFDTF
RRWL VVDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRIT TQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGE
IITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEV
PEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTN DKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAP
ADVASI VVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNMTVDDLQAKHQAEAHAAIDFTTKYLDIDE
DFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDL
AFKLAARGVCTLEDLAEQGI DDLADIEGLTDEKAGAL IMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAGSMP
QDDL VISEIDFNNSI VLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVP
NAPNRVFAVETGWTPGLRSLNDGT KLLDRIRDNYEGEFYWRYPFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSF I
VPIITTEYIREKLSYSFYSGGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLS
IEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFN
SELQKNIPYSFV DSEKENGFINSTKEGLFVSELDPDVLI SKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTG

YLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILD
ANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGI
DSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVS
QVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYI
NDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLD
ENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSI
NDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYF
DDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFFYFSDSGIIESGVQNIDD
NYFYIDDNGIVQIGVFDTSYGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYY
FNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPD
GFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYYFDPDTAQLVISE

[0340] SEQ ID27-毒素B衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxB3(-杂合
体)

[0341] HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLN
IDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDD
LVISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAP
NRVFAWETGWTPGLRSLDGTGLLDRIIRDNYEGEFYWRIFYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPII
TTEYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEEN
KIIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQ
KNIPYSFVDSEKENGFIINGSTKEGLFVSELDPDVLIISKVYMDDSKPSFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKD
DIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFI
ISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCV
NKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKI
RFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSL
YYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLE
GEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSINDNK
HYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF
TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFY
IDDNGIVQIGVFDTSYGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPE
TKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKY
FAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYYFDPDTAQLVISE

[0342] SEQ ID28-毒素A衍生的重组抗原-His-[线性间隔子]-NusA-[凝血酶位点]-TxA4

[0343]

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATAT
KKKYEQEI DVRVQIDRKS GDFDTFRRWL VVDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTTAKQ
VIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPE
ARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVP EIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDRIDPVGACVGMRGARVQAVSTEL
GGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNQGNVRLASQLSGWELNVMTVDD
LQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQA

QEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASG
ALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI
LNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDEFNLLENVSELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYS
VRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSN
KDVNLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITIEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDE
HDPLLKKELEAKVGVLA INMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLS
ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSA
IGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYE
DTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENG
TIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLII EINLVAKSYSLLLSGDKNYLI
SNLSNII EKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINV
FMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFW
KLFGFENIN FVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNKNKID IYFGEWKTSSSKSTIFSGNRNVVVEPIYNPD TGEDIST
SLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYKWKSTEGSDF
ILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKI IDNKTYYY
DEDSKLVKGLIN INNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGP
DGF EYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI INNEKYFFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKY
FNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSGFEYFAPANTYNNNIEGQA
IVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKY
YFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSD
SKAVTGWRI INNKYYFNPNNAAIAAHLCTINNDKYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGF
EYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNL
NTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
QNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTYTIISGKHFYFN
TDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMG
ANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTI
NGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG.

[0344] SEQ ID29-毒素A衍生的重组抗原-His-[螺旋间隔子]-NusA-[凝血酶位点]-TxA4
[0345]

HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALE
SALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVDDEVTPQTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRI
TTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGV
LYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARV
QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWEL
NVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNA
LATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICW
FGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASV
SPDTKFI LNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDEFNLLENVSELYELKKLNNLDEKYLISFEDIS
KNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQS

LIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGPIVSTILDGINLGAA
IKELLDEHDPLKKKELEAKVGVLA INMSLSIAATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVV
NYFNHLSSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP
SLSIYSAIGIETENLDFS KKIIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAIT
TLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVR
EISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTI DFGSDIDNKDRYIFLTCELD DDKISLII EINLVAKSYSLLLS
GDKNYLISNLSNII EKINTLGLDSKNIA NYTDESNNKYFGAIS KTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDF
IAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF
LDNISFWKLF GFENIN FVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI DIYFGWK TSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNP
DTGEDI STSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEI IVLNPNTFHKKVNI NLDSSSFEYK
WSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKI
IDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKI INKHFYFNNDGVMQ
LGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI INNEKYYFNPNNAAIAAVGLQV
IDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSNGF EYFAPANTYN
NNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAEATGWQ
TIDGKKYYFNTNTAIASTGYTI INKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGF EYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGK
KYYFGSDSKAVTGWRI INNKYYFNPNNAAIAAHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYIT IERNNFYFDANNESKMVTGV
FKGPNGF EYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEATGWQTIDG
KKYYFNLNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGF EYFAPANTHNNNI
EGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTI IS
GKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGF EYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLYLHDNIY YFGNNSKAATGWVTIDGNRYFF
EPNTAMGANGYKTIDKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGF EYFAPANTDANNIEGQAI RYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKA
VTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0346] SEQ ID30-毒素A衍生的重组抗原-His-NusA-[线性间隔子]-[凝血酶位点]-TxA4

[0347] HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAL SALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKS GDFDTF
RRWL VVDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVT FDRIT TQTAKQVIVQKVRE AERAMVVDQFREHEGE
IITGVVKKVNRDNISLDLGNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEV
PEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAP
ADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVM TVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDE
DFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDL
AFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSG
GSGGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LNNL
KLNI ESSIGDYIYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDFNLL ENVSDELYELKKLNNLDEKYLI SFEDISKNNSTYSVRFI
NKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVL
NDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPL
LKKELEAKVGVLA INMSLSIAATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKK
YGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIE
TENLDFS KKIIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTN
IKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIK

KGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNL
SNIIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMK
DDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYLNE SVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF
GFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDI
STSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYKWSTR
EGSDFILV
RYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTY
YDDE
SKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYFDINTGAALISYKIIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKG
PDGFE
YFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTNGKKYFDNDSKAVTGWRIINNEKYFNPNNIAAAGVLQVIDNNKY
FNP
TAIISKGWQTVNGSRYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYSDCVVKIGVFSTSNGFYFAPANTYNNNIEGQAI
IVYQ
SKFLTNGKKYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYFNTNTAEAAATGWQTIDGKK
YFNT
NTAIASTGYTIIINGKHFFYNTDGMQIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQAIILYQNEFLTNGKKYFNG
SDSKA
VTGWRIINNKKYFNPNNIAAAIHLCTINNDKYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPN
GFYF
APANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTNGKKYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKY
FNLNT
AEAAATGWQTIDGKKYFNTNTFIASTGYTSINGKHFFYNTDGMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQA
ILYQNK
FLTNGKKYFNGSDSKAVTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASTGYTIIISGKHFF
YNTD
GMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLYLHDNIYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAM
GANG
YKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLHLLGKIYFGNNSKAVTGWQ
TINGK
VYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0348] SEQ ID31-毒素A衍生的重组抗原-His-NusA-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-TxA4

[0349] HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEI DVRVQIDRKS
GDFDTF
RRWLVDDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRI TTQTAKQVIVQKVREAERAMV
VDQFREHEGE
IITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEML
IELFRIEV
PEIGEEVIEIKAAARDPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFV
INAMAP
ADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEEAHAAIDT
FTKYLDIDE
DFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLN
LEGVDRDL
AFKLAARGVCTLEDLAEQGI DD LADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKE
AAAKEAAAK
EAAAKAAAGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTL LLDAS
VSPDTK
FILNNLKLNI ESSIGDYIYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDEFNLLENVSD ELYELKKLNNLDEKYLISFED
ISKNNST
YSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFI
QSLIDYS
SNKDV LNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLP TITEGIPIVSTILDGINLGA
AIKELL
DEHDPLLKKELEAKVGVLA INMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKAT
SVVNYFNH
LSESKKYGLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIP
SLSIY
SAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYA
ITTLKPV
YEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEV
REISIE
NGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLS
GDKNY
LISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDF
IAEDI
NVFMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYLNE SVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF
LDNIS
FWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPI
YNPDTGEDI
STSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYKWSTR
EGS

DFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTY
YYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKINGKHFYFNNDGVMQLGVFKG
PDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKY
YFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQ
AIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQIDSCKYYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQIDGKK
YYFNTNTAIASTGYTIIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAIAAHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNG
FEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYYFN
LNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIL
YQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIIISGKHFYF
NTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLYLHDNIYFYGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAM
GANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLHLLGKIYFYGNNSKAVTGWQ
INGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0350] SEQ ID32-毒素A衍生的重组抗原-His-[线性间隔子]-NusA-[凝血酶位点]-TxA3
[0351]

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATAT
KKKYEQEI D VRVQIDRKSGDFDTRRWLVVDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTTAKQ
VIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPE
ARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTEL
GGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDD
LQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQA
QEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGI DDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASG
ALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVT
GNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS KIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLY
PGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNI
NLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLII GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKIS
LIIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKN
ILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYL NESVYSSYLDF
VKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTI
FSGNGRNVVVEPIYNPD TGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTF
HKKVNI NLDSSSFYK WSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKS
FNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYK
IINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEK
YYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVF
STSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQIDSCKYYFNTNTAEAAATGWQIDGK
KYYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIE
GQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAIAAHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERN
NFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQIDGKKYYF
NLNTAEAAATGWQIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPN

NGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYY
FNTNTSIASGTYYTIIISGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLYLHDNIYYFGNNS
KAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNR
LHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEI DGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0352] SEQ ID33-毒素A衍生的重组抗原-His-[螺旋间隔子]-NusA-[凝血酶位点]-TxA3

[0353] HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPR
EKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVDDEVTPQPTKEITLEAARYEDESNLGDYVEDQI
ESVTFDRITTTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFR
PGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGAC
VGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLA
SQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEA
LRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALI
MAARNICWFGEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSISIKLT
CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSL
ENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGG
TYSLLLSSYPITNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIEGNTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNK
DRYIFLTCELDDKISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISK
TSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVN
GLYLNESVYSSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNKNID
IYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYS
NEYYPEIIVLNPNTFHKKNVINLSSSFYEYKSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKD
IKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKK
YYFDINTGAALISYKINGKHFFYFNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIYQSKFLTNGKKYYFDN
DSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGK
HFYFSDSCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIIDSKKYYFNT
NTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIIINGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPNG
FEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFS
YDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTNGKKYYFDNDSK
AVTGWQTIIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFFY
FNTDGMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTA
VAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTYYTIIISGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNR
FLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTD
ANNIEGQAIYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGI
YG

[0354] SEQ ID34-毒素A衍生的重组抗原-His-NusA-[线性间隔子]-[凝血酶位点]-TxA3

[0355]

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVDDE
VTQPTKEITLEAARYEDESNLGDYVEDQIESVTFDRITTTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKK
VNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVI

EIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVV
DEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVM TVDDLQAKHQAEEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVE
EGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARG
VCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVP
RSGSAAAPFTMESKKYGLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSI
SSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNI
DNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTI DFGSDIDNK DRYIFLTCELDDKISLII EINLVAKSY
SLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEF
NSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSN
FMNLF LDNISFWKLG FENIN FVIDKYFTLVGKTNLG YVEFICDNNKNIDIYGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEP
IYNPDTGEDI STSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINL DSSS
FEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKG ILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDH
LGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP IEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKII NGKHFYFNN
DGVMLGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI INNEKYYFNPNNIAIAA
VGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFST SNGFEYFAP
ANTYNNN IEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTI DSKKYYFNTNTAE AATGWQTI DSKKYYFNTNTAE
AATGWQTI DSKKYYFNTNTAIASTGYTI INGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPN GFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEF
LTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRI INNKYYFNPNNIAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNES
KMTGVFKGPN GFEYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTI DSKKYYFNLNTAE AATG
WQTI DSKKYYFNLNTAE AATGWQTI DSKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPN GFEYFAPAN
THNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIAS
TGYTIIISGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPDGF EYFAPANTDANN IEGQAI RYQNRFLYLHDN
IYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANN
IEGQAI RYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG
[0356] SEQ ID35-毒素A衍生的重组抗原-His-NusA-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-TxA3
[0357] HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKS GDFDTF
RRWL VVDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVT FDRIT TQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGE
IITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEV
PEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAP
ADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVM TVDDLQAKHQAEEAHAAIDTFTKYLDIDE
DFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDL
AFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAK
EAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMESKKYGLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHT
VTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRD
LYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPIST
NINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTI DFGSDIDNK DRYIFLTCELDDK
ISLII EINLVAKSY SLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDS
KNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYL NESVYSSYL

DFVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKS
TIFSGNGRNVVVEPIYNPD TGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPN
TFHKKVNINLDSSSFYK WSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNF
KSFNSENELDRDHLGFKI IDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP IEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALIS
YKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINN
EKYYFNPNNIAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIG
VFSTSNGF EYFAPANTYNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTID
GKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGF EYFAPANTDANN
IEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNIAIAIHLCTINNDKYYFSYD GILQNGYITIE
RNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGF EYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKY
YFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAS TGYTSINGKHFYFNTDGI MQIGVFK
GPNGF EYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKK
YYFNTNTSIAS TGYTIIISGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPDGF EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGN
NSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGF EYFAPANTDANNIEGQAIRYQN
RFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIY G

[0358] SEQ ID36-毒素A衍生的重组抗原-His-[线性间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxA4

[0359]

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKI IHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPC
KMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI DQNP GTAPKYGIRG IPTLLL FKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALV
PRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLS SKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNN
LKLNI ESSIGDYIY EKLEPVKNI IHNSIDDLIDFNLL ENVSDELYELKKLNLDEKYLI SFEDISKNNSTYSVRF
INKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDV
LNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDP
LLKKELEAKVGLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSEK
KYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGI
ETENLDFS KIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTN
IKIKL DKDTRNFIMPTIT TNEIRNKLSY SFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIK
KGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNK DRYIFLTCELD DDKISLII EINLVAKSY SLLSGDKNYLISNL
SNIIEKINTLGLDSKNIA NYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMK
DDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF
GFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPD TGEDISTSLD
FSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYK WSTEGSDFILV
RYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDI KKL SLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKI IDNKTYYYDE
DSKLVKGLININNSLFYFDP IEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGF
EYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAIAAVGLQVIDNNKYYFNP
DTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGF EYFAPANTYNNNIEGQAI VY
QSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFN
TNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGF EYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKA

VTGWRI INNKKYFFNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYF
APANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQA ILYQNK
FLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTI IISGKHFYFNTDGI
MQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANG
YKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGK
VYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0360] SEQ ID37-毒素A衍生的重组抗原-His-[螺旋间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位
点]-TxA4

[0361]

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFW
AEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI DQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDA
NLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPD
TKFILNNLKLNI ESSIGDYIYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDFNLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNN
STYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLID
YSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITIEGPIVSTILDGINLGAAIKE
LLDEHDPLLKKELEAKVGVLA INMSLSIAATVASIVGIGA EVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYF
NHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
IYSAIGIETENLDFS KIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLK
PVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREIS
IENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLII GNQTI DFGSDIDNK DRYIFLTCELD DDKISLII EINLVAKSYSLLSGDK
NYLISNLSNII EKINTLGLDSKNIA NYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAE
DINVFMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDN
ISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPD TGE
DISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEI IIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYK WSTE
GSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNK
TYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKII NGKHFYFNNDGVMQLGVF
KGP DGFYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI INNEKYYFNPNNIAA AVGLQVIDNN
KYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSGFEYFAPANTYNNNIE
GQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDG
KKYYFNTNTAIASTGYTI INGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQA ILYQNEFLTNGKKYYF
GSDSKAVTGWRI INNKKYFFNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGP
NGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYY
FNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQA
ILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTI IISGKHF
YFNTDGI MQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNT
AMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANN IEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTG
WQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0362] SEQ ID38-毒素A衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[线性间隔子]-[凝血酶位

点]-TxA4

[0363] HHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLN
IDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSG
GSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI LNNLKLN
IESSIGDYIYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDEFNLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKS
NGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDL
STSVKQVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLKK
ELEAKVGVLA INMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKYGP
LKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETEN
LDFSCKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIK
LDKDRNFIMPTITTTNEIRNKLSSYFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENTIKKGL
IKDVL SKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNII
EKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDIN
TITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFEN
INFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YE
PLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYKWSTRGSDFILVRYLE
ESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKI IDNKTYYYDEDSKLV
KGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFYFAP
ANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYFFNPNNAAAVGLQVIDNNKYFFNPDTAII
SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSNGFYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFL
TLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAI
ASTGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQAIIYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWR
IINNKKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFYFAPANT
HNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATG
WQTIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAIIYQNKFLTNG
GKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTYSINGKHFYFNTDGMQIG
VFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTID
NKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFM
PDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0364] SEQ ID39-毒素A衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-TxA4

[0365] HHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLN
IDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAA
AKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFI L
NNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDEFNLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSV
RFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNK
DVLNDLSTSVKQVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEH
DPLKKKELEAKVGVLA INMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLS
SESKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAI

GIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYED
TNIKIKLKDTRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENTG
IKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLIS
NLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVF
MKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLF LDNISFWK
LFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTS
LDFSYPELYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYEYKWSTRGSDFI
LVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYD
EDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDG
FEYFAPANTQNNNIEGQAIYVQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYFNPNNIAAAGVGLQVIDNNKYFNP
PDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNCFEYFAPANTYNNNIEGQAI
YQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYF
NTNTAIASTGYTIIINGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNCFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSK
AVTGWRIINNKKYYFNPNNIAAAIHLCTINNDKYFSDYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNCFEY
FAPANTHNNNIEGQAIYVQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEATGWQTIDGKKYYFNLNT
AEATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNCFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQ
KFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWQTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIIISGKHFFYFNTD
GIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYRQNRFLYLHDNIYFNGNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGAN
GYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGPNCFEYFAPANTDANNIEGQAIYRQNRFLHLLGKIYFNGNSKAVTGWQTING
KVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGVKAPGIYG

[0366] SEQ ID40-毒素A衍生的重组抗原-His-[线性间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxA3

[0367]

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPC
KMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIQNPGTAPKYGIRGIPTLLL FKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALV
PRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGSGHTVTGNI
DHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGK
FYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLS
KDDLWIFNIDNEVREISIENTGIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIE
EINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILE
FYNDSTLEFNSKDFIAEDINVF MKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKN
SDGHHNTSNFMNLF LDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSG
NGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYPELYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKK
VNINLDSSSFYEYKWSTRGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSN
FKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALI
SYKIIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIYVQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN
NEKYFNPNNIAAAGVGLQVIDNNKYFNPDTAIIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKI
GVFSTSNCFEYFAPANTYNNNIEGQAIYVQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEATGWQTI
DGKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIIINGKHFFYFNTDGI MQIGVFKGPNCFEYFAPANTDAN

NIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITI
ERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKK
YYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGI MQIGVF
KGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGK
KYYFNTNTSIASTGYTII SGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFG
NNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQ
NRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0368] SEQ ID41-毒素A衍生的重组抗原-His-[螺旋间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位
点]-TxA3

[0369]

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFW
AEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI DQNP GTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDA
NLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSG
HTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSI
RDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDDKTRNFIMPTITTNEIRNKLSYFSDGAGGTYSLLLSSYPI
STNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTI DFGSDIDNKDRYIFLTCELD
DKISLII EINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKK
DSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSS
YLDVFKNSDGHHTSNFMNLF DNISFWKLFGFEN INFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGWKTSS
SKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVL
NPNTFHKKNINLDSSSFYKWSTRSGDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIM
SNFKSFENSENELDRDHLGFKI IDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP IEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAA
LISYKI INKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI
INNEKYYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDSCVV
KIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQ
TIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTII NGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGFYFAPANTD
ANN IEGQAILYQN EFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNG
YITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNN IEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQ
TIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGI
MQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGW
QTINGKKYYFNTNTSIASTGYTII SGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHD
NIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEG
QAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0370] SEQ ID42-毒素A衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[线性间隔子]-[凝血酶位
点]-TxA3

[0371] HHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI
DQNP GTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSG
GSLVPRGSGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFF
SSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWR

FYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDDKTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINL
VAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYND
STLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDVFNKSDGH
HNTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRN
VVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEEYYPEIIVLNPNTFHKKNIN
LDSSSF EYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENEL
DRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKII NGKH
YFNNDGVMQLGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNN
AIAAVGLQVIDNNKYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKH FYFSDCVVKIGVFSTSGFE
YFAPANTYNNNIEGQAIIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTN
TAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH FYFNTDGMQIGVFKGPNGF EYFAPANTDANNIEGQAILYQ
NEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDAN
NESKMVTGVFKGPNGF EYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEA
ATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKH FYFNTDGMQIGVFKGPNGF EYFA
PANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSI
ASTGYTIISGKH FYFNTDGMQIGVFKGPDGF EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWV
TIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKI
YYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0372] SEQ ID43-毒素A衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-TxA3

[0373]

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNP GTA
PKYGIRGIPTLLL FKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGS
LVPRGSGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGSGHTVTGNIDHFFSS
PSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS KIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFY
AFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDDKTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWI
FNIDNEVREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVA
KSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDST
LEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDVFNKSDGHHN
TSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVV
VEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLD
SSSF EYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDR
DHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKII NGKH FYF
NNDGVMQLGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAIIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAI
AAVGLQVIDNNKYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKH FYFSDCVVKIGVFSTSGFEYF
APANTYNNN IEGQAIIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNT
AEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKH FYFNTDGMQIGVFKGPNGF EYFAPANTDANNIEGQAILYQN
EFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANN

ESKMTVGFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTDGKKYYFNLNTAEAA
TGWQTDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGFEYFAP
ANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA
STGYTIIISGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIQRYQNRFLYLHDNIYFNGNSKAATGWVT
IDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNGFEYFAPANTDANNIEGQAIQRYQNRFLHLLGKIY
YFGNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0374] SEQ ID44-毒素B衍生的重组抗原-His-[线性间隔子]-NusA-[凝血酶位点]-TxB4

[0375]

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATAT
KKKYEQEI D V R V Q I D R K S G D F D T F R R W L V V D E V T Q P T K E I T L E A A R Y E D E S L N L G D Y V E D Q I E S V T F D R I T T Q T A K Q
V I V Q K V R E A E R A M V V D Q F R E H E G E I I T G V V K K V N R D N I S L D L G N N A E A V I L R E D M L P R E N F R P G D R V R G V L Y S V R P E
A R G A Q L F V T R S K P E M L I E L F R I E V P E I G E E V I E I K A A A R D P G S R A K I A V K T N D K R I D P V G A C V G M R G A R V Q A V S T E L
G G E R I D I V L W D D N P A Q F V I N A M A P A D V A S I V V D E D K H T M D I A V E A G N L A Q A I G R N G Q N V R L A S Q L S G W E L N V M T V D D
L Q A K H Q A E A H A A I D T F T K Y L D I D E D F A T V L V E E G F S T L E E L A Y V P M K E L L E I E G L D E P T V E A L R E R A K N A L A T I A Q A
Q E E S L G D N K P A D D L L N L E G V D R D L A F K L A A R G V C T L E D L A E Q G I D D L A D I E G L T D E K A G A L I M A A R N I C W F G D E A S G
A L V P R G S V T S L Y K K A G S A A P F T M S I I K D I S S K E Y I S F N P K E N K I T V K S K N L P E L S T L L Q E I R N N S N S S D I E L E E K V
M L T E C E I N V I S N I D T Q I V E E R I E E A K N L T S D S I N Y I K D E F K L I E S I S D A L C D L K Q Q N E L E D S H F I S F E D I S E T D E G F
S I R F I N K E T G E S I F V E T E K T I F S E Y A N H I T E E I S K I K G T I F D T V N G K L V K K V N L D T T H E V N T L N A A F F I Q S L I E Y N S
S K E S L S N L S V A M K V Q V Y A Q L F S T G L N T I T D A A K V V E L V S T A L D E T I D L L P T L S E G L P I
I A T I I D G V S L G A A I K E L S E T S D P L L R Q E I E A K I G I M A V N L T A T T A I I T S S L G I A S G F S I L L V P L A G I S A G I P S L V N
N E L V L R D K A T K V V D Y F K H V S L V E T E G V F T L L D D K I M P Q D D L V I S E I D F N N S I V L G K C E I W R M E G G S G H T V T D D I D
H F F S A P S I T Y R E P H L S I Y D V L E V Q K E E L D L S K D L M V L P N A P N R V F A W E T G W T P G L R S L E N D G T K L L D R I R D N Y E G E F
Y W R Y F A F I A D A L I T T L K P R Y E D T N I R I N L D S N T R S F I V P I I T T E Y I R E K L S Y S F Y G S G G T Y A L S L S Q Y N M G I N I E L S
E S D V W I I D V D N V R D V T I E S D K I K K G D L I E G I L S T L S I E E N K I I L N S H E I N F S G E V N G S N G F V S L T F S I L E G I N A I I
E V D L L S K S Y K L L I S G E L K I L M L N S N H I Q Q K I D Y I G F N S E L Q K N I P Y S F V D S E G K E N G F I N G S T K E G L F V S E L P D V V L
I S K V Y M D D S K P S F G Y S N N L K D V K V I T K D N V N I L T G Y Y L K D D I K I S L S L T L Q D E K T I K L N S V H L D E S G V A E I L K F M N
R K G N T N T S D S L M S F L E S M N I K S I F V N F L Q S N I K F I L D A N F I I S G T T S I G Q F E F I C D E N D N I Q P Y F I K F N T L E T N Y T L
Y V G N R Q N M I V E P N Y D L D D S G D I S S T V I N F S Q K Y L Y G I D S C V N K V V I S P N I Y T D E I N I T P V Y E T N N T Y P E V I V L D A N Y
I N E K I N V N I N D L S I R Y V W S N D G N D F I L M S T S E E N K V S Q V K I R F V N V F K D K T L A N K L S F N F S D K Q D V P V S E I I L S F T P
S Y Y E D G L I G Y D L G L V S L Y N E K F Y I N N F G M M V S G L I Y I N D S L Y Y F K P P V N N I T G F V T V G D D K Y Y F N P I N G G A A S I G E
T I I D D K N Y Y F N Q S G V L Q T G V F S T E D G F K Y F A P A N T L D E N L E G E A I D F T G K L I I D E N I Y Y F D D N Y R G A V E W K E L D G E M
H Y F S P E T G K A F K G L N Q I G D Y K Y Y F N S D G V M Q K G F V S I N D N K H Y F D D S G V M K V G Y T E I D G K H F Y F A E N G E M Q I G V F N T
E D G F K Y F A H H N E D L G N E E G E E I S Y S G I L N F N N K I Y Y F D D S F T A V V G W K D L E D G S K Y Y F D E D T A E A Y I G L S L I N D G Q Y
Y F N D D G I M Q V G F V T I N D K V F Y F S D S G I I E S G V Q N I D D N Y F Y I D D N G I V Q I G V F D T S D G Y K Y F A P A N T V N D N I Y G Q A V
E Y S G L V R V G E D V Y Y F G E T Y T I E T G W I Y D M E N E S D K Y Y F N P E T K K A C K G I N L I D D I K Y Y F D E K G I M R T G L I S F E N N N Y
Y F N E N G E M Q F G Y I N I E D K M F Y F G E D G V M Q I G V F N T P D G F K Y F A H Q N T L D E N F E G E S I N Y T G W L D L D E K R Y Y F T D E Y I
A A T G S V I I D G E E Y Y F D P D T A Q L V I S E .

[0376] SEQ ID45-毒素B衍生的重组抗原-His-NusA-[线性间隔子]-[凝血酶位点]-TxB4

[0377]

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDE
VTQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTTQAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKK
VNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVI
EIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASI
VDEKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVE
EGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARG
VCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVP
RGSGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEI RNNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISN
IDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLI ESISDALCDLKQQNELED SHFISFED ISETDEGFSIRFINKETGES
IFVETEKTI FSEYANHI TEEISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAM
KVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATI IDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEA
KIGIMAVNLTTATTAIITSSGLIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVS LVEGVTLL
DDKIMPPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLS
KDLMLPNAPNRVFAWETGWTPLGRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDS
NTRSFIPITTEYIREKLSYSFYGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGI
LSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKID
YIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVN
ILTGYLKD DDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDES GVAEILKFMNRKGN TNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSN I
KFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQK
YLYGIDSCVNKVVISPN IYTDENITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTS
EENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFS DKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNF GMMV
SGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFFNPINGGAASIGETIIDDKNYFFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFA
PANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLN QIGDYKYFFNSDGV MQ
KGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFN
NKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVG FVTINDKV FYFSDSGIIESG
VQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLV RVGEDVYYFGETYTI
ETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFY
FGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYFDPDTAQ
LVISE.

[0378] SEQ ID46-毒素B衍生的重组抗原-His-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-NusA-B4

[0379]

HHHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALE
SALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDR I
TTQAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGV
LYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARV
QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASI VDEKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWEL
NVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNA
LATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICW

FGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSD
IELEEKVMLTECEINVISN IDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIIESISDALCDLKQQNELED SHFISFED
ISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFI
QSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLG
AAIKELSETSDPLLRRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATK
VVDFYKHSVLSVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSNIVLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYR
EPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRIFYAFIADA
LITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDN
VVRDVTIESDKIKKGDLEGLSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLL
LISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFIINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKP
SFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSL
MSFLESMNIXSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFTLETNYTLYVGNRQNMIVE
PNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLIGIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNIND
LSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYEDGLIGYD
LGLVSLYNEKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETIIDDKNYFNF
QSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAF
KGLNQIGDYKYFNSDGVMMQKGFVSINDN KHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHH
NEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQV
GFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTS DGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRGE
DVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQF
GYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDG
EEYYFDPDTAQLVISE

[0380] SEQ ID47-毒素B衍生的重组抗原-His-NusA-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-TxB4

[0381] HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAL SALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWL VVDEV TQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRIITQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGE
IITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEV
PEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAP
ADVASI VVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDE
DFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDNKPADDLLNLEGVDRDL
AFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIM AARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAK
EAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEE
KVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIIESISDALCDLKQQNELED SHFISFEDISETDE
GFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEY
NSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKEL
SETSDPLLRRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFK
HVSLSVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSNIVLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSI
YDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRIFYAFIADALITTLK
PRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVT
IESDKIKKGDLEGLSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGEL

KILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKPSFGYYS
NNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLES
MNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDL
DSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYV
WSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYIEDGLIGYDLGLVSL
YNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETIIDDKNYFYNQSGVLQ
TGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQI
GDYKYFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLGNE
EGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTIND
KVIFYSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTS DGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYFGE
TYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIED
KMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDP
DTAQLVISE

[0382] SEQ ID48-毒素B衍生的重组抗原-His-[线性间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxB4

[0383] HHHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVD
FVAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNP GTAPKYGIRGIPTLLL FKNGEVAATKVGALSKGQLKEFL
DANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDI
ELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED SHFISFEDIS
ETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTI FSEYANHITEEISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQS
LIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAA
IKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKV
DYFKHVS LVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREP
HLSTYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLNDGT KLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALI
TTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYMGINIELSESDVWIIDVDNV
RDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKII LNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLI
SGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKPSF
GYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMS
FLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPN
YDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
IRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYIEDGLIGYDLG
LVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETIIDDKNYFYNQS
GVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKG
LNQIGDYKYFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNED
LGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFV
TINDKVIFYSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTS DGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVY
YFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYI
NIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEY
YFDPDTAQLVISE

[0384] SEQ ID49-毒素B衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[线性间隔子]-[凝血酶位点]-TxB4

[0385] HHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALALGGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSLVPRGSGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED SHFISFEDISSETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTI FSEYANHITTEEISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVI TKDNVNILTYGYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNF LQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFI LMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINFGMMVSGLIYINDSLYFFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFFNPINGGAASIGETIIDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTS DGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGI MRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

[0386] SEQ ID50-毒素B衍生的重组抗原-His-[螺旋间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxB4

[0387]

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED SHFISFEDISSETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTI FSEYANHITTEEISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISG

ELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKGKENGFI NGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKPSFGY
YSNNLKDVKVI TKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFL
ESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYD
LDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFS DKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLV
SLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETIIDDKNYFFNQSGV
LQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLN
QIGDYKYFFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLG
NEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDED TAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVT
INDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYY
FGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYIN
IEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYY
FDPDTAQLVISE

[0388] SEQ ID51-毒素B衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-TxB4

[0389] HHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLN
IDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAA
AKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMSI IKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVM
LTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLI ESISDALCDLKQQNELED SHFISFED ISETDEGFS
IRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSS
KESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSET
SDPLL RQEIEAKIGIMAVNLT TATTAIITSSLG IASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVS
LVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDV
LEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDG TKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRY
EDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGT YALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIES
DKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKIL
MLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKGKENGFI NGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNL
KDVKVI TKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLES MNI
KSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSG
DISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSN
DGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFS DKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNE
KFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETIIDDKNYFFNQSGVLQTGV
FSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDY
KYFFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLGNEEGE
EISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDED TAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVF
YFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYT
IETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMF
YFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTA
QLVISE

[0390] SEQ ID52-毒素B衍生的重组抗原-His-[螺旋间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位点]-TxB3

[0391] HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKAD
GAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI DQNP GTAPKYGIRGIPTLLL FKNGEVAATKVGALSKG
QLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVI SEIDFNNSI VL GKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHF
FSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYW
RYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSES
DVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EV
DLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSEL PDVVLIS
KVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVI TKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDESGVAEILKFMNRK
GNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYV
GNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNITYDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYIN
EKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFS DKQDVPVSEIILSFTPSY
YEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETI
IDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHY
FSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTED
GFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYF
NDDGIMQVGFVTINDKV FYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEY
SGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGIMRTGLISFENNNYYF
NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAA
TGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

[0392] SEQ ID53-毒素B衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[螺旋间隔子]-[凝血酶位点]-TxB3

[0393] HHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI
DQNP GTAPKYGIRGIPTLLL FKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAA
AKAAAGGSLVPRGSGSAAGGSMPQDDLVI SEIDFNNSI VL GKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHL
SIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTL
LKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRD
VTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSYKLLISG
ELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSEL PDVVLISKVYMDDSKPSFGY
YSNNLKDVKVI TKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFL
ESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYD
LDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNITYDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFS DKQDVPVSEIILSFTPSY YEDGLIGYDLGLV
SLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETI IDDKNYYFNQSGV
LQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLN
QIGDYKYFFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLG
NEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTI
NDKV FYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYF

GETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINI
EDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYFF
DPDTAQLVISE

[0394] SEQ ID54-毒素B衍生的重组抗原-His-[线性间隔子]-硫氧还蛋白-[凝血酶位
点]-TxB3

[0395] HHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDF
WAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI DQNP GTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLD
ANLALALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSIT
YREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIA
DALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGGGT YALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDV
DNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSY
KLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDS
KPSFGYYSNNLKDVKVIITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLT LQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSD
SLMSFLESMNISKIFVNFLQSNIKFILDANFII SGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNM
VEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYL YGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNI
NDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIG
YDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYY
FNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGK
AFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAH
HNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQ
VGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQAVEYSGLVRVG
EDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGI MRTGLISFENNNYYFNENGEMQ
FGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVID
GEEYFFDPDTAQLVISE

[0396] SEQ ID55-毒素B衍生的重组抗原-His-硫氧还蛋白-[线性间隔子]-[凝血酶位
点]-TxB3

[0397] HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNI
DQNP GTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGG
GSLVPRGSGSAAGGSMPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVL
EVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYE
DTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGGGT YALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESD
KIKKGD LIEGILSTLSIEENKIIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EVDLLSKSYKLLISGELKILM
LNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLK
DVKVIITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLT LQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLIMSFLSMNI
KSIFVNFLQSNIKFILDANFII SGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSG
DISSTVINFSQKYL YGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSN
DGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNE
KFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGV
FSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDY

KYYFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGE
EISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVF
YFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRVGEDVYYFGETY
IETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMF
YFGEDGVMMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYYFDPDTA
QLVISE

[0398] SEQ ID56-毒素B衍生的重组抗原-His-NusA-[内蛋白A序列]-TxB4-
HisMGSSHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTFR
RWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESINLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEI
ITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVP
EIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMGRARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPA
DVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDED
FATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGNKPADDLLNLEGVDRDLA
FKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALRTRVKVVKNKALAEGTRIFDPVT
GTTHRIEDVVDGRKPIHVVAANKDGT LHARPVVSWFDDQGT RDVIGLRIAGGAILWATPDHKVLTEYGWRAAGELRKG
DRVAQPRRFDFGDSAPIPARVQALADALDDKFLHDLAEELRYSVIREVLPTRRARTFGLVEEELHTLVAEGVVVH
NSSPPFKQAEFGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEI RNNSNSSDIELEEKVMLTE
CEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLI ESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRF
INKETGESIFVETEKTFSEYANHI TEEISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKES
LSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIDGVSLGAAIKELSETSDP
LLRQIEIAKIGIMAVNLTTATTAAITSSGLIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLE
TEGVFTLLDDKIMMPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEV
QKEELDLSKDLMLVPNAPNRVFAWETGWPGLRSLNDGT KLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYEDT
NIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKI
KKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLN
SNHIQQKIDYIGFNSSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDV
KVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIXSI
FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDIS
STVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGN
DFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFS DKQDVPVSEIILSFTPSYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFY
INNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETIIDKNYYFNQSGVLQTGVFST
EDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKY
FNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEIS
YSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFS
DSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVVRVGEDVYYFGETYTIET
GWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFG
EDGVMMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYYFDPDTAQLV
ISEGHHHHHHH

[0399] SEQ ID57-毒素B衍生的重组抗原-His-NusA-[内蛋白BT序列]-TxB4-

HisMGSSHHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTR
RWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESNLGDYVEDQIESVTFDRITTTQAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEI
ITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVP
EIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPA
DVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDED
FATV LVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEE SLGDN
KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALEVFGF
GSGKAFARDTEVYYENDTVPHMESIEEMYSKYASMNGELPFDNGYAVPLDNVVFVYTLDIASGEIKKTRASYIYREKV
EKLIEIKLSSGYSLKVTPSHPVLLFRDGLQWVPAAEVKPGDVVGVREEVLRRRIISKGELEFHEVSSVRIIDYNNW
VYDLVIPETHNFIAPNGLVLHNTQLAHTLAVMGSAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQ
EIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELE
DSHFISFEDISSETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTI FSEYANHITTEEISKIKGTIFD TVNGKLVKKVNLDTTHEV
NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIA
TIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLG IASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNE
LVLRDKATKVVDYFKHVS LVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVI SEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHF
FSAPSI TYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYW
RYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGGTYALSLSQYNMGINIELSES
DVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAII EV
DLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFI NGSTKEGLFVSELPDVLIS
KVYMDDSKPSFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKFMNRK
GNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYV
GNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYIN
EKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VFKD KTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSY
YEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFNPINGGAASIGETI
IDDKNYFFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYFDDNYRGAVEWKELDGEMHY
FSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKH FYFAENGEMQIGVFNTED
GFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYF
NDDGIMQVG FVTINDKV FYFSDSGIIESGVQNIDDNFYIIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEY
SGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYF
NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAA
TGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISEGHHHHHHH

[0400] SEQ ID58-毒素A衍生的重组抗原(TxA4;残基770-2710)表达构建体

[0401]

MGSSHHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIQDN
PGTAPKYGIRGIPTLLL FKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALEVLFQGP GGSADARAKAQFEEYKRNYFEG
AGGSIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNKLNI ESSIGDYIYYEK
LEPVKNIIHNSIDDLIDFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEI
FSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLNSTSVKVQLYAQLF
STGLNTIYDSIQLVNLI SNAVNDTINVLPITITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLA INM

SLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKKYGLKTEDDKILVPID
DLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYA
ITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIFNIDNE
VREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLL
LSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAAYNTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSK
DFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMN
LFLDNISFWKLF GFEN INFVIDKYFTLVGKTNLG YVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIY
NPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDS SSFE
YKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGF
KIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP IEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGV
MQLGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRI INNEKYYFNPNNAAVGL
QVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSNGF EYFAPANT
YNNNIEGQAI VYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAEATG
WQTI DGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGF EYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLT
LNGKKYYFGSDSKAVTGWRI INNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNESKMV
TGVFKGPNGF EYFAPANTHNNNIEGQAI VYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEATGWQT
IDGKKYYFNLNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAS TGYTSINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGF EYFAPANTH
NNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIAS TGYT
IISGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPDGF EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYFNGNSKAATGWVTIDGNR
YYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNF EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYFNGN
SKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

[0402] SEQ ID59-毒素A衍生的重组抗原(TxA4截短物;残基770-2389)表达构建体

[0403]

MGSSHHHHHHSHMASDKI IHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQN
PGTAPKYGIRGIPTLLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSGGSADARAKAQFEEYKRNYFEGAG
GSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNI ESSIGDY
IYYEKLEPVKNI IHNSIDDLIDEFNLE NVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDI SKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQL
YAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGV
LA INMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILH
DKATSVVNYFNHLSSESKKYGLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSP
SISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYA
FFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYP ISTNINLSKDDLWIF
NIDNEVREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAK
SYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAAYNTDESNNKYFGAISKTSQKSI IHYKKDSKNILEFYNDSTL
EFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHT
SNFMNLF DNISFWKLF GFENINFVIDKYFTLVGKTNLG YVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVV
EPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDS

SSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKI LQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDR
DHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYF
NNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAI
AAVGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYF
APANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGI MQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAAILYQNE
FLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAAAIHLCTINNDKYYFSYDGI LQNGYITIERNNFYFDANNE
SKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAAT
GWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAS

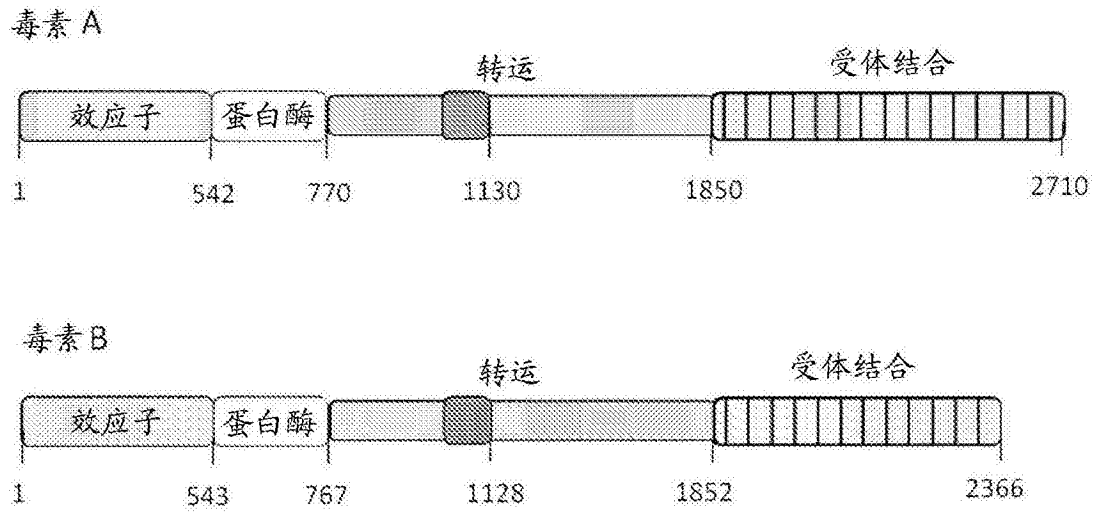


图1

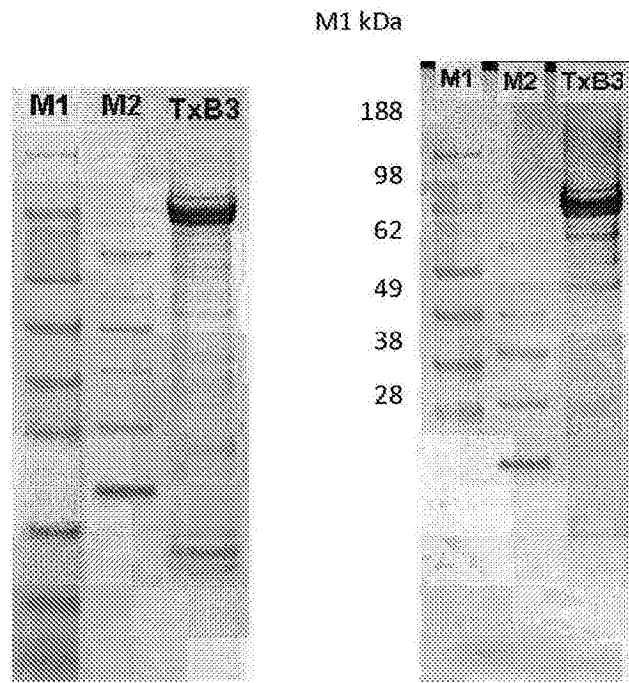


图2

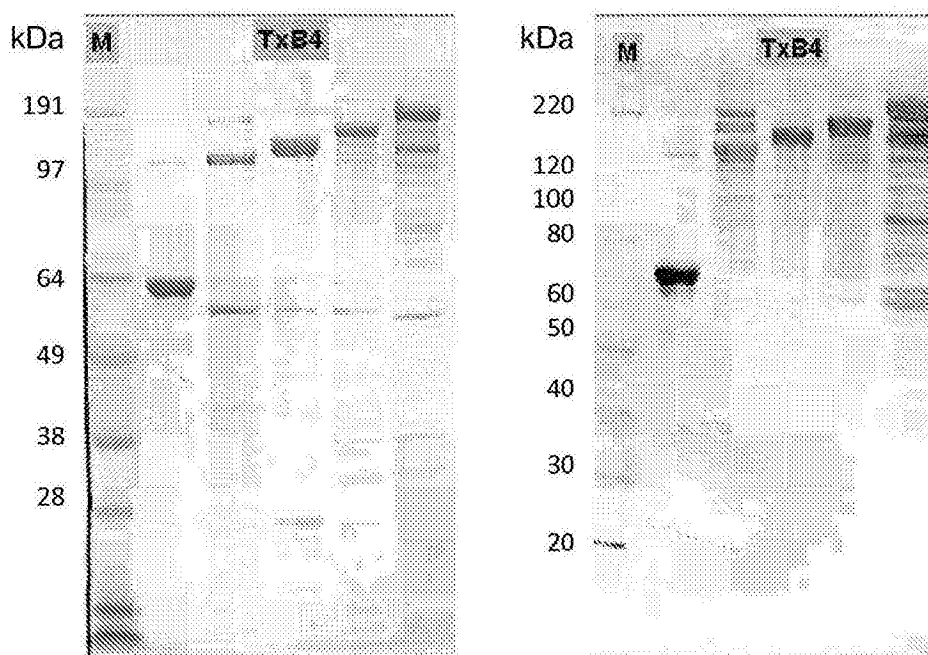


图3

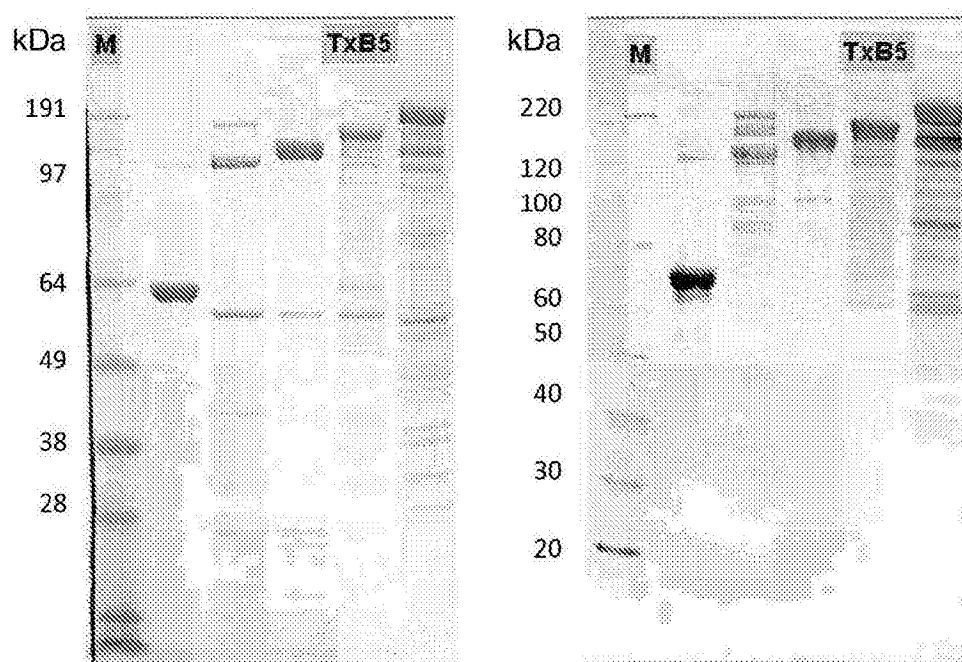


图4

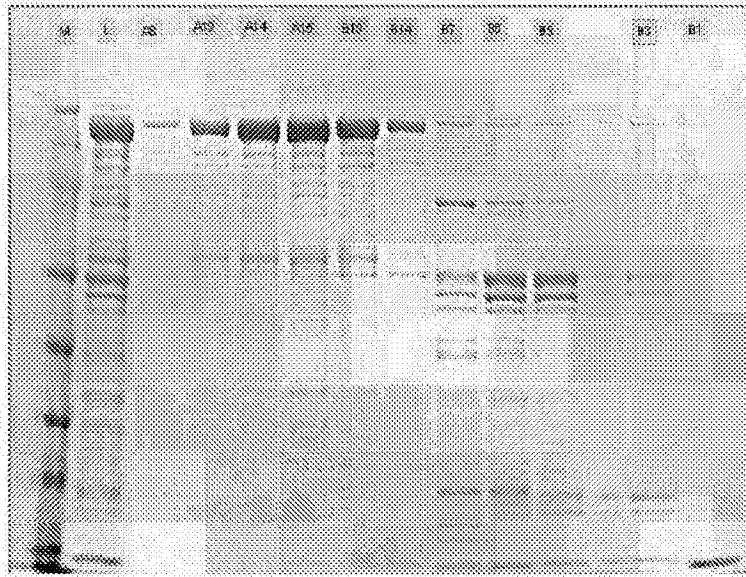


图5