

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021 年 1 月 28 日 (28.01.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/013071 A1

(51) 国际专利分类号:

C07K 14/025 (2006.01) **A61P 31/20** (2006.01)

C12N 15/37 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)

A61K 39/12 (2006.01) **A61P 15/00** (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/102601

(22) 国际申请日: 2020 年 7 月 17 日 (17.07.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201910657255.8 2019 年 7 月 19 日 (19.07.2019) CN

(71) 申请人: 神州细胞工程有限公司(SINOCELLTECH LTD) [CN/CN]; 中国北京市经济技术开发区科创七街31号, Beijing 100176 (CN)。

(72) 发明人: 罗春霞(LUO, Chunxia); 中国北京市经济技术开发区科创七街31号, Beijing 100176 (CN)。张伟(ZHANG, Wei); 中国北京市经济技术开发区科创七街31号, Beijing 100176 (CN)。索晓燕(SUO, Xiaoyan); 中国北京市经济技术开发区科创七街31号, Beijing 100176 (CN)。庞琳(PANG, Lin); 中国北京市经济技术开发区科创七街31号, Beijing 100176 (CN)。胡萍(HU, Ping); 中国北京市经济技术开发区科创七街31号, Beijing 100176 (CN)。

(74) 代理人: 北京市金杜律师事务所(KING & WOOD MALLESONS); 中国北京市朝阳区东三环中路1号环球金融中心办公楼东楼20层, Beijing 100020 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 在修改权利要求的期限届满之前进行, 在收到该修改后将重新公布(细则48.2(h))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(54) Title: POLYVALENT IMMUNOGENICITY COMPOSITION FOR HUMAN PAPILLOMAVIRUS

(54) 发明名称: 人乳头瘤病毒多价免疫原性组合物

(57) Abstract: Disclosed is a polyvalent human papillomavirus (HPV) immunogenicity composition for preventing disease or infections related to HPV. The polyvalent HPV immunogenicity composition contains: an HPV virus-like particle formed from assembling L1 proteins of HPV type 6, type 11, type 16, type 18, type 31, type 33, type 45, type 52, and type 58; and one or more HPV virus-like particles formed from assembling L1 proteins of other pathogenic HPV types. In one embodiment, the one or more other pathogenic HPV types are selected from HPV type 35, type 39, type 51, type 56, or type 59. In one embodiment, at least one of the described HPV virus-like particles is a chimeric HPV virus-like particle, the chimeric HPV virus-like particle containing one or more chimeric HPV L1 proteins.

(57) 摘要: 本发明公开了预防人乳头瘤病毒(HPV)相关疾病或感染的多价HPV免疫原性组合物及其用途。所述多价HPV免疫原性组合物包含: 由HPV 6型、11型、16型、18型、31型、33型、45型、52型和58型的L1蛋白组装而成的HPV病毒样颗粒; 和一种或多种由其他致病的HPV型别的L1蛋白组装而成的HPV病毒样颗粒。在一个实施方式中, 所述一种或多种其他致病的HPV型别选自HPV 35型、39型、51型、56型和59型。在一个实施方式中, 至少一种所述HPV病毒样颗粒为嵌合的HPV病毒样颗粒, 所述嵌合的HPV病毒样颗粒包含一种或多种嵌合HPV L1蛋白。

WO 2021/013071 A1

人乳头瘤病毒多价免疫原性组合物

技术领域

本发明涉及预防人乳头瘤病毒（HPV）相关疾病或感染的多价
5 免疫原性组合物及其用途。

背景技术

乳头瘤病毒（papilloma virus，PV）属于乳头瘤病毒科（Papillomaviridae），能引起人、牛、狗、兔等的乳头瘤。其成员人
10 乳头瘤病毒（Human Papillomavirus, HPV）为无包膜 DNA 病毒。该病毒的基因组为双链闭环 DNA，大小约 7.2-8kb，具有 8 个开放阅读框，按照功能可分为三个区域：（1）早期区（E），约 4.5kb，编码 E1、E2、E4-E7 共 6 个与病毒复制、转录及转化有关的非结构蛋白；（2）晚期区（L），约 2.5kb，编码主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2；
15 （3）长调控区（LCR），其位于 L 区末端与 E 区起始端之间，长约 800-900bp，不编码任何蛋白，但具有 DNA 复制和表达调控元件。

L1 和 L2 蛋白在 HPV 感染周期的中晚期合成。L1 蛋白是主要衣壳蛋白并且具有 55-60 kDa 的分子量。L2 蛋白是次要衣壳蛋白。72
20 个 L1 蛋白五聚体构成二十面体 HPV 病毒粒子的外壳（直径为 45-55 nm），其包裹闭环双链 DNA。L2 蛋白质位于 L1 蛋白质内侧（Structure of Small Virus-like Particles Assembled from the L1 Protein of Human Papillomavirus 16 Chen, X.S., R. L.Garcea, Mol.Cell.5(3):557-567, 2000）。

25 L1 蛋白的 ORF 是 PV 基因组中最保守的基因，可以用于鉴别新的 PV 型。如果克隆了完整的基因组，并且 L1 ORF 的 DNA 序列与最接近的已知 PV 型相差超过 10%，则被认定为分离出新的 PV 型。差异在 2%和 10%同源性被定义为不同的亚型，差异小于 2%被定义为同一亚型的不同变种（E.-M. de Villiers et al. / Virology 324 (2004)

17-27)。

在 HPV 感染的后期，细胞质中新合成的 L1 蛋白被输送到终端分化的角蛋白细胞核中，与 L2 蛋白一起，包装复制的 HPV 基因组 DNA 形成传染性病毒 (Nelson, L.M, et al. 2002. Nuclear import strategies of high risk HPV16 L1 major capsid protein. J. Biol. Chem. 277: 23958-23964)。这表明 L1 蛋白的核导入在 HPV 感染和生产中起着非常重要的作用。病毒进入细胞核的能力由 HPV L1 蛋白 C 端的核定位信号(NLS)决定，核定位信号的一个特征是富含碱性氨基酸 (Garcia-Bustos, J., et al. 1991. Nuclear protein localization. Biochimica et Biophysica Acta 1071: 83-101)。

15 种高风险(HR) HPV 型可导致宫颈、肛门、阴茎、阴道、外阴和口咽癌。其中，HPV-16 和 HPV-18 型是迄今最为常见的癌症起因，约占宫颈癌的 70%，其余为其他 HR-HPV 型(31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73 和 82)引起。HPV-16 约占 HPV 阳性口咽癌(OPCs)的 95%。持续低风险基因型 HPV-6 和 HPV-11 导致大多数肛门生殖器疣和呼吸道乳头状瘤，但很少与癌症相关 (Human Papillomavirus in Cervical Cancer and Oropharyngeal Cancer: One Cause, Two Diseases Tara A. Berman and John T. Schiller, PhD2 Cancer 2017;123:2219-29)。

20 使用痘苗病毒、杆状病毒或酵母系统重组表达 L1 蛋白，L1 蛋白可自我装配形成病毒样颗粒 (VLP)，大约含有 72 个 L1 蛋白，与病毒体外壳相似。VLP 没有适应症。VLP 可以在接种动物中诱导中和抗体，保护实验动物免受感染性病毒的随后攻击。因此，VLP 似乎是乳头瘤病毒疫苗的优秀候选者 (Structure of Small Virus-like Particles Assembled from the L1 Protein of Human Papillomavirus 16 Chen, X.S., R. L.Garcea, Mol.Cell.5(3):557-567, 2000)。

葛兰素公司的 CERVARIX®是双价重组 HPV 疫苗。其中含有由重组杆状病毒表达载体系统在夜蛾(*Trichoplusia ni*)昆虫细胞中表达获得的 HPV 16 型重组 L1 蛋白和 HPV 18 型重组 L1 蛋白。L1 蛋白

自组装成病毒样颗粒,用于预防 9-25 岁的妇女由 16 和 18 型 HPV 引起的宫颈癌,2 级或 3 级宫颈上皮内瘤样变和原位腺癌,和 1 级宫颈上皮内瘤样病变 (致病)(<https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM186981.pdf>)。5

GARDASIL®是默克公司生产的人乳头状瘤病毒四价(6、11、16 和 18 型)重组疫苗,用于 9-26 岁的女孩和妇女用于预防宫颈癌生殖器疣(尖锐湿疣)和由 HPV 6、11、16、18 型引起癌前或增生异常病变;以及 9-26 岁的男孩和男人用于预防肛门癌、生殖器疣(尖锐湿疣)和由 HPV 6、11、16、18 型引起的癌前期或发育异常病变(<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/gardasil>)。10

GARDASIL®9 是默克公司生产的人乳头状瘤病毒九价重组疫苗,包含 HPV 6、11、16、18、31、33、45、52 和 58 型 L1 蛋白的病毒样颗粒,该 L1 蛋白由酿酒酵母发酵生产,自组装为 VLP。用于 15 9-45 岁的女孩和妇女用于预防 HPV16、18、31、33、45、52 和 58 型引起的宫颈癌、外阴癌、阴道癌和肛门癌,HPV6 和 11 引起的生殖器疣(尖锐湿疣)和由 HPV 6、11、16、18、31、33、45、52 和 58 型引起癌前或或增生异常病变;以及 9-45 岁的男孩和男人用于预防 16、18、31、33、45、52 和 58 型引起的肛门癌,HPV 6 和 11 引起的生殖器疣(尖锐湿疣)和由 HPV 6、11、16、18、31、33、45、52 和 58 型引起的癌前期或发育异常病变(<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/gardasil-9>)。20

GARDASIL®9 的说明书中声称 HPV16 和 18 型是约 70%的宫颈癌的发病缘由,其余的 20%病例归责于 31、33、45、52 和 58 型,25 由是 GARDASIL®9 可以预防 90%的宫颈癌的发生(<https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm426445.htm>)。

HPV 疫苗研制的关键因素是病毒样颗粒可进行大量生产。目前较为普遍的生产病毒样颗粒的系统主要分为真核表达系统和原核表

达系统。

常用的真核表达系统有痘病毒表达系统、昆虫杆状病毒表达系统、酵母表达系统。在真核表达系统中表达的 HPV L1 蛋白的天然构像破坏较少，可自发装配形成病毒样颗粒，但产量较低。原核表达系统主要大肠杆菌表达系统，产量高但大多以包涵体形式存在，不利于纯化，生产工艺复杂。

因此，在本领域仍然存在获得高产量的 HPV 病毒样颗粒，从而获得 HPV 多价疫苗以广谱地预防 HPV 相关疾病或感染，包括目前商业化疫苗尚未涵盖的 HPV 型别引起的 HPV 相关疾病或感染。

10

发明内容

在一个方面，本发明提供一种预防 HPV 相关疾病或感染的多价 HPV 免疫原性组合物，其包含：由 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、33 型、45 型、52 型和 58 型的 L1 蛋白组装而成的 HPV 病毒样颗粒；和一种或多种由其他致病的 HPV 型别的 L1 蛋白组装而成的 HPV 病毒样颗粒。

在另一个方面，本发明提供一种预防 HPV 相关疾病或感染的方法，其包括：向受试者施用多价 HPV 免疫原性组合物。

在另一个方面，本发明提供多价 HPV 免疫原性组合物在用于制备用于预防 HPV 相关疾病或感染的疫苗或药物中的用途。

20

附图说明

图 1A HPV 6 L1: 33C 的 L1 蛋白的表达。M: Marker; L: 细胞裂解液; E-S: 裂解液离心后收集的上清液。

图 1B HPV 11 L1: 33C 的 L1 蛋白的表达。M: Marker; L: 细胞裂解液; E-S: 裂解液离心后收集的上清液。

25

图 1C HPV 16 L1: 33C 的 L1 蛋白的表达。M: Marker; L: 细胞裂解液; E-S: 裂解液离心后收集的上清液。

图 1D HPV 18 L1: 33C 的 L1 蛋白的表达。M: Marker; L: 细

胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1E HPV 31 L1：33C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1F HPV 33 L1 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1G HPV 35 L1：33C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1H HPV 39 L1：59C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1I HPV 45 L1：33C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1J HPV 51 L1：33C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1K HPV 52 L1：33C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1L HPV 56 L1：33C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1M HPV 58 L1：33C 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 1N HPV 59 L1 的 L1 蛋白的表达。M：Marker；L：细胞裂解液；E-S：裂解液离心后收集的上清液。

图 2A 透射电镜观察 HPV 6 L1：33C 病毒样颗粒。

图 2B 透射电镜观察 HPV 11 L1：33C 病毒样颗粒。

图 2C 透射电镜观察 HPV 16 L1：33C 病毒样颗粒。

图 2D 透射电镜观察 HPV 18 L1：33C 病毒样颗粒。

图 2E 透射电镜观察 HPV 31 L1：33C 病毒样颗粒。

图 2F 透射电镜观察 HPV 33 L1 病毒样颗粒。

图 2G 透射电镜观察 HPV 35 L1：33C 病毒样颗粒。

图 2H 透射电镜观察 HPV 39 L1：59C 病毒样颗粒。

图 2I 透射电镜观察 HPV 45 L1: 33C 病毒样颗粒。

图 2J 透射电镜观察 HPV 51 L1: 33C 病毒样颗粒。

图 2K 透射电镜观察 HPV 52 L1: 33C 病毒样颗粒。

图 2L 透射电镜观察 HPV 56 L1: 33C 病毒样颗粒。

5 图 2M 透射电镜观察 HPV 58 L1: 33C 病毒样颗粒。

图 2N 透射电镜观察 HPV 59 L1 病毒样颗粒。

图 3 14 型病毒样颗粒组合物免疫小鼠后的假病毒中和效价。动物数, N=10。GMT(Geometric Mean Titer): 几何平均滴度。

10 图 4 C 端截短的 HPV16L1 (1-474) 的表达。M: Marker; L: 细胞裂解液; E-S: 裂解液离心后收集的上清液。

具体实施方式

在一个方面, 本发明提供一种预防乳头瘤病毒相关的疾病或感染的多价免疫原性组合物。在一个实施方式中, 乳头瘤病毒可以为
15 人乳头瘤病毒。在另一个实施方式中, 乳头瘤病毒可以为狗乳头瘤病毒或兔乳头瘤病毒。

在一个方面, 本发明提供一种预防 HPV 相关疾病或感染的多价 HPV 免疫原性组合物, 其包含: 由 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、33 型、45 型、52 型和 58 型的 L1 蛋白组装而成的 HPV 病毒
20 样颗粒; 和一种或多种由其他致病的 HPV 型别的 L1 蛋白组装而成的 HPV 病毒样颗粒。

在一个实施方式中, 所述 HPV 各型别的 L1 蛋白可以为天然存在的 L1 蛋白, 或非天然存在的 L1 蛋白, 或嵌合 HPV L1 蛋白。在一个实施方式中, 所述 HPV 病毒样颗粒可以由单一型别的 HPV L1
25 蛋白装配形成单价的 HPV 病毒样颗粒, 也可以由多个型别的 HPV L1 蛋白共同装配形成多价的 HPV 病毒样颗粒。

在一个实施方式中, 所述一种或多种其他致病的 HPV 型别选自 HPV 35 型、39 型、51 型、56 型和 59 型。

在一个实施方式中, 至少一种所述 HPV 病毒样颗粒为嵌合的

HPV 病毒样颗粒, 所述嵌合的 HPV 病毒样颗粒包含一种或多种嵌合 HPV L1 蛋白; 所述嵌合 HPV L1 蛋白自其 N 末端至 C 末端方向包含:

a. 衍生于第一型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的 N 端片段, 其中所述第一型别乳头瘤 L1 蛋白选自 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型或 58 型, 所述 N 端片段保持 HPV 相应型别 L1 蛋白的免疫原性; 和 b. 衍生于第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的 C 端片段, 所述第二型别乳头状瘤病毒 L1 蛋白具有相较于其他型别的 L1 蛋白表达量和可溶性较好的特性; 其中嵌合的 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型或 58 型 L1 蛋白具有 HPV 相应型别 L1 蛋白的免疫原性。

在一个实施方式中, 所述嵌合的 HPV 病毒样颗粒可以由单一型别的嵌合 HPV L1 蛋白装配形成单价的 HPV 病毒样颗粒, 也可以由多个型别的嵌合 HPV L1 蛋白共同装配形成多价的 HPV 病毒样颗粒。

在一个实施方式中, 所述 C 端片段和 N 端片段可以根据需要自由组合。在一个实施方式中, 嵌合 HPV L1 蛋白可以包含一个或多个 C 端片段。所述多个 C 端片段可以相同或不同。

在一个实施方式中, 所述 N 端片段为将所述第一型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的天然序列的 C 端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段, 以及与其具有至少 98% 的同一性的片段; 所述 C 端片段为将第二型别乳头状瘤病毒 L1 蛋白的天然序列的 N 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段, 以及该片段进一步突变、缺失和/或添加而产生的功能性变体。

在另一个实施方式中, 所述 N 端片段与将所述第一型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的天然序列的 C 端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有至少 98.5%、99%、99.5% 或 100% 的同一性。

在一个实施方式中, 所述 C 端片段含有一个或多个核定位序列。

在一个实施方式中, 所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白选自 HPV 1 型、2 型、3 型、4 型、6 型、7 型、10 型、11 型、13 型、16 型、

18 型、22 型、26 型、28 型、31 型、32 型、33 型、35 型、39 型、42 型、44 型、45 型、51 型、52 型、53 型、56 型、58 型、59 型、60 型、63 型、66 型、68 型、73 型或 82 型 L1 蛋白；

优选地，所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白选自 HPV 16 型、28
5 型、33 型、59 型、或 68 型 L1 蛋白；

更优选地，所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白选自 HPV 33 型或 HPV 59 型 L1 蛋白。

在一个实施方式中，所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白为 HPV 33 型 L1 蛋白，所述 C 端片段为 SEQ ID No: 2；或其长度为 m1 个氨基酸的片段，优选涵盖 SEQ ID No: 2 的第 1-m1 位氨基酸的片段；其中
10 m1 为 8-26 的整数；或所述 C 端片段为 SEQ ID No: 135；或其长度为 m2 个氨基酸的片段，优选涵盖 SEQ ID No: 135 的第 1-m2 位氨基酸的片段；其中 m2 为 13-31 的整数。

在一个实施方式中，HPV 33 型 L1 蛋白的 C 端片段具有一个核
15 定位序列。在另一个实施方式中，HPV 33 型 L1 蛋白的 C 端片段具有两个核定位序列。在一个实施方式中，SEQ ID No: 2 的氨基酸编号 7-8 的氨基酸序列（KR）和氨基酸序列编号 20-23 的氨基酸序列（KRKK）为 HPV 33 型 L1 蛋白的 C 端片段的核定位序列。

在一个实施方式中，所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白为 HPV 59
20 型 L1 蛋白，所述 C 端片段为 SEQ ID No: 13；或其长度为 n 个氨基酸的片段，优选涵盖 SEQ ID No: 13 的第 1-n 位氨基酸的片段；其中 n 为 16-38 的整数。

在一个实施方式中，HPV 59 型 L1 蛋白的 C 端片段具有一个核
25 定位序列。在另一个实施方式中，HPV 59 型 L1 蛋白的 C 端片段具有两个核定位序列。在一些实施方式中，嵌合 HPV L1 蛋白包含一个或多个 HPV 59 型 L1 蛋白的 C 端片段。所述多个 HPV 59 型 L1 蛋白的 C 端片段可以相同也可以不同。在一个实施方式中，SEQ ID No: 13 的氨基酸编号 14-16 的氨基酸序列（RKR）和氨基酸序列编号 28-34 的氨基酸序列（KRVKRRK）为 HPV 59 型 L1 蛋白的 C 端片段的核

定位序列。

在一个实施方式中，所述嵌合 HPV L1 蛋白包含 HPV 33 型 L1 蛋白的 C 端片段和 HPV 59 型 L1 蛋白的 C 端片段两者。

5 在一个实施方式中，所述 HPV 6 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 1 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

所述 HPV 11 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 14 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

10 所述 HPV 16 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 27 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

所述 HPV 18 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 40 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 15 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

所述 HPV 31 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 53 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

20 所述 HPV 35 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 69 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

所述 HPV 39 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 82 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

25 所述 HPV 45 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 95 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性；

所述 HPV 51 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 108 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有

98%、98.5%、99%、99.5%、99%或100%的同一性；

所述 HPV 52 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 121 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或100%的同一性；

5 所述 HPV 56 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 134 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或100%的同一性；和

所述 HPV 58 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 147 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有
10 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或100%的同一性。

在一个实施方式中，所述 N 端片段的 C 末端与所述 C 端片段的 N 末端直接连接或通过接头连接。

接头不影响所述 N 端片段的免疫原性，且不影响蛋白的表达量或可溶性。在一个实施方式中，所述 N 端片段和所述 C 端片段通过
15 由 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个氨基酸组成的接头连接。在一个实施方式中，接头是人工序列。在另一个实施方式中，接头是 HPV L1 蛋白中天然存在的序列。在另一个实施方式中，接头可以是 HPV 33 型 L1 蛋白的部分序列。在另一个实施方式中，接头可以是 HPV 59 型 L1 蛋白的部分序列。

20 在一个实施方式中，当所述 N 端片段的 C 末端与所述 C 端片段的 N 末端连接时，在连接点的正负 4 个氨基酸位点的范围内存在以下连续氨基酸序列：RKFL；优选地，在连接点的正负 6 个氨基酸位点的范围内存在以下连续氨基酸序列：LGRKFL。

在一些实施方式中，所述嵌合的 HPV 6 型、11 型、16 型、18
25 型、31 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型和 58 型嵌合 HPV L1 蛋白分别与 SEQ ID No: 3、SEQ ID No: 16、SEQ ID No: 29、SEQ ID No: 42、SEQ ID No: 55、SEQ ID No: 71、SEQ ID No: 84、SEQ ID No: 97、SEQ ID No: 110、SEQ ID No: 123、SEQ ID No: 136 和 SEQ ID No: 149 具有 98%、98.5%、99%、99.5%或100%的同一性；以及

HPV 33 型 L1 蛋白和 HPV 59 型 L1 蛋白分别与 SEQ ID No: 66 和 SEQ ID No: 160 具有 98%、98.5%、99%、99.5%或 100%的同一性。

在一个实施方式中，至少一种所述 HPV 病毒样颗粒由单一型别的嵌合 HPV L1 蛋白组成，优选地，由具有相同的氨基酸序列的所述
5 单一型别的嵌合 HPV L1 蛋白组成。

在一个实施方式中，嵌合的 HPV 病毒样颗粒为由 72 个所述嵌合 HPV L1 蛋白的五聚体构成的二十面体。在一个实施方式中，嵌合的 HPV 病毒样颗粒具有正确形成的二硫键，因而具有良好的天然构象。在一个实施方式中，嵌合的 HPV 病毒样颗粒在体内表达系统中
10 自行装配。

在一个实施方式中，所述多价 HPV 免疫原性组合物还包含生理学上可接受的载体以及任选地，还包含佐剂。在一个实施方式中，佐剂包含铝盐、脂质 A 衍生物和 ISCOM 中的一种或多种。

在一个实施方式中，所述佐剂为磷酸铝佐剂。

15 在一个方面，本发明提供一种预防 HPV 相关疾病或感染的方法，其包括：向受试者施用多价 HPV 免疫原性组合物。所述预防可被认为是治疗，两者可互换使用。在一个实施方式中，受试者是人。

在一个方面，本发明提供如前所述的多价 HPV 免疫原性组合物在用于制备用于预防 HPV 相关疾病或感染的疫苗或药物中的用途。

20 真核表达系统表达的乳头瘤病毒 L1 蛋白能自发装配成病毒样颗粒，但具有表达量低不易规模化生产的缺点。

各型别 HPV 的 L1 蛋白的序列可以从<https://www.uniprot.org> 方便地获得。每一型别的 HPV L1 可以来源于不同的毒株，因而其氨基酸序列有多个版本，其中任何一个版本的天然序列都可以用于本发明，本发明的构思和设计过程中，所用某一给定型别的 HPV L1 蛋白
25 序列有可能不同于实施例中使用的序列，但是这种差异不影响发明人的判断和结论。

本领域技术人员普遍认为 L1 蛋白的 C 端不含有主要中和抗原表位，因此试图通过截短 HPV L1 蛋白的 C 端提高表达量，例如葛兰

素公司的美国专利 US6361778B1 中, HPV16 L1 蛋白 C 端截短 1-34 个氨基酸, 优选 26 个氨基酸, 声明 VLP 的产量增加许多倍, 最好至少增加 10 倍, 特别是大约 10 到 100 倍。受此启发, 发明人尝试将 HPV 16 型 L1 的 C 端截短 31 个氨基酸, 命名为 HPV16 L1 (1-474)。但其蛋白表达量高但蛋白可溶性差, 难以提取纯化 (见对比例)。

这种截短引起的蛋白可溶性差有可能是 C 端的核定位序列的缺失造成的, 本发明并不受限于此推测。发明人在研究和生产过程中发现 HPV 16 型 L1 蛋白、HPV 28 型 L1 蛋白、HPV 33 型 L1 蛋白、HPV 59 型 L1 蛋白和 HPV 68 型 L1 蛋白相较于其他型别的 L1 蛋白表达量和可溶性较好, 受此启发, 发明人用表达量和可溶性较好型别的 L1 蛋白 C 端替换不易提取或表达量低的 HPV 型别的 C 端。即发明人构建了这样一种嵌合蛋白: 自其 N 末端至 C 末端方向包含衍生于第一型别乳头瘤病毒 L1 蛋白 (例如 HPV L1 蛋白) 的 N 端片段和衍生于第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白 (例如 HPV L1 蛋白) 的 C 端片段, 前者提供第一型别乳头瘤病毒 (例如 HPV) 的免疫原性, 后者提供表达量和可溶性较好的特性。两者可以直接连接也可以通过接头连接。

为保持第一型别 HPV L1 蛋白的免疫原性, 以及保证其能够形成 VLP, 发明人确定了合适的 HPV L1 蛋白的 N 端片段的长度。以下报道涉及常见 HPV 亚型的表位研究:

Sunanda Baidya 等人报道, L1 蛋白的表位 48EEYDLQFIFQLCKITLTA65, 45RHGEEYDLQFIFQLCKITLTA65, 63LPDPNKF69, 79PETQRLVWAC88, 36PVPGQYDA43, 77YNPETQRLVWAC88, 188DTGYGAMD195, 36PVPGQYDATK45, 45KQDIPKVSAYQYRVFRV61, 130RDNVSVDYKQTQLCI144 and 49YSRHVEEYDLQFIF62 可以用作设计 HPV16 和 18 型疫苗的工具 (参见 Epitope design of L1 protein for vaccine production against Human Papilloma Virus types 16 and 18, Bioinformation 13(3):86-93 March 2017, 通过引用全部并入本文)。

Katharina Slupetzky 等人报道 HPV-16 的 aa 282-286 及 351-355

附近的区域对于中和表位有贡献, 而且后者是免疫优势位点 (参见 Chimeric papillomavirus-like particles expressing a foreign epitope on capsid surface loops, Journal of General Virology (2001), 82, 2799-2804, 通过引用全部并入本文)。

- 5 Brooke Bishop 等人制备了 HPV11、16、18 和 35 L1 蛋白的以下 3 种变体: 其 N 端 9 个氨基酸缺失、 $\alpha 4$ (对应于 HPV16 的 404-436 位氨基酸残基)缺失、其 C 端 31 个氨基酸缺失, 报道前两者不能组装成 VLP, 但是未报道后者有此现象

		β -B1	β -B2	BC-loop	β -C		
HPV16-L1	mslwlpsneatVYIIPP-vpVskVVsTDeYVarTniYTHAgTSRLLaVGHpYfpikppnnnKilvPKVSGiQYRVFhLDPDNKfgfPDTS					88	
HPV35-L1	mslWrsneatVYIIPP-vsVskVVsTDeYVtTniYTHAgTSRLLaVGHpYfaiikkqdsKiaVPKVSgiQYRVFvLDPDNKfgfPDTS					89	
HPV11-L1	--mWrpsdntVYvPPnpVskVVAtdaYVktTnifYHAgTSRLLaVGHpYfaiikkv--KtvpPKVSGiQYRVFvLDPDNKfaiPDSS					86	
HPV18-L1	malWrpsdntVYIIPP-psVarVvntDdYVtpTsfifYHAgTSRLLTGnPYfrvpagggKqdiPKVSayQYRVFvLDPDNKfgfPDTS					88	
		β -D	DE-loop	β -E	EF-		
HPV16-L1	fynPdEQRLVWACvGvEYGRGQPLGVG1SGHP1LNK1DDTEhasayaaNagvDnRecianDYKQTQLCL1GCKPp1GEHWgKGspCtnva					179	
HPV35-L1	fynPasQRLVWACvGvEYGRGQPLGVG1SGHP1LNK1DDTEhasnkyyvngtdnRecianDYKQTQLCL1GCKPp1GEHWgKGspCtnva					179	
HPV11-L1	1fdPtEQRLVWACtGLEVGRGQPLGVGvSGHP1LNKYDDvEhsggggNpgqDnRvnnvgnDYKQTQLCmVGCaP1GEHWgKGspCtnva					176	
HPV18-L1	lynPeEQRLVWACagvEiGRGQPLGVG1SGHP1fynK1DDTEsahaatsNvseDvRdnvavDYKQTQLCL1GCaPa1GEHWgKGspCtnva					179	
		loop	$\alpha 1$	β -F	FG-		
HPV16-L1	vnpGdCPPLELlntv1gDGMVDTFGfGAMfTLQANKseVPLDICTs1CKYPDY1KmvseFYGDslFFyLRkEQmFvRhlENRAGvGe					269	
HPV35-L1	vksGdCPPLELlntv1gDGMVDTFGfGAMfTLQANKsdVPLDICTs1CKYPDY1KmvseFYGDslFFyLRkEQmFvRhlENRAGvGe					269	
HPV11-L1	vqnGdCPPLELltsv1gDGMVDTFGfGAMfPadLQANKsdVPLDICTv1CKYPDY1LmaadFYGDslFFyLRkEQmFvRhlENRAGvGe					266	
HPV18-L1	lsqGdCPPLELlkatv1gDGMVDTFGfGAMfTLQdTKceVPLDICTs1CKYPDY1LmaadFYGDslFFyLRkEQ1PaRhlENRAGvGe					269	
		loop	G1	G2	β -H1	β -H2	HI-loop
HPV16-L1	nVPdDLyIKGsgstanlaSsnYfptPSGSmVtSdaQ1FNKPFWLgrAQGHNG1CWNgLFVTVDTTSTNmslCaastse-ttYknt						338
HPV35-L1	tVPdDLyIKG--ttgtlpStsYfptPSGSmVtSdaQ1FNKPFWLgrAQGHNG1CWNgLFVTVDTTSTNmsvCsavssd-stYknd						336
HPV11-L1	pVPdDLyIKGgnnrssvaSsiYvhtPSGSlVsSdaQ1FNKPFWLgrAQGHNG1CWNgLFVTVDTTSTNmtlCasvaks--atYtnt						354
HPV18-L1	tVPqSLyIKGtgmpaspgScvYfptPSGSlVtSdaQ1FNKPFWLhkaAQGHNGvCWNgLFVTVDTTSTNltlCastspvPgqYdat						359
		β -I	$\alpha 2$	$\alpha 3$	$\alpha 4$		
HPV16-L1	nFkEYIRHqSEYDLQFIQQLCKITLEAVMtYIHsMNstLEDWNFG1gPPPGgtLEDTYRFvtSqAlaCQKhtppakpDPLkkytFWe						448
HPV35-L1	nFkEYIRHqSEYDLQFIQQLCKITLEAVMtYIHsMNstLEDWNFG1tPPPGgtLEDTYRFvtSqAvtCQKpsapkpDPLknytfWv						446
HPV11-L1	dyKqYmRHvSEYDLQFIQQLCsITLsAeVmaYIHtMNpsvLEDWNFG1sPPPGgtLEDTYRFvSqAltCQKptpekekqDPykdmFWe						444
HPV18-L1	kEKqYsRHvSEYDLQFIQQLCKITLEAVMsYIHsMNstLEDWNFGvPPPGttsLVDTYRFvSqAltCQKdaapenkDfYdklkFWn						449
		β -J	$\alpha 5$				
HPV16-L1	VnLKEKFSaLDQIFLGRKFL1QaG1karpnfrlgkr--katptststtakRkrkl						506
HPV35-L1	VdLKEKFSaLDQIFLGRKFL1QaG1karpnfrlgkr--aapastskksstkrRkvks						502
HPV11-L1	VnLKEKFSaLDQIFLGRKFL1QsGyrgrtsartgik--rpavskpstapkrRrttkk						501
HPV18-L1	VdLKEKFSiMLDQYPLGRKFLvQaG1rrkptigrKrsapsattsskapkrvRvrark						507

10

- (Crystal Structures of Four Types of Human Papillomavirus L1 Capsid Proteins UNDERSTANDING THE SPECIFICITY OF NEUTRALIZING MONOCLONAL ANTIBODIES, The Journal of Biological Chemistry, 282,31803-31811. 通过引用全部并入本文)。
- 15 各型别的 HPV L1 蛋白的 α 螺旋、 β 折叠片各个 Loop 区都可以通过本领域常用的序列分析软件方便地确定。其中 α 螺旋区包含 $\alpha 1$ 区、

$\alpha 2$ 区、 $\alpha 3$ 区、 $\alpha 4$ 区和 $\alpha 5$ 区。

发明人对 14 种型别（6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、33 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型、58 型和 59 型）的 HPV L1 蛋白进行序列比对，然后根据如上引用的文献（Crystal Structures of Four Types of Human Papillomavirus L1 Capsid Proteins UNDERSTANDING THE SPECIFICITY OF NEUTRALIZING MONOCLONAL ANTIBODIES, The Journal of Biological Chemistry, 282,31803-31811）进行二级结构预测，结果如下所示，其中向下的箭头之间的部分对应于该文献中涉及的为制备变体而缺失的区域。

		
HPV6-L1	---MWRPSDSTVYVPPNPVSKVATDAIYTRTNIFYHASSSRLAVGHPYFSIKRA---	54
HPV11-L1	---MWRPSDSTVYVPPNPVSKVATDAIYKRTNIFYHASSSRLAVGHPYYSIKKV---	54
HPV52-L1	MSVWRPSEATVYLP-PVPVSKVSTDEIYSRTSIYYYAGSSRLTVGHPYFSIKNTSSGN	59
HPV58-L1	MSVWRPSEATVYLP-PVPVSKVSTDEIYSRTSIYYYAGSSRLAVGNPYFSIKSP--NN	57
HPV33-L1	MSVWRPSEATVYLP-PVPVSKVSTDEIYSRTSIYYYAGSSRLAVGHPYFSIKNP--7N	57
HPV31-L1	MSLWRPSEATVYLP-PVPVSKVSTDEIYTRTNIYYHAGSARLLTVGHPYFSIPKS--DN	57
HPV16-L1	MSLWLPSEATVYLP-PVPVSKVSTDEIYARTNIYYHAGTSRLLAVGHPYFPKKP--NN	57
HPV35-L1	MSLWRSNEATVYLP-PVSYSKVSTDEIYTRTNIYYHAGSSRLAVGHPYFAIKKQ--DS	57
HPV51-L1	MALWRTNDSKVYLP-PAPVSRIVNTEEYITRTGIYYYAGSSRLITLGHYPFPIPK---T	55
HPV56-L1	MATWRPSENKVYLP-PTPVSKVATDSVVKRTSIFYHAGSSRLAVGHPYYSYTRK---D	55
HPV39-L1	MAMWRSSDSMVYLP-PPSVAKVNTDDIYTRTGIYYYAGSSRLTVGHPYFKV--GM--NG	56
HPV59-L1	MALWRSSDNKVYLP-PPSVAKVSTDEIYTRTSIFYHAGSSRLTVGHPYFKV--PK--GG	56
HPV18-L1	MALWRPSDNTVYLP-PPSVARVNTDDIYTRTSIFYHAGSSRLTVGNPYFRV--PA--GG	56
HPV45-L1	MALWRPSDSTVYLP-PPSVARVNTDDIYSRTSIFYHAGSSRLTVGNPYFRVPS--GA	57
		
HPV6-L1	-NKTVPKVSQYQYRVFKVLPDPNKFALPDSSLFDPITQRLYWACTGLEVGGRQPLGVG	113
HPV11-L1	-NKTVPKVSQYQYRVFKVLPDPNKFALPDSSLFDPITQRLYWACTGLEVGGRQPLGVG	113
HPV52-L1	GKKVLVPKVSGLQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSFYNPETQRLYWACTGLEIGRGQPLGVG	119
HPV58-L1	NKKVLVPKVSGLQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSFYNPETQRLYWACVGLEIGRGQPLGVG	117
HPV33-L1	AKKLLVPKVSGLQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSFYNPETQRLYWACVGLEIGRGQPLGVG	117
HPV31-L1	PKKLVVPKVSGLQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSFYNPETQRLYWACVGLEVGGRQPLGVG	117
HPV16-L1	-NKILVPKVSGLQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSFYNPETQRLYWACVGEVGRQPLGVG	116
HPV35-L1	-NKIAVPKVSGLQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSFYDPAQRLYWACTGLEVGGRQPLGVG	116
HPV51-L1	STRAATPKVSAYQYRVFRVRLDPNKFGLPDPNLYNPDTRLYWGCYGVGEVGRQPLGVG	115
HPV56-L1	NTKTNIPKVSAYQYRVFRVRLDPNKFGLPDTNIYNPDQRLYWACVGLEVGGRQPLGAG	115
HPV39-L1	GRKQDIPKVSAYQYRVFRVRLDPNKFGLPDTASLYNPETQRLYWACVGEVGRQPLGVG	116
HPV59-L1	NGRQDVPKVSAYQYRVFRVRLDPNKFGLPDTNIYNPDQRLYWACVGEVIGRGQPLGVG	116
HPV18-L1	GNKQDIPKVSAYQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSIYNPETQRLYWACAGVEIGRGQPLGVG	116
HPV45-L1	GNKQAVPKVSAYQYRVFRVRLDPNKFGLPDTSIYNPETQRLYWACVGMEIGRGQPLGIG	117
		
HPV6-L1	YSGHPFLNKYDDVENS-GGGNPGQDNRYNVGMDYKQTQLCMVGCAPPLGEHWGKGTQCT	172
HPV11-L1	YSGHPFLNKYDDVENS-GGGNPGQDNRYNVGMDYKQTQLCMVGCAPPLGEHWGKGTQCS	173
HPV52-L1	ISGHPFLNKPDDTEISNKYAGKPGIDNRECLSMYKQTQLCLIGCKPPTGEHWGKGTFCN	179
HPV58-L1	YSGHPFLNKPDDTEISNKYPAQPCSDNRECLSMYKQTQLCLIGCKPPTGEHWGKGVACN	177
HPV33-L1	ISGHPFLNKPDDTEIGNKYPQPGADNRECLSMYKQTQLCLLIGCKPPTGEHWGKGVACT	177
HPV31-L1	ISGHPFLNKPDDTENSRYAGCGTDNRECLSMYKQTQLCLLIGCKPPTGEHWGKGSPCS	177
HPV16-L1	ISGHPFLNKLDDTENASAYANAGVDNRECLSMYKQTQLCLIGCKPPTGEHWGKGSPCT	176
HPV35-L1	ISGHPFLNKLDDTENS NKYVGNSGTDNRECLSMYKQTQLCLIGCKPPTGEHWGKGTFCN	176
HPV51-L1	LSGHPFLNKYDDTENSRIANGNAQQDVRDNTSVGNKQTQLCLIGCAPPTGEHWGIGTTC	175
HPV56-L1	LSGHPFLNKLDDTESSNLANNVIEDSRDNTSVGKQTQLCTYGCFTAMGEHWTKGAYCK	175
HPV39-L1	ISGHPFLNKLDDTENSPTFS-STNKDSRDNSVDYKQTQLCLIGCVPAIGEHWTKGACK	175
HPV59-L1	LSGHPFLNKLDDTENS HVASAVDTKTRDNTSVVDYKQTQLCLIGCVPAIGEHWTRGTACK	176
HPV18-L1	LSGHPFLNKLDDTESSHAATSNVSEDRDNTSVVDYKQTQLCLIGCAPAIGEHWAGTACK	176
HPV45-L1	LSGHPFLNKLDDTESAHAATAVITQDVRDNTSVVDYKQTQLCLIGCVPAIGEHWAGTCLCK	177
		
HPV6-L1	NTPVQAGDCPPELITSVIQGDMDVDTGFGAMNFADLQTNKSDVPLDICTGTCCKYPDYLQ	232
HPV11-L1	NTSVQAGDCPPELITSVIQGDMDVDTGFGAMNFADLQTNKSDVPLDICTGTCCKYPDYLQ	233
HPV52-L1	NNSGNPGDCPPELITSVIQGDMDVDTGFGCMDFNTLQASKSDVPLDICS SVCKYPDYLQ	239
HPV58-L1	NNA-AATDCPPELIFNSIIEGDMDVDTGFGCMDFNTLQANKSDVPLDICTNCKYPDYLK	236
HPV33-L1	NAA-PANDCPPELINTIIEGDMDVDTGFGCMDFNTLQANKSDVPLDICTGCKYPDYLK	236
HPV31-L1	NNAITPGDCPPELITKNSVIQGDMDVDTGFGAMDFTLQDTKSNVPLDICTNCKYPDYLK	237
HPV16-L1	NVAVNPGDCPPELINTVIQGDMDVDTGFGAMDFTLQANKSEVPLDICTSICKYPDYLK	236
HPV35-L1	ANQVKAGECPPELINTVIQGDMDVDTGFGAMDFTLQANKSDVPLDICSICKYPDYLK	236
HPV51-L1	NTPVPPGDCPPELVSSVIQGDMDVDTGFGAMDFAALQATKSDVPLDITSQSVCKYPDYLK	235
HPV56-L1	STQVTTGDCPPELINTPIEDGMDVDTGFGAMDFFKLVQESKAEVPLDIQSTGTCCKYPDYLK	235
HPV39-L1	PNNVSTGDCPPELVNTPIEDGMDVDTGFGAMDFFGALQETKSEVPLDICTGICKYPDYLK	235
HPV59-L1	PTTVYQDCPPELINTPIEDGMDVDTGFGAMDFFKLLQDNKSEVPLDICTGICKYPDYLK	236
HPV18-L1	SRPLSQGDCPPELINTVLEDGMDVDTGFGAMDFTSLQDTKCEVPLDICTGICKYPDYLK	236
HPV45-L1	PAQLQPGDCPPELKNITIEGDMDVDTGFGAMDFTSLQDTKCEVPLDICTGICKYPDYLK	237
		
HPV6-L1	MAADPYGDLFFFLRKEQMFARHFFNRAGEVGEPPDITLTKGS--GNRTSVGSSIIYNT	290
HPV11-L1	MAADPYGDLFFFLRKEQMFARHFFNRAGTVGEPPDILLVKG--NNRSSVASSIIYVHT	291
HPV52-L1	MASEPYGDSLFFFLRREQMPVRHFFNRAGTLGDPVPGDLYIQGSNSGNTATVQSSAFFPT	299
HPV58-L1	MASEPYGDSLFFFLRREQMPVRHFFNRAGLGEAVPDDLYIKGS--GNFAVIQSSAFFPT	294
HPV33-L1	MTSEPYGDSLFFFLRREQMPVRHFFNRAGTLGEAVPDDLYIKGS--GTTASIQSSAFFPT	294
HPV31-L1	HVAEPTGDLFFFLRREQMPVRHFFNRSGTVGESVPTDLYIKGS--GSTATLANSTYFPT	295

HPV16-L1	MYSEPYGDSLFFYLRRQMFYRHLFNRAAGVGENVPDDLYIKGS---GSTANLASSNYFFT	294
HPV35-L1	MYSEPYGDMLEFFYLRRQMFYRHLFNRAAGTVGEIVPADLYIKGT---T---GTLPTSYFFT	292
HPV51-L1	MSADTYGDSMFFHLRREQLFARHYFNKLVCVGEDIPNQQYIKGSG--NGRDPFESYISAT	294
HPV56-L1	MSADAYGDSMFFYLRRQQLFARHYFNRAAGVGETIPARLYIKGS---NGRPPSSVYVAT	293
HPV39-L1	MSADYTGDSMFFCLRRQQLFARHFWRNGGMVGDALPAQLYIKGT---DIRANPGSSVYCP	293
HPV59-L1	MSADAYGDSMFFCLRRQVQFARHFWRNGSGTMDQLPESLYIKGT---DIRANPGSYLYSP	294
HPV18-L1	MSADPYGDSMFFCLRRQQLFARHFWRNAGTMDGTVPQSLYIKGT---GMRASPGSCVYSP	294
HPV45-L1	MSADPYGDSMFFCLRRQQLFARHFWRNAGVMGDTVPTDLYIKGTSANMRETPGSCVYSP	297
HPV6-L1	PSGSLVSSSEALFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMTLCASVT---TSS	348
HPV11-L1	PSGSLVSSSEALFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNHLEFVTVVDTTRSTNMTLCASVS---KSA	349
HPV52-L1	PSGSMYTSSEALFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMTLCASV---KES	357
HPV58-L1	PSGSLVTSSEALFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMTLCETFT---KEG	352
HPV33-L1	PSGSMYTSSEALFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNQVFFVTVVDTTRSTNMTLCQVT---SDS	352
HPV31-L1	PSGSMYTSDAQIFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMSVCAAIAN---SDT	354
HPV16-L1	PSGSMYTSDAQIFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMSLCAAIAT---SET	353
HPV35-L1	PSGSMYTSDAQIFNKPYWLQKAQGHNNGICWSNQLFVTVVDTTRSTNMSVCSAVSS---SDS	351
HPV51-L1	PSGSMYTSDSQIFNKPYWLHRAQGHNNGICWNNQLFVTCVDTTRSTNLTISTATAA---YSP	353
HPV56-L1	PSGSMYTSSEALFNKPYWLQKAQGHNNGICWGNQLFVTVVDTTRSTNMTISTATE---QLS	351
HPV39-L1	PSGSMYTSDSQIFNKPYWLHKAQGHNNGICWHNQLFVTVVDTTRSTNFTLSTSISSIPS	353
HPV59-L1	PSGSMYTSDSQIFNKPYWLHKAQGLNNGICWHNQLFVTVVDTTRSTNLSVCASTISSIPN	354
HPV18-L1	PSGSMYTSDSQIFNKPYWLHKAQGHNNGYCWHNQLFVTVVDTTRSTNLTICASTQSPVPG	354
HPV45-L1	PSGSMYTSDSQIFNKPYWLHKAQGHNNGICWHNQLFVTVVDTTRSTNLTICASTQNPPVN	357
HPV6-L1	TYTNSDYKEYMRHVEEYDLQFIFQLCSITLSAEVMAYIHTMNPVLEDWNFGLSPPPNGT	408
HPV11-L1	TYTNSDYKEYMRHVEEYDLQFIFQLCSITLSAEVMAYIHTMNPVLEDWNFGLSPPPNGT	409
HPV52-L1	TYKNEFKEYLRHGEEDYDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHKMDATILEDWQFGLTPPPSAS	417
HPV58-L1	TYKNDNFKEYVRHVEEYDLQFVFLCKITLTAEINTYIHTMDSNILEDWQFGLTPPPSAS	412
HPV33-L1	TYKNEFKEYLRHVEEYDLQFVFLCKITLTAEVMTYIHAMNPDILEDWQFGLTPPPSAS	412
HPV31-L1	TFKSNFKEYLRHGEEDYDLQFIFQLCKITLSADIMTYIHSMPATILEDWNFGLTPPPSGS	414
HPV16-L1	TYKNTNFKEYLRHGEEDYDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGGT	413
HPV35-L1	TYKNDNFKEYLRHGEEDYDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHSMPNPTILEDWNFGLTPPPSGT	411
HPV51-L1	TFTPSNFKEYLRHGEEDYDLQFIFQLCKITLTTEVMAYLHTMDPTILEDWNFGLTPPPSAS	413
HPV56-L1	KYDARKINQYLRRHVEEYDLQFVFLCKITLSAEVMAYLHNMNANILEDWNLGLSPPVATS	411
HPV39-L1	TYDPSKFKEYLRHVEEYDLQFIFQLCTVTLTDDVMSYIHTMNSIILDNWNFAVAPPSPAS	413
HPV59-L1	VYTPTSFKEYLRHVEEYDLQFIFQLCKITLTTEVMSYIHNMTTILEDWNFVGPVPPPTAS	414
HPV18-L1	QYDATKFKQYSRHYEYDLQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSIILDNWNFGVPPPTTS	414
HPV45-L1	TYDPTKFKHYSRHYEYDLQFIFQLCTITLTAEVMSYIHSMNSSIILDNWNFGVPPPTTS	417
HPV6-L1	LEDTRYVQSQAITCQKPTPEKEKDPYKNSLFWYVNLKEKFSSELDQYPLGRKFLLQSG	468
HPV11-L1	LEDTRYVQSQAITCQKPTPEKEKQDPYKMSFWYVNLKEKFSSELDQYPLGRKFLLQSG	469
HPV52-L1	LEDTRYFVTSQAITCQKNTPPKCKEDPLKDYMFWEVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQAG	477
HPV58-L1	LQDTYRFVTSQAITCQKTAPPEKEKEDPLKNTYTFWEVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQSG	472
HPV33-L1	LQDTYRFVTSQAITCQKTVPPEKEKEDPLGKYTFWEVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQAG	472
HPV31-L1	LEDTRYFVTSQAITCQKSAPOKPKEDPPKDYVFWYVNLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQAG	474
HPV16-L1	LEDTRYFVTSQAITCQKHTPPAPKEDPLKNTYTFWEVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQAG	473
HPV35-L1	LEDTRYVTSQAIVTCQKPSAPKPKDDPLKNTYTFWEVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQAG	471
HPV51-L1	LEDARYFVRNAATSCQKDTPPQAKPDLAKYKFWVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQVQ	473
HPV56-L1	LEDKTRYVRSQAITCQREQPPTEKQDPLAKYKFWVDLQDSFSDLDQYPLGRKFLLQEG	471
HPV39-L1	LYDTYRYLQSAATCQKDAPEKEDPYDGLKFWNVDLREKFSLELDQYPLGRKFLLQAR	473
HPV59-L1	LYDTYRFVQSAATCQKDTAPPVQDPYDKLFWVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQEG	474
HPV18-L1	LYDTYRFVQSAATCQKDAAPAENKDPYDKLFWVDLKEKFSADLDQYPLGRKFLLQAG	474
HPV45-L1	LYDTYRFVQSAVTCQKDTTPPEKQDPYDKLFWVDLKEKFSSELDQYPLGRKFLLQAG	477
HPV6-L1	YRGRSSIRTGVKRPVSKASAPKRRKRAKTKR---	500
HPV11-L1	YRGRISARTGIKRPVSKPSTAPKRRKTKTKK---	501
HPV52-L1	LQARPKLKRPAASSAPRTST---KKK-KYKR---	503
HPV58-L1	LKAKPRLKRSAPTTRAP-ST---KKK-KYKK---	498
HPV33-L1	LKAKPKLKRAAPTSTRSSA---KKK-KYKK---	499
HPV31-L1	YRARPKFKAGKRSAPSASTITPAKRKKTKK---	504
HPV16-L1	LKAKPKFLGKKRATPTSTSTTAKRKRRL---	505
HPV35-L1	LKARPNFLGKRAAPASTSKKSTKRRKYKS---	502
HPV51-L1	VQRKPRPGLKRPAASSASSSSSSAKRRKYKK---	504
HPV56-L1	TRSKPAVATSKKRSAPTSTST-TPAKRRKR---	499
HPV39-L1	VRRRPTIGPRKRPAASTSSSSATKHKRRVSK---	505
HPV59-L1	ARPKPTIGPRKRAAPTSTSPSKRVKRRKSSRK---	508
HPV18-L1	LRRKPTIGPRKRSAPSATTSSKPAKRVRVARK---	507
HPV45-L1	LRRRPTIGPRKRPAASTSTASRPKRVRIKSKK---	510

除发明人所用的序列对比的方法之外，可用于预测的蛋白质二

级结构预测软件包括但不限于：

1. JPred: <http://www.compbio.dundee.ac.uk/jpred/index.html>

2. ProtPredicct: <http://predictprotein.org>

3. PsiPred: <http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>

5 4. SCRATCH-1D: <http://download.igb.uci.edu>

5. Nnpredict: <http://www.cmpharm.ucsf.edu/~nomi/nnpredict>

6.

Predictprotein: <http://www.embl-heidelberg.de/predictprotein/SOPMA>
<http://www.ibcp.fr/predict.html>

10 7.

SSPRED: http://www.embl-heidelberg.de/sspred/ssprd_info.html。

在本发明的一个实施方式中，发明人以以下方式确定衍生于第一型别的 HPV L1 蛋白的 N 端片段的长度：将 L1 蛋白天然序列在其 $\alpha 5$ 区及其附近区域截短，保留从其 N 末端至 $\alpha 5$ 区域新产生的 C 末
15 端的序列。如此截短的序列可以保证其具有本型别的免疫原性，且能够形成 VLP。

衍生于第一型别的 HPV L1 蛋白的 N 端片段还可以进一步改造，以保证其具有本型别的免疫原性，且能够形成 VLP 为限。

发明人以以下方式确定了衍生于第二型别的 HPV L1 蛋白的 C
20 端片段的长度。将 L1 蛋白天然序列在其 $\alpha 5$ 区及其附近区域截短，保留从其 $\alpha 5$ 区域新产生的 N 末端至 C 末端序列。如此截短的序列不具有主要中和抗原表位，不干扰形成的嵌合蛋白的免疫原性。

衍生于第二型别的 HPV L1 蛋白的 C 端片段还可以进一步突变、缺失和/或添加，优选保留其至少一个核定位序列。Yang 等人预测
25 了 107 种 HPV 亚型的核定位序列（Yang et al. Predicting the nuclear localization signals of 107 types of HPV L1 proteins by bioinformatic analysis. Geno. Prot. Bioinfo. Vol. 4 No. 1 2006 通过引用全部并入本文），各型别的 HPV L1 蛋白的核定位序列可以通过本领域常用的序列分析软件方便地确定。

上述 N 端片段和 C 端片段的连接发生在前者的新产生的 C 末端和后者的新产生的 N 末端。可以是直接连接也可以是通过接头连接。将连接点视为原点，则在原点的 N 端侧为负，而其 C 端侧为正。

如下示出 HPV6 L1 蛋白的 453-469 位氨基酸序列、以及多个型别 HPV L1 蛋白的与之相对应的一段序列。可以看出这些序列高度相似。这段序列和 $\alpha 5$ 区有重合。括号内数字表示所列出序列的最后一位氨基酸的位置，其中对于 HPV 45 型，一些 HPV 45 型毒株的 L1 蛋白的 N 端存在额外的 26 个氨基酸，而在另一些 HPV 45 型毒株的 L1 蛋白的 N 端不存在所述额外的 26 个氨基酸，所以以 (478)+26 表示。

HPV6 ELDQYPLGRKFLLQSGY(469)
HPV11 ELDQFPLGRKFLLQSGY(470)
HPV16 DLDQFPLGRKFLLQAGL(474)
HPV18 DLDQYPLGRKFLVQAGL(475)
15 HPV31 DLDQFPLGRKFLLQAGY(475)
HPV35 DLDQFPLGRKFLLQAGL(472)
HPV39 ELDQFPLGRKFLLQARV (474)
HPV45 DLDQYPLGRKFLVQAGL(478)+26
HPV51 DLDQFALGRKFLLQVG(474)
20 HPV52 DLDQFPLGRKFLLQAGL(478)
HPV56 DLDQFPLGRKFLMQLGTRS(474)
HPV58 DLDQFPLGRKFLLQSG(473)
HPV33 DLDQFPLGRKFLLQAGL(473)

KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK 其中,480-481 的 KR 和 493-496 位的 KKK 是核定位序列。

HPV59
DLDQFPLGRKFLLQLGA(475)RPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRR
KSSRK, 其中, 484-486 的 RKR 和 498-504 的 KRVKRRK 是核定位序
列。

在本发明的一个实施方式中，发明人借助多个 HPV 型别之间的 $\alpha 5$ 区及其附近区域的序列相似性，便利地完成了不同型别之间的 L1 蛋白的 C 端替换。

在本发明的最优选的实施方式中，发明人注意到各个型别的 HPV L1 蛋白都在相似的位置具有一段四肽 RKFL，更有利的情形是一段六肽 LGRKFL。发明人巧妙地利用这一高度保守的序列，将嵌合蛋白的连接点设计在这一段寡肽的任一氨基酸位点。自一个方面看来，自嵌合蛋白 N 末端起至 RKFL 或 LGRKFL 止与衍生于第一型别的 HPV L1 蛋白的 N 端片段的序列相同，而从另一方面看来自 RKFL 或 LGRKFL 起至嵌合蛋白的 C 末端止，与衍生于第二型别的 L1 蛋白的 C 端片段的序列相同。

如此产生的嵌合蛋白保持与天然 HPV L1 蛋白高度相似性，可以预期在生产乃至此后的医疗或预防过程中，都会有良好的表现。

本领域的技术人员会理解，因为同一型别的 HPV 有不同的毒株，因此其天然序列不同，利用不同毒株构建而成的嵌合蛋白亦落入本发明。

本领域的技术人员会理解，因为不同型别 HPV L1 的高度相似性，如果在嵌合蛋白构建过程中，将衍生于第一型别 HPV L1 蛋白的 N 端片段向 C 末端延伸更多的氨基酸残基，或者是将衍生于第二型别的 HPV L1 蛋白的 C 端片段向 N 末端延伸更多的氨基酸残基，亦有可能因相应位点上氨基酸的相同或相似，形成与本发明结构一致的嵌合蛋白。如此形成的嵌合蛋白亦落入本发明。

本领域的技术人员会理解，在以上描述的实施方式的嵌合蛋白的基础上，会通过氨基酸残基的突变、缺失和/或添加形成嵌合蛋白的变体。这些变体有可能具有第一型别的 HPV L1 蛋白的免疫原性、可以形成 VLP，且具有良好的产量和可溶性。如此形成的嵌合蛋白亦落入本发明。

发明的有益效果

目前普遍用于生产病毒样颗粒的表达系统分为真核表达系统和原核表达系统。真核表达系统表达的乳头瘤病毒 L 蛋白能自发装配成病毒样颗粒，但具有表达量低不易规模化生产的缺点。原核表达系统表达的乳头瘤病毒 L 蛋白的天然构象往往被破坏，需要后期进行体外处理才能得到病毒样颗粒，而且产量较低，很难进行产业化。

本发明将乳头瘤病毒（例如人乳头瘤病毒）L 蛋白的 C 端进行改造，例如替换为 HPV 16 型 L1 蛋白、HPV 28 型 L1 蛋白、HPV 33 型 L1 蛋白、HPV 59 型 L1 蛋白或 HPV 68 型 L1 蛋白中的 C 端片段，可以在表达系统（例如宿主细胞，例如昆虫细胞）中提高乳头瘤病毒 L 蛋白的表达量和可溶性。这可用于疫苗例如 HPV 疫苗的大规模生产。

发明人自行发现 HPV 16 型 L1 蛋白、HPV 28 型 L1 蛋白、HPV 33 型 L1 蛋白、HPV 59 型 L1 蛋白和 HPV 68 型 L1 蛋白相较于其他型的 L1 蛋白表达量和可溶性较好，且发现所述增加的蛋白表达量和可溶性取决于所述 HPV L1 蛋白的 C 端序列。在 107 型 HPV L1 蛋白中，大部分在 C 端具有核定位序列，且 C 端序列具有一定的相似性。

对于目前无法表达、表达量非常低或表达后不可溶的乳头瘤病毒 L 蛋白，将其 C 端片段替换为 HPV 16 型 L1 蛋白、HPV 28 型 L1 蛋白、HPV 33 型 L1 蛋白、HPV 59 型 L1 蛋白或 HPV 68 型 L1 蛋白中的 C 端片段，使得原本表达量极低或不可溶的乳头瘤 L 蛋白的可溶性表达和后续纯化成为可能。这可以用于更多价疫苗（例如 HPV 疫苗）的大规模生产，使得更全面地预防多种乳头瘤病毒，特别是 HPV 的感染成为可能。

为了实现疫苗的大规模生产，还存在提高 HPV L1 蛋白在昆虫细胞中的表达量和可溶性的需求。此外，在酵母细胞中，因为无法正确形成二硫键，HPV L1 蛋白装配成的病毒样颗粒缺乏良好的构象。

对于在昆虫细胞中表达量低且可溶性差的 HPV L1 蛋白，将其 C 端片段改造为 HPV 33 型或 59 型 L1 蛋白的 C 端片段后，表达量和可溶性显著提高，可用于 HPV 疫苗的大规模生产。

对于相较于其他型的 L1 蛋白在昆虫细胞中表达量和可溶性较好的 HPV L1 蛋白，例如 HPV 16 型、HPV 28 型 L1 蛋白、HPV 68 型 L1 蛋白等，为了实现疫苗的大规模生产，还存在进一步提高表达量和可溶性的需求。在本发明中，例如，将 HPV 16 型 L1 蛋白的 C 端
5 片段改造为 HPV 33 型 L1 蛋白的 C 端片段后，改造后的嵌合的 HPV 16 型 L1 蛋白表达量和可溶性均得到改善，有利于 HPV 疫苗的大规模生产。

总之，嵌合 HPV L1 蛋白相比于未改造之前的 HPV L1 蛋白在昆虫细胞中的表达量和可溶性大大提高。可用于 HPV 疫苗的大规模生
10 产。此外，嵌合 HPV L1 蛋白在昆虫细胞中可以正确形成二硫键而装配为具有良好构象的 HPV 病毒样颗粒。这可以提高 HPV 病毒样颗粒的免疫原性，产生更好的免疫应答。

本发明的多价疫苗可以用于预防多种 HPV 相关疾病或感染，包括目前尚无法预防的 HPV 型别。

15

定义

除非另有说明，本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所属的技术领域的普通技术人员通常理解的含义。为方便地理解本发明，以下引述下列术语的通常含义。

20 当用于本文和所附权利要求书中时，单数形式“一个/种”、“另一个/种”和“所述/该”包括复数指代对象，除非上下文明确地另有指示。除非另有明确说明，否则术语“包括/包含/具有”、“例如”等旨在传达包含而非限制。

术语“免疫原性”是指某种物质，例如蛋白质或多肽刺激免疫
25 应答的能力，即刺激产生抗体，尤其是产生体液或者刺激细胞介导的应答的能力。

术语“抗体”指能结合抗原的免疫球蛋白分子。抗体可以是多克隆混合物或单克隆。抗体可以是源于天然来源或源于重组来源的完整的免疫球蛋白或可以是完整的免疫球蛋白的免疫反应性部分。

抗体可以存在于多种形式，包括例如 Fv、Fab'、F(ab')₂ 以及以单链存在。

术语“抗原性”是指某种物质，例如蛋白质或多肽产生与其特异性结合的抗体的能力。

- 5 术语“表位”包括能够特异性结合至抗体或 T 细胞受体的任何蛋白质决定簇。表位决定簇通常由分子的化学活性表面基团（例如氨基酸或糖侧链，或其组合）组成，并且通常具有特定三维结构特征以及特定的电荷特征。

- 10 术语“亚型”或“型别”可在本文中互换使用，表示所述病毒抗原的遗传变体以使得一个亚型区别于一个不同亚型地被免疫系统识别。例如，HPV 16 在免疫学上可区别于 HPV 33。

- 15 术语“HPV L1 蛋白”如本文所用，术语“HPV”和“人乳头状瘤病毒”是指乳头状瘤病毒科的无包膜双链 DNA 病毒。它们的基因组是圆形的，并且大小约为 8 千碱基对。大多数 HPV 编码八种主要蛋白，六种位于“早期”区域(E1-E2)，并且两种位于“晚期”区域(L1(主要衣壳蛋白)和 L2(次要衣壳蛋白))。已经鉴定了超过 120 种 HPV 类型，并且它们由数字标出(例如，HPV-16、HPV-18 等)。

- 20 术语“HPV”或“HPV 病毒”指乳头状瘤病毒科的乳头状瘤病毒，为无包膜 DNA 病毒，该病毒基因组为双链闭环 DNA，大小约为 8kb，通常可以分为三个区域：①早期区(E)，含有编码 E1、E2、E4~E7 病毒复制、转录及转化有关的非结构蛋白的 6 个开放阅读框，以及 E3 和 E8 开放阅读框；②晚期区(L)含有编码主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2 的阅读框；③长调控区(LCR)不编码任何蛋白，但具有复制的起源以及多个转录因子结合位点。

- 25 术语“HPV L1 蛋白”及“HPV L2 蛋白”指由 HPV 基因的晚期区(L)编码，在 HPV 感染周期中晚期合成的蛋白。L1 蛋白质是主要的衣壳蛋白并且具有 55-60kDa 的分子量。L2 蛋白质是次要的衣壳蛋白质。72 个 L1 五聚体构成二十面体 HPV 病毒粒子的外壳，包裹闭环双链 DNA 微染色体。L2 蛋白质位于 L1 蛋白质内侧。

术语“病毒样颗粒”是含有某种病毒的一个或多个结构蛋白的空心颗粒，没有病毒核酸。

“HPV 假病毒”系利用 HPV VLP 的非特异包裹核酸的特性，通过细胞内表达的 HPV L1 和 L2 组成的 VLP 包裹游离的 DNA 或导入外源质粒形成。是理想的 HPV 体外中和实验模型。

“假病毒中和法”是评价抗体的中和活性的一种方法，将免疫后的动物血清与一定量的假病毒孵育后再侵染细胞，细胞会随着血清中中和抗体的增加而减少，在一定的范围内可存在线性负相关，因此可以通过检测表达细胞数的变化来评价血清中抗体的中和活性。

术语“其片段”或“其变体”指根据本发明的部分核苷酸或氨基酸序列被缺失、插入和/或取代。优选地，本发明提供的多肽的片段或变体能在动物或人体中引发体液和/或细胞免疫应答。

术语“嵌合”意指，源自不同的亲本分子的多肽或核苷酸序列分别经由酰胺键或 3', 5' - 磷酸二酯键连接在一起。优选的，不被额外的接头序列分隔开，而是直接彼此相邻。

术语“截短”意指通过从多肽的 N 和/或 C-末端除去一个或多个氨基酸或者缺失一个或多个多肽内部的氨基酸。

术语“核定位序列”为可引导蛋白质进入细胞核的氨基酸序列。在一些 HPV L1 蛋白中，两个紧密的碱性残基簇(即核定位序列)(例如一个是 KRKR、KRKK、KRKRK、KRKKRK、KRVKRRK 等，另一个是 KR、RKR、KRK 等)之间具有 10-14 个氨基酸的间隔区。上述碱性残基簇属于核定位序列。在另一些 HPV L1 蛋白中，核定位序列为精氨酸和/或赖氨酸形成的紧密的碱性残基簇。核定位序列包括但不限于如上所述碱性残基簇的实例。参见 Jun Yang 等，Predicting the Nuclear Localization Signals of 107 Types of HPV L1 Proteins by Bioinformatic Analysis, Genomics, Proteomics & Bioinformatics Volume 4, Issue 1, 2006, Pages 34-41, 其全部内容通过引用并入本文。

术语“功能性变体”为某一多肽或蛋白经截短、突变、缺失和/

或添加后仍然保持所需要的活性或特征的本。版。

5 两条多肽或核酸序列之间的“序列同一性”表示所述序列之间相同的残基的数目占残基总数的百分比，且基于比较的分子中较小者的大小来计算。在计算同一性百分数时，将正在比较的序列以产生序列之间最大匹配的方式比对，通过特定算法解决比对中的空位(如果存在的话)。确定两个序列之间同一性的优选计算机程序方法包括，但不限于，GCG 程序包，包括 GAP、BLASTP、BLASTN 和 FASTA(Altschul 等人，1990，J.Mol.Biol.215: 403-410)。上述程序可以公开地从国际生物技术信息中心(NCBI)和其他来源得到。熟知的
10 Smith Waterman 算法也可用于确定同一性。

可以保守性置换非关键的氨基酸而不影响蛋白质的正常功能。保守性置换意指用化学或功能相似的氨基酸置换氨基酸。提供相似氨基酸的保守性置换表是本领域熟知的。举例来说，在一些实施方式中，表 1-3 中提供的氨基酸组被认为是相互的保守性置换。

15 表 1 在某些实施方式中，被认为是相互保守性置换的氨基酸的所选组

酸性残基	D 和 E
碱性残基	K、R 和 H
亲水性不带电荷的残基	S、T、N 和 Q
脂肪族不带电荷的残基	G、A、V、L 和 I
非极性不带电荷的残基	C、M 和 P
芳香族残基	F、Y 和 W

表 2 在某些实施方式中，被认为是相互的保守性置换的氨基酸的其他所选组

组 1	A、S 和 T
组 2	D 和 E
组 3	N 和 Q
组 4	R 和 K
组 5	I、L 和 M

组 6	F、Y 和 W
-----	---------

表 3 在某些实施方式中，被认为是相互的保守性置换的氨基酸的其他所选组

组 A	A 和 G
组 B	D 和 E
组 C	N 和 Q
组 D	R、K 和 H
组 E	I、L、M、V
组 F	F、Y 和 W
组 G	S 和 T
组 H	C 和 M

术语“氨基酸”意指二十种常见的天然存在的氨基酸。天然存在的氨基酸包括丙氨酸（Ala；A）、精氨酸（Arg；R）、天冬酰胺（Asn；N）、天冬氨酸（Asp；D）、半胱氨酸（Cys；C）；谷氨酸（Glu；E）、谷氨酰胺（Gln；Q）、甘氨酸（Gly；G）、组氨酸（His；H）、异亮氨酸（Ile；I）、亮氨酸（Leu；L）、赖氨酸（Lys；K）、蛋氨酸（Met；M）、苯丙氨酸（Phe；F）、脯氨酸（Pro；P）、丝氨酸（Ser；S）、苏氨酸（Thr；T）、色氨酸（Trp；W）、酪氨酸（Tyr；Y）和缬氨酸（Val；V）。

如本文所用的“生理学上可接受的载体”，其对所用剂量和浓度的细胞或哺乳动物是无毒的。通常为 pH 缓冲含水溶液，其非限制性实例包括缓冲剂；抗氧化剂；寡肽；蛋白质；亲水性聚合物；氨基酸；单糖、二糖和其它碳水化合物；螯合剂；糖醇；成盐的抗衡离子，例如钠；以及/或非离子表面活性剂。

术语“佐剂”指一种增强免疫应答的化合物或混合物。特别的，疫苗可以包含佐剂。用于本发明的佐剂可以包括但不限于以下的一种或多种：含矿物佐剂组合物、油-乳佐剂、皂素佐剂制剂、细菌或微生物衍生物。

术语“载体”意指能够增殖与其连接的另一核酸的核酸分子。

该术语包括作为自我复制核酸结构的载体以及作为整合至已引入载体的宿主细胞基因组中的载体。某些载体能够引导该类载体以可操作方式连接的核酸的表达。

术语“宿主细胞”意指已引入外源核酸的细胞，以及这样的细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”（或“转化细胞”）、“转染体”（或“转染细胞”）或“感染体”（或“感染细胞”），其各自包括初代转化、转染或感染的细胞和由其衍生的后代。这样的后代在核酸含量上可能不与亲本细胞完全相同，并且可能含有突变。

施用量优选的为“预防性有效量”（本文预防可以被认为是治疗，两者可互换使用），其足以对个体显示出益处。

实施例

实施例 1 基因的构建

实施例 1.1: HPV6L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的构建

1.1.1 用作模板的 pFB-HPV6L1 的构建

委托 Thermo Fisher 公司[原英潍捷基（上海）贸易有限公司]基因合成 HPV6L1 基因，且合成的序列两端分别具有 KpnI 和 XbaI 酶切位点，其序列见 SEQ ID NO: 5。通过 KpnI 和 XbaI 酶切位点将合成的基因片段与 pcDNA3 载体（销售商 Thermo Fisher）连接，得到含有编码 HPV6L1 1-500 个氨基酸的核苷酸序列的质粒 pcDNA3-HPV6-L1。

将得到的 pcDNA3-HPV6-L1 质粒进行 KpnI 和 XbaI 双酶切得到 HPV6L1（1-500）的基因的片段。再将该片段与 KpnI 和 XbaI 双酶切的 pFastBacTM1 载体（销售商 Thermo Fisher）进行连接，得到含 HPV6L1（1-500）基因片段的杆粒载体，命名为 pFB-HPV6L1。

1.1.2 用作模板的 pFB-HPV33L1 的构建

委托 Thermo Fisher 公司[原英潍捷基（上海）贸易有限公司]基因合成 HPV33L1 基因，且合成序列两端分别具有 KpnI 和 XbaI 酶切

位点，基因片段序列见 SEQ ID NO: 6。通过 KpnI 和 XbaI 酶切位点将合成的基因片段与 pcDNA3 载体（销售商 Thermo Fisher）连接，得到含有编码 HPV33L1 1-499 位氨基酸的核苷酸序列的质粒 pcDNA3-HPV33-L1。

- 5 将得到的 pcDNA3-HPV33-L1 质粒进行 KpnI 和 XbaI 双酶切得到 HPV33L1（1-499）的基因的片段。再将该片段与 KpnI 和 XbaI 双酶切的 pFastBacTM1 载体（销售商 Thermo Fisher）进行连接，得到含 HPV33L1（1-499）基因片段的杆粒载体，命名为 pFB-HPV33L1。

1.1.3 pFB-HPV6L1: 33C 的构建

- 10 HPV6L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因：以构建成功的重组质粒 pFB-HPV6L1 为基因模板，用引物 F1 和 R1 扩增长度为 1426bp 基因片段，引物序列 F1 如 SEQ ID No: 7 所示，R1 如 SEQ ID No: 8 所示。

- 该基因片段包含编码 HPV6L1 的 1-469 氨基酸的基因片段、与
15 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基以及 KpnI 酶切位点(GGTAC^C)段，扩增的序列如 SEQ ID No: 9 所示：

PCR 扩增参数：94℃预变性 5min；98℃变性 10s、69℃退火 15s、72℃ 1kb/1min、进行 30 个循环；72℃延伸 5min；16℃结束。

- 以重组质粒 pFB-HPV33L1 为基因模板，用引物 F2 和 R2，扩增
20 长度 101bp 的基因片段，引物序列 F2 如 SEQ ID No: 10 所示，R2 如 SEQ ID No: 11 所示。

该基因片段含 HPV33L1 C 端的 26 个（474-499）氨基酸的基因片段、与 HPV6L1 的 1-469 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基以及 XbaI(T^CTAGA)酶切位点，扩增的序列如 SEQ ID No: 12 所示。

- 25 PCR 扩增参数：94℃预变性 5min；98℃变性 10s、69℃退火 15s、72℃ 1kb/1min、进行 30 个循环；72℃延伸 5min；16℃结束。

PCR 拼接序列：

拼接引物分别为 F1 和 R2，以上述引物扩增得到的片段（F1 和 R1 扩增得到的片段，F2 和 R2 扩增得到的片段）为模板。

PCR 拼接参数: 94°C 预变性 5min; 98°C 变性 10s、52°C 退火 15s、72°C 1kb/1min、进行 5 个循环; 98°C 变性 10s、68°C 退火 15s、72°C 1kb/1min、进行 25 个循环; 72°C 延伸 5min; 16°C 结束。

最终得到 SEQ ID NO: 4, 编码由 HPV6L1 的 1-469 氨基酸和 HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸组成的核苷酸序列, 两端带有 KpnI 和 XbaI 酶切位点 (下称拼接序列)。

用 KpnI+XbaI 双酶切 pFastBacTM1 载体和拼接序列片段, 将拼接序列克隆到 pFastBacTM1 载体上, 获得重组质粒 pFB-HPV6L1: 33C。即为 HPV6L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因。

10

实施例 1.2 HPV11L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的构建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 2。

实施例 1.3 HPV16L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的构

15 建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 3。

实施例 1.4 HPV18L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的构建

20

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 4。

实施例 1.5 HPV31L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的构建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 5。

25

实施例 1.6 HPV33L1 基因的构建

1.6.1 pFB-HPV33L1 基因的制备

HPV33L1 基因通过基因合成的方法构建而成, 委托 Thermo Fisher 公司[原英潍捷基(上海)贸易有限公司]基因合成, 合成序列

两端分别具有 KpnI 和 XbaI 酶切位点，基因片段序列见 SEQ ID No: 68。通过 KpnI 和 XbaI 酶切位点将合成的基因片段与 pcDNA3 载体(销售商 Thermofisher) 连接，得到含有编码 HPV33L1 1-499 个氨基酸的核苷酸序列的质粒 pcDNA3-HPV33-L1。

- 5 将得到的 pcDNA3-HPV33-L1 质粒进行 KpnI 和 XbaI 双酶切得到 HPV33L1 (1-499) 的基因的片段。再将该片段与 KpnI 和 XbaI 双酶切的 pFastBacTM1 载体 (销售商 Thermofisher) 进行连接，得到含 HPV33L1 (1-499) 基因片段的杆粒载体，命名为 pFB-HPV33L1。

10 实施例 1.7 HPV35L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的构建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同，相关序列参见附录 7。

15 实施例 1.8 HPV39L1 C 端替换为 HPV59L1 C 端的嵌合基因的构建

1.8.1 用作模板的 pFB-HPV39L1 的构建

- 委托 Thermo Fisher 公司[原英潍捷基 (上海) 贸易有限公司]基因合成 HPV39L1 基因，且合成的序列两端分别具有 KpnI 和 XbaI 酶切位点，其序列见 SEQ ID NO: 86。通过 KpnI 和 XbaI 酶切位点将合成的基因片段与 pcDNA3 载体 (销售商 Thermo Fisher) 连接，得到含有编码 HPV39L1 1-505 个氨基酸的核苷酸序列的质粒 pcDNA3-HPV39-L1。
- 20

- 将得到的 pcDNA3-HPV39-L1 质粒进行 KpnI 和 XbaI 双酶切得到 HPV39L1 (1-505) 的基因的片段。再将该片段与 KpnI 和 XbaI 双酶切的 pFastBacTM1 载体 (销售商 Thermo Fisher) 进行连接，得到含 HPV39L1 (1-505) 基因片段的杆粒载体，命名为 pFB-HPV39L1。
- 25

1.8.2 用作模板的 pFB-HPV59L1 的构建

委托 Thermo Fisher 公司[原英潍捷基 (上海) 贸易有限公司]基因合成 HPV59L1 基因，且合成序列两端分别具有 KpnI 和 XbaI 酶切

位点，基因片段序列见 SEQ ID NO: 87。通过 KpnI 和 XbaI 酶切位点将合成的基因片段与 pcDNA3 载体（销售商 Thermo Fisher）连接，得到含有编码 HPV59L1 1-508 位氨基酸的核苷酸序列的质粒 pcDNA3-HPV59-L1。

- 5 将得到的 pcDNA3-HPV59-L1 质粒进行 KpnI 和 XbaI 双酶切得到 HPV59L1（1-508）的基因的片段。再将该片段与 KpnI 和 XbaI 双酶切的 pFastBacTM1 载体（销售商 Thermo Fisher）进行连接，得到含 HPV59L1（1-508）基因片段的杆粒载体，命名为 pFB-HPV59L1。

1.8.3 pFB-HPV39L1: 59C 的构建

- 10 HPV39L1 C 端替换为 HPV59L1 C 端的嵌合基因：以构建成功的重组质粒 pFB-HPV39L1 为基因模板，用引物 F1 和 R1 扩增长度为 1428bp 基因片段，引物序列 F1 如 SEQ ID No: 88 所示，R1 如 SEQ ID No: 89 所示。

- 该基因片段包含编码 HPV39L1 的 1-469 氨基酸的基因片段、与
15 HPV59L1 的 471-508 氨基酸的基因片段重叠的 12 个碱基以及 KpnI 酶切位点(GGTAC^C)段，扩增的序列如 SEQ ID No: 90 所示：

PCR 扩增参数：94℃预变性 5min；98℃变性 10s、69℃退火 15s、72℃ 1kb/1min、进行 30 个循环；72℃延伸 5min；16℃结束。

- 以重组质粒 pFB-HPV59L1 为基因模板，用引物 F2 和 R2，扩增
20 长度 139bp 的基因片段，引物序列 F2 如 SEQ ID No: 91 所示，R2 如 SEQ ID No: 92 所示。

该基因片段含 HPV59L1 C 端的 38 个（471-508）氨基酸的基因片段、与 HPV39L1 的 1-469 氨基酸 C 端基因片段重叠的 12bp 碱基以及 XbaI(T^CTAGA)酶切位点，扩增的序列如 SEQ ID No: 93 所示。

- 25 PCR 扩增参数：94℃预变性 5min；98℃变性 10s、69℃退火 15s、72℃ 1kb/1min、进行 30 个循环；72℃延伸 5min；16℃结束。

PCR 拼接序列：

拼接引物分别为 F1 和 R2，以上述引物扩增得到的片段（F1 和 R1 扩增得到的片段，F2 和 R2 扩增得到的片段）为模板。

PCR 拼接参数: 94°C预变性 5min; 98°C变性 10s、52°C退火 15s、72°C 1kb/1min、进行 5 个循环; 98°C变性 10s、68°C退火 15s、72°C 1kb/1min、进行 25 个循环; 72°C延伸 5min; 16°C结束。

最终得到 SEQ ID NO: 85, 编码由 HPV39L1 的 1-469 氨基酸和
5 HPV59L1 C 端的 38 个 (471-508) 氨基酸组成的核苷酸序列, 两端
带有 KpnI 和 XbaI 酶切位点 (下称拼接序列)。

用 KpnI+XbaI 双酶切 pFastBacTM1 载体和拼接序列片段, 将拼接
序列克隆到 pFastBacTM1 载体上, 获得重组质粒 pFB-HPV39L1: 59C。
即为 HPV39L1 C 端替换为 HPV59L1 C 端的嵌合基因。

10

实施例 1.9 HPV45L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的构
建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 9。

15

实施例 1.10 HPV51L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的
构建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 10。

20

实施例 1.11 HPV52L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的
构建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 11。

25

实施例 1.12 HPV56L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的
构建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 12。

实施例 1.13 HPV58L1 C 端替换为 HPV33L1 C 端的嵌合基因的
构建

实验方法和步骤与实施例 1.1 相同, 相关序列参见附录 13。

实施例 1.14 HPV59L1 基因的构建

实施例 1.14.1 pFB-HPV59L1 基因的制备

- HPV59L1 基因通过基因合成的方法构建而成，委托 Thermo Fisher 公司[原英潍捷基（上海）贸易有限公司]基因合成，合成序列两端分别具有 KpnI 和 XbaI 酶切位点，基因片段序列见 SEQ ID No: 162。通过 KpnI 和 XbaI 酶切位点将合成的基因片段与 pcDNA3 载体（销售商 ThermoFisher）连接，得到含有编码 HPV59L1 1-508 个氨基酸的核苷酸序列的质粒 pcDNA3-HPV59-L1。
- 10 将得到的 pcDNA3-HPV59-L1 质粒进行 KpnI 和 XbaI 双酶切得到 HPV59L1（1-508）的基因的片段。再将该片段与 KpnI 和 XbaI 双酶切的 pFastBacTM1 载体（销售商 ThermoFisher）进行连接，得到含 HPV59L1（1-508）基因片段的杆粒载体，命名为 pFB-HPV59L1。

15 实施例 2 重组杆状病毒的包装

实施例 2.1: HPV 6L1: 33C 重组杆状病毒包装

- 实施例 1 构建的 pFB-HPV 6L1: 33C 的重组质粒经鉴定和测序正确后，将其转化至 DH10Bac 细菌感受态细胞（Bac-to-Bac[®]试剂盒，购于 Thermo Fisher）中，37℃培养扩增，并进行平皿划线培养，挑选白色菌斑并扩增，培养过夜后收集菌液，使用碱裂解法提取重组杆粒 DNA。
- 20

用阳离子转染试剂（购于 Sino Biological）将其转染至昆虫细胞 SF9 中进行重组杆状病毒毒种包装。具体操作如下：

- a. 取对数生长期的 SF9 细胞按照 0.6×10^6 cell/dish 的密度接种 dish，将接种有 SF9 细胞的 dish 室温放置 2h，贴壁。
 - b. 提取的质粒 20μL Bacmid DNA 加至 200μL Grace's Medium(无血清，无添加物，购于 Gibico)混和颠倒 5 次。
 - c. 25μL 0.2x TF1（转染试剂，购于 Sino Biological）滴加至 200μL Grace's Medium 轻轻混匀。
- 25

d. 将 b 和 c 混合。室温孵育 15-45min。

e. 当 DNA 与 cellfectin (购于 Sino Biological) 孵育时, 弃细胞上清, 添加无血清添加物的 Grace Medium 0.8mL/dish。

5 f. 将 d 中孵育好的 DNA 与转染试剂复合物滴加到 dish 中。

g. 27°C 孵育 2hr。

h. 弃细胞培养液, 加 2.5mL/dish 完全生长培养基 (SCD6 SF +10%FBS) (SCD6 SF 购于 Sino Biological, FBS 购于 Gibico)。

10 i. 27°C 培养 7 天观察是否有病毒感染。

转染后待细胞产生明显的病变后收集病毒上清, 一般培养 7-11 天。用移液器无菌收取病毒上清液, 即为 HPV6L1: 33C P1 代毒种。使用 HPV6L1: 33C P1 代毒种按照 1:50 (V/V) 比例感染 SF9 细胞, SF9 细胞的感染密度为 2×10^6 cells/mL, 27°C 培养扩增 3 天, 15 1000g±200g 室温离心 10min, 收集的病毒上清液即为 P2 代病毒, 可用于感染生产。

实施例 2.2: HPV 11L1: 33C 重组杆状病毒包装
实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

20

实施例 2.3: HPV 16L1: 33C 重组杆状病毒包装
实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.4: HPV 18L1: 33C 重组杆状病毒包装
25 实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.5: HPV 31L1: 33C 重组杆状病毒包装
实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.6: HPV 33L1 重组杆状病毒包装

实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.7: HPV 35L1: 33C 重组杆状病毒包装

5 实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.8: HPV 39L1: 59C 重组杆状病毒包装

实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.9: HPV 45L1: 33C 重组杆状病毒包装

10 实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.10: HPV 51L1: 33C 重组杆状病毒包装

实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.11: HPV 52L1: 33C 重组杆状病毒包装

15 实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.12: HPV 56L1: 33C 重组杆状病毒包装

20 实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.13: HPV 58L1: 33C 重组杆状病毒包装

实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 2.14: HPV 59L1 重组杆状病毒包装

25 实验方法和步骤与实施例 2.1 相同。

实施例 3 嵌合蛋白或蛋白的表达

实施例 3.1: HPV 6L1: 33C 表达生产

用实施例 2 中获得的含有 HPV 6L1: 33C 重组基因的杆状病毒感染 High Five 细胞, 感染比例 1:200 (V/V), 1000g±100g 室温离心收集细胞沉淀, 使用 PBS 或 MOPS 缓冲液 (pH6.0-7.0, 盐浓度 100 mM-1M) 超声裂解细胞沉淀, 低温超声破碎 3min, 大于 10000g 的离心力离心 10 分钟, 收集离心后上清液, SDS-PAGE 电泳检测。泳道 1: Marker (Marker 为 7 种纯化后的蛋白, 分子量大小包含 14.4 至 116kDa, 生产商为 Thermo Scientific); 泳道 2: 细胞裂解液; 泳道 3: 裂解液离心后收集的上清液。

结果如图 1A 所示, 该方法制备的 HPV 6L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L, 蛋白大小约 56 KD, 可以用于大规模生产。

实施例 3.2: HPV 11L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1B 所示, 该方法制备的 HPV 11L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L, 蛋白大小约 56 KD, 可以用于大规模生产。

实施例 3.3: HPV 16L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1C 所示, 该方法制备的 HPV 16L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L, 蛋白大小约 56 KD, 可以用于大规模生产。

实施例 3.4: HPV 18L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1D 所示, 该方法制备的 HPV 18L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L, 蛋白大小约 56 KD, 可以用于大规模生产。

实施例 3.5: HPV 31L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1E 所示, 该方法制备的 HPV 31L1: 33C L1 蛋白产量

大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.6: HPV 33L1 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

- 5 结果如图 1F 所示，该方法制备的 HPV 33L1 L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.7: HPV 35L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

- 10 结果如图 1G 所示，该方法制备的 HPV 35L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.8: HPV 39L1: 59C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

- 15 结果如图 1H 所示，该方法制备的 HPV 39L1: 59C L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.9: HPV 45L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

- 20 结果如图 1I 所示，该方法制备的 HPV 45L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.10: HPV 51L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

- 25 结果如图 1J 所示，该方法制备的 HPV 51L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.11: HPV 52L1: 33C 表达生产

实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1K 所示，该方法制备的 HPV 52L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.12: HPV 56L1: 33C 表达生产

5 实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1L 所示，该方法制备的 HPV 56L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.13: HPV 58L1: 33C 表达生产

10 实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1M 所示，该方法制备的 HPV 58L1: 33C L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 3.14: HPV 59L1 表达生产

15 实验方法和步骤与实施例 3.1 相同。

结果如图 1N 所示，该方法制备的 HPV 59L1 L1 蛋白产量大于 100 mg/L，蛋白大小约 56 KD，可以用于大规模生产。

实施例 4 病毒样颗粒的纯化制备

20 实施例 4.1: HPV 6L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备

HPV 6L1: 33C 病毒样颗粒纯化方法为两步层析法，即 HS-MMA 法，纯化实施例 3 中收集的上清液，最终可得到高纯度的病毒样颗粒。

第一步层析:

25 介质: 采用 Thermo Fisher 公司生产的 POROS[®] 50 HS 强阳离子交换介质。

介质体积: 介质体积 150mL，线性流速 30mL/min。

层析条件: 平衡缓冲液 (pH6.2，盐浓度为 50mM 磷酸盐，0.5M 氯化钠); 清洗缓冲液 (盐浓度为 50mM 磷酸盐，0.75M 氯化钠，

pH6.2;)

层析柱先用 5 CV 平衡缓冲液, 然后上样。上样结束后, 之后分别用 5 CV 的平衡缓冲液和清洗缓冲液洗脱杂蛋白。

洗脱条件: pH6.2, 洗脱盐浓度为 1.25M 氯化钠采用含有 50mM 盐酸精氨酸的 50mM 磷酸盐缓冲液进行洗脱。

第二步层析:

介质: 采用上海博格隆公司生产的 MMA 离子交换介质。

介质体积: 介质体积 150mL, 线性流速 30mL/min。

层析条件: 平衡缓冲液 50mM PB, 1.25M NaCl, pH6.2。层析柱先用 4CV 平衡缓冲液平衡, 然后上样。上样结束后, 用 5 CV 平衡缓冲液冲洗杂蛋白后, 然后用洗脱缓冲液洗脱目标蛋白收集蛋白。

洗脱条件: 100mM NaAC, 150mM NaCl, 0.01% Tween 80, pH4.5。

实施例 4.2: HPV 11L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.3: HPV 16L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.4: HPV 18L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.5: HPV 31L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.6: HPV 33L1 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.7: HPV 35L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备

实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.8: HPV 39L1: 59C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

5

实施例 4.9: HPV 45L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

10

实施例 4.10: HPV 51L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.11: HPV 52L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

15

实施例 4.12: HPV 56L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 4.13: HPV 58L1: 33C 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

20

实施例 4.14: HPV 59L1 病毒样颗粒的纯化制备
实验方法和步骤与实施例 4.1 相同。

实施例 5 病毒样颗粒的形态学检测

25

实施例 5.1: HPV 6L1: 33C 病毒样颗粒的形态学检测

取 10 μ L 样品用于透射电镜观察。将样品固定到碳喷铜网上吸附 2min, 残余液体用滤纸吸掉, 再使用磷钨酸(北京中镜科仪技术有限公司, 浓度 2%, pH6.5)染色两次, 每次 30 秒, 残余染色液用滤纸吸掉, 晾干后即可在透射电子显微镜下观察。透射电子显微镜(品

牌：日立，型号：H-7650）为 80KV，放大倍数为 80,000 倍。

电镜观察结果见图 2A，由图 2A 可见，C 端改造的 HPV 6L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒，平均直径在 60nm 左右。

- 5 实施例 5.2：HPV 11L1：33C 病毒样颗粒的形态学检测
实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2B，由图 2B 可见，C 端改造的 HPV 11L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒，平均直径在 60nm 左右。

- 10 实施例 5.3：HPV 16L1：33C 病毒样颗粒的形态学检测
实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2C，由图 2C 可见，C 端改造的 HPV 16L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒，平均直径在 60nm 左右。

- 15 实施例 5.4：HPV 18L1：33C 病毒样颗粒的形态学检测
实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2D，由图 2D 可见，C 端改造的 HPV 18L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒，平均直径在 60nm 左右。

- 20 实施例 5.5：HPV 31L1：33C 病毒样颗粒的形态学检测
实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2E，由图 2E 可见，C 端改造的 HPV 31L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒，平均直径在 60nm 左右。

- 25 实施例 5.6：HPV 33L1 病毒样颗粒的形态学检测
实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2F，由图 2F 可见，C 端改造的 HPV 33L1 可以形成大小均一的病毒样颗粒，平均直径在 60nm 左右。

实施例 5.7: HPV 35L1: 33C 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2G, 由图 2G 可见, C 端改造的 HPV 35L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

5

实施例 5.8: HPV 39L1: 59C 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2H, 由图 2H 可见, C 端改造的 HPV 39L1:59C 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

10

实施例 5.9: HPV 45L1: 33C 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2I, 由图 2I 可见, C 端改造的 HPV 45L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

15

实施例 5.10: HPV 51L1: 33C 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2J, 由图 2J 可见, C 端改造的 HPV 51L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

20

实施例 5.11: HPV 52L1: 33C 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2K, 由图 2K 可见, C 端改造的 HPV 52L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

25

实施例 5.12: HPV 56L1: 33C 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2L, 由图 2L 可见, C 端改造的 HPV 56L1:33C 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

实施例 5.13: HPV 58L1: 33C 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2M, 由图 2M 可见, C 端改造的 HPV 58L1:33C
5 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

实施例 5.14: HPV 59L1 病毒样颗粒的形态学检测

实验方法和步骤与实施例 5.1 相同。

电镜观察结果见图 2N, 由图 2N 可见, C 端改造的 HPV 59L1:33C
10 可以形成大小均一的病毒样颗粒, 平均直径在 60nm 左右。

实施例 6 病毒样颗粒动物免疫原性评价

实施例 6.1: HPV 6L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

6.1.1 假病毒中和细胞的模型建立

15 由于 HPV 很难进行体外培养, 又具有较强的宿主特异性, 很难在除人体以外的生物体进行繁殖, 缺乏合适的动物模型。所以需要建立合适有效的体外中和实验模型, 用于疫苗免疫保护性的评估。

HPV 假病毒是理想的 HPV 体外中和实验模型: 利用 HPV VLP 具有非特异包裹核酸的特性, 细胞内表达的 HPV L1 和 L2 组成的
20 VLP 包裹游离的 DNA 或导入外源质粒形成 HPV 假病毒。

采用假病毒中和法对样品免疫后动物血清样品进行免疫原性分析。HPV6 病毒样颗粒样品免疫动物后能产生针对 HPV6 的中和抗体, 能中和 HPV6 型的假病毒。将免疫后的动物血清与一定量的假病毒孵育后再侵染细胞, 可表达 GFP 荧光的细胞会随着血清中中和抗体的
25 的增加而减少, 在一定的范围内可存在线性负相关, 因此可以通过检测表达 GFP 的细胞数的变化来评价血清中抗体的中和活性。

假病毒构建方法: 将 HPV6 型的 pCMV3-3-HPV6L1+L2 (L1 序列来源于 Uniprot P69898, L2 序列来源 Uniprot Q84297) 质粒 (购于 Sino Biological) 以及荧光质粒 (PSEU-GFP Spark, 购于 Sino

Biological) 共转染至 293FT 贴壁细胞 (购于 Thermo Fisher)。具体方法参考文献(Pastrana D V, Buck C B, Pang Y S, Thompson C D, Castle P E, FitzGerald P C, Kjaer S K, Lowy D R, Schiller J T.Reactivity of human sera in a sensitive, high-throughput
5 pseudovirus-based papillomavirus neutralization assay for HPV16 and HPV18. [J]Virology 2004,321:205-216.)。收集假病毒上清液并进行分装, 置于-80℃冰箱中保存备用。

6.1.2 HPV 6L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫保护性评价

小鼠免疫程序:

10 HPV 6L1: 33C 病毒样颗粒吸附于磷酸铝佐剂上, 经混合后取 200μL 用于免疫小鼠, 每只小鼠免疫剂量 0.15μg, 免疫 10 只小鼠, 于实验第 0 天、第 7 天、第 21 天分别用稀释后样品对小鼠进行免疫, 同时设立空白血清对照组, 于实验第 28 天摘取小鼠眼球取血, 分离出血清进行假病毒中和滴度检测。

15 小鼠 EC50 检测:

小鼠血清在 56℃灭活 30 分钟后, 离心 6000g, 5 分钟后取上清进行检测。检测前 4-8 小时, 将 293FT 细胞以 15000 细胞/孔的密度铺板于 96 孔板中, 培养于 37℃, 5%CO₂ 的二氧化碳培养箱中。免疫后小鼠血清、空白对照血清均用中和培养基系列稀释后按照体积
20 比 1:1 分别与 6.1 中制备的 HPV6 假病毒混合。2~8℃冰箱中孵育 1 小时后按照 100μL/孔加入到提前 4-8 小时铺板的 293FT 细胞上, 每个样品 2 个复孔, 同时设立空白血清对照孔、假病毒阳性对照孔和阴性对照孔。加样后的细胞继续在 37℃, 5%CO₂ 的二氧化碳培养箱中培养 62-96 小时后, 在酶联斑点分析仪中 (型号: S6 Universal-V
25 Analyzer, 厂家: CTL) 进行荧光扫描拍照以及计数。通过计算每个小鼠血清样品的中和抑制率, 依据 Reed-Muench 法计算得到血清中和抑制率为 50%时血清最大稀释倍数, 即半数有效稀释倍数 EC₅₀。

HPV6 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 4。

表 4 小鼠血清中和滴度检测结果 EC₅₀ (GMT ± SEM)

HPV 型	EC ₅₀ 值
6 型	4948±1831

备注:

1. 动物数, N=10;
2. GMT(Geometric Mean Titer): 几何平均滴度;
3. SEM(Standard Error of Mean): 标准误差。

5 上述检测结果显示, 本发明制备的 HPV 6L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性, 可在动物体内产生高滴度的中和抗体, 可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.2: HPV 11L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

10 实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P04012, L2 序列来源 Uniprot P04013。

HPV11 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 5。

表 5 小鼠血清中和滴度检测结果 EC₅₀ (GMT ± SEM)

HPV 型	EC ₅₀ 值
11 型	15024±8400

15 上述检测结果显示, 本发明制备的 HPV 11L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性, 可在动物体内产生高滴度的中和抗体, 可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.3: HPV 16L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

20 实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P03101, L2 序列来源 Uniprot P03107。

HPV16 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 6。

表 6 小鼠血清中和滴度检测结果 EC₅₀ (GMT ± SEM)

HPV 型	EC ₅₀ 值
16 型	32449±7224

上述检测结果显示, 本发明制备的 HPV 16L1: 33C 病毒样颗粒

具有较好的免疫原性，可在动物体内产生高滴度的中和抗体，可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.4: HPV 18L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

5 实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot Q80B70，L2 序列来源 Uniprot P06793。

HPV18 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 7。

表 7 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)

HPV 型	EC_{50} 值
18 型	18480 $\pm$ 4051

10 上述检测结果显示，本发明制备的 HPV 18L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性，可在动物体内产生高滴度的中和抗体，可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.5: HPV 31L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

15 实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P17388，L2 序列来源 Uniprot P17389。

HPV31 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 8。

表 8 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)

HPV 型	EC_{50} 值
31 型	5210 $\pm$ 1147

20 上述检测结果显示，本发明制备的 HPV 31L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性，可在动物体内产生高滴度的中和抗体，可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.6: HPV 33L1 病毒样颗粒动物免疫原性评价

实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P06416，L2 序列来源 Uniprot P06418。

25 HPV33 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 9。

表 9 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)

HPV 型	EC_{50} 值
33 型	4666 $\pm$ 1555

上述检测结果显示,本发明制备的 HPV 33L1 病毒样颗粒具有较好的免疫原性,可在动物体内产生高滴度的中和抗体,可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

5

实施例 6.7: HPV 35L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P27232, L2 序列来源 Uniprot P27234。

HPV35 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 10。

10

表 10 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)

HPV 型	EC_{50} 值
35 型	2293 $\pm$ 1448

上述检测结果显示,本发明制备的 HPV 35L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性,可在动物体内产生高滴度的中和抗体,可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

15

实施例 6.8: HPV 39L1: 59C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P24838, L2 序列来源 Uniprot P24839。

HPV39 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 11。

表 11 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)

HPV 型	EC_{50} 值
39 型	25526 $\pm$ 5857

20

上述检测结果显示,本发明制备的 HPV 39L1: 59C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性,可在动物体内产生高滴度的中和抗体,可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.9: HPV 45L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P36741, L2 序列来源 Uniprot P36761。

HPV45 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 12。

5 **表 12 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)**

HPV 型	EC_{50} 值
45 型	755+935

上述检测结果显示, 本发明制备的 HPV 45L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性, 可在动物体内产生高滴度的中和抗体, 可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

10 实施例 6.10: HPV 51L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P26536, L2 序列来源 Uniprot P26539。

HPV51 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 13。

表 13 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)

HPV 型	EC_{50} 值
51 型	5528 $\pm$ 1572

15 上述检测结果显示, 本发明制备的 HPV 51L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性, 可在动物体内产生高滴度的中和抗体, 可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.11: HPV 52L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价

20 实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot Q05138, L2 序列来源 Uniprot F8S4U2。

HPV52 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 14。

表 14 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} (GMT $\pm$ SEM)

HPV 型	EC_{50} 值
52 型	19019 $\pm$ 8604

上述检测结果显示，本发明制备的 HPV 52L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性，可在动物体内产生高滴度的中和抗体，可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

5 实施例 6.12: HPV 56L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价
实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P36743, L2 序列来源 Uniprot P36765。

HPV56 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 15。

表 15 小鼠血清中和滴度检测结果 EC₅₀ (GMT ± SEM)

HPV 型	EC ₅₀ 值
56 型	2497±612

10 上述检测结果显示，本发明制备的 HPV 56L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性，可在动物体内产生高滴度的中和抗体，可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.13: HPV 58L1: 33C 病毒样颗粒动物免疫原性评价
15 实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot P26535, L2 序列来源 Uniprot B6ZB12。

HPV58 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 16。

表 16 小鼠血清中和滴度检测结果 EC₅₀ (GMT ± SEM)

HPV 型	EC ₅₀ 值
58 型	19939±8459

20 上述检测结果显示，本发明制备的 HPV 58L1: 33C 病毒样颗粒具有较好的免疫原性，可在动物体内产生高滴度的中和抗体，可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.14: HPV 59L1 病毒样颗粒动物免疫原性评价
实验方法和步骤与实施例 6.1 相同。L1 序列来源于 Uniprot
25 Q81971, L2 序列来源 Uniprot Q81970。

HPV59 血清假病毒中和滴度检测结果详见表 17。

表 17 小鼠血清中和滴度检测结果 EC_{50} ($GMT \pm SEM$)

HPV 型	EC_{50} 值
59 型	1344 $\pm$ 335

上述检测结果显示,本发明制备的 HPV 59L1 病毒样颗粒具有较好的免疫原性,可在动物体内产生高滴度的中和抗体,可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

实施例 6.15: 14 价病毒样颗粒免疫组合物动物免疫原性评价
小鼠免疫程序

将如上所述的 14 型 (HPV 6、11、16、18、31、33、35、39、
45、51、52、56、58、59) 病毒样颗粒用磷酸铝空白佐剂在无菌条件下系列稀释后 (以样品中单个剂量为 20 μ g 的 HPV 型为标准进行稀释,将该型样品稀释 80 倍至 0.5 μ g/mL,其他型样品的稀释则随着各型配比组分的变化而变化),取 200 μ L 用于免疫小鼠,每只小鼠免疫剂量见表 18。将 6~8 周龄 SPF 级雌性 Balb/c 小鼠按照每组 10
只小鼠进行分组 (实验组和对照),于实验第 0 天、第 7 天、第 21 天分别用稀释后样品对各组小鼠进行免疫,样品免疫一组小鼠,同时设立空白血清对照组,于实验第 28 天摘取小鼠眼球取血,分离出血清进行假病毒中和滴度检测。

表 18 各型 HPV 疫苗每只小鼠免疫剂量 (μ g)

HPV 型	6	11	16	18	31	33	45	52	58	35	39	51	56	59
剂量	0.15	0.2	0.3	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

假病毒中和法检测免疫后小鼠血清中和滴度

小鼠血清在 56 度灭活 30 分钟后,离心 6000g,5 分钟后取上清进行检测。检测前 4-8 小时,将 293FT 细胞以 15000 细胞/孔的密度铺板于 96 孔板中,培养于 37 $^{\circ}$ C,5%CO₂ 的二氧化碳培养箱中。免疫后小鼠血清、空白对照血清均用中和培养基系列稀释后按照体积

比 1:1 分别与预稀释好的 14 种假病毒(14 型 HPV 假病毒包括 6、11、16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 型, 其制备分别见实施例 6.1-6.14) 混合。2~8℃ 冰箱中孵育 1 小时后按照 100μL/孔加入到提前 4-8 小时铺板的 293FT 细胞上, 每个样品 2 个复孔, 5 同时设立空白血清对照孔、假病毒阳性对照孔和阴性对照孔。加样后的细胞继续在 37℃, 5%CO₂ 的二氧化碳培养箱中培养 62-96 小时后, 在酶联斑点分析仪(型号: S6 Universal-V Analyzer, 厂家: CTL) 中进行荧光扫描拍照以及计数。通过计算每个小鼠血清样品的中和抑制率, 依据 Reed-Muench 法计算得到血清中和抑制率为 50% 时血清最大稀释倍数, 即半数有效稀释倍数 EC₅₀。检测结果见图 3。

如图 3 所示, 14 价病毒样颗粒免疫组合物能够产生很好的中和抗体, 可以用于制备成预防 HPV 感染的疫苗。

比较例 1: C 端截短的 HPV16L1 (1-474) 的表达

15 发明人尝试将 HPV16L1 的 C 端截短 31 个氨基酸, 命名为 HPV16L1 (1-474) (SEQ ID NO: 27)。但在研究中发现, 截短的 HPV16L1 (1-474) 蛋白表达量高但蛋白可溶性差, 难以提取纯化, 具体表达和提取结果见图 4。

20 虽然前述已经用说明和实施例的方式对本发明进行了详细描述, 但其目的在于理解方便, 本领域普通技术人员显然可以对本发明的技术方案作出的各种变形和改进, 而不会偏离附加的权利要求的精神或范围。

附录 1: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 6 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 1	0601 HPV 6 型 L1 蛋白的 1-469 氨基酸序列 MWRPSDSTVYVPPNPVSKVVATDAYVTRTNIFYHASSRLLAVGHPYFSIKR ANKTVVPKVSGYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVG RGQPLGVGVSGHPFLNKYDDVENS GSGGNPGQDN RVNVGMDYKQTQLCMV GCAPPLGEHWGKGKQCTNTPVQAGDCPPELITSVIQD GDMVDTGFGAMNFA DLQTNKSDVPIDICGTTCKYPDYLQMAADPYGDRLFFFLRKEQM FARHFFNRA GEVGEPVPDTLIIKGSGNRTSVGSSIYVNTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQKAQG HNNGICWGNQLFVTVD TTRSTNMTLCASVTTSS TYTNSDYKEYMRHVEEYD LQFIFQLCSITLSAEVMAYIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLED TYRYVQSQA ITCQKPTPEKEKPD PYKNLSFWEVNLKEKFSSELDQYPLGRKFLLQSGY
SEQ ID No: 2	0602 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 3	0603 嵌合的 HPV 6 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MWRPSDSTVYVPPNPVSKVVATDAYVTRTNIFYHASSRLLAVGHPYFSIKR ANKTVVPKVSGYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVG RGQPLGVGVSGHPFLNKYDDVENS GSGGNPGQDN RVNVGMDYKQTQLCMV GCAPPLGEHWGKGKQCTNTPVQAGDCPPELITSVIQD GDMVDTGFGAMNFA DLQTNKSDVPIDICGTTCKYPDYLQMAADPYGDRLFFFLRKEQM FARHFFNRA GEVGEPVPDTLIIKGSGNRTSVGSSIYVNTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQKAQG HNNGICWGNQLFVTVD TTRSTNMTLCASVTTSS TYTNSDYKEYMRHVEEYD LQFIFQLCSITLSAEVMAYIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLED TYRYVQSQA ITCQKPTPEKEKPD PYKNLSFWEVNLKEKFSSELDQYPLGRKFLLQSGYKAKPK LKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 4	0604 嵌合的 HPV 6 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTATGTGCCTCCTCAAACCTGTGAGCAAGGTGGTGGCTACAG ATGCCTATGTGACCAGGACCAACATCTTCTACCATGCCTCCTCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACACCC ATACTTCAGCATCAAGAGGGCTAACAAGACAGTGGTGCCAAAGGTGTCTGGCTACCAATACAGGGTGTTCTC AAGGTGGTGTGCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGCCTGCCTGACTCCTCCCTGTTGACCCAACCAACCCAGA

	GACTGGTGTGGGCTTGTACTGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGAGTGTCTGGAC ACCCATTCTGAACAAATATGATGATGTGGAGAACTCTGGCTCTGGAGGCAACCCTGGACAAGACAACAG GGTGAATGTGGGGATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATGGTGGGCTGTGCCCCCTCCACTGGGAGAA CACTGGGGCAAGGGCAAGCAGTGTACCAACACACCTGTCCAGGCTGGAGACTGTCCTCCATTGGAAGTGA TTACCTCTGTGATTAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGAACTTTGCTGACCTCCAA ACCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCACCCTTGTAATACCCTGACTACCTCCAAATGGC TGCTGACCCATATGGAGACAGACTGTTCTTCTTCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGCCAGACACTTCTTCA ACAGGGCTGGAGAGGTGGGAGAACCTGTGCCTGACACCCTGATTATCAAGGGCTCTGGCAACAGGACCT CTGTGGGCTCCAGCATCTATGTGAACACACCATCTGGCTCCCTGGTGTCTCTGAGGCTCAACTTTTCAAC AAGCCATACTGGCTCCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCAACTTTTGTGA CAGTGGTGGACACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTGCCTCTGTGACCACCTCCAGCACCTACAC CAACTCTGACTACAAGGAATATATGAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTTGTA GCATACCCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACATCCACACAATGAACCCATCTGTGTTGGAGGACTGGAA CTTTGACTGAGCCCTCCTCCAAATGGCACCTTGAGGACACCTACAGATATGTCCAGAGCCAGGCTATC ACTTGTCAGAAGCCAACACCTGAGAAGGAGAAGCCTGACCCATACAAGAACCTGTCTTCTGGGAGGTG AACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGAACTGGACCAATACCCACTGGGCAGGAAGTTCTGCTCCAATCTG GCTACAAAGCCAAGCCAAAAGTAAAAGGGCTGCCCCAACAGCACCAGGACCTCCTCTGCCAAGAGGA AGAAGGTGAAGAAGTAA
SEQ ID No: 5	0605 合成的 HPV6L1 基因 ctgggtaccATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTATGTGCCTCCTCCAAACCCTGTGAGCAAGGTGGTGG CTACAGATGCCTATGTGACCAGGACCAACATCTTCTACCATGCCTCCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGG ACACCCATACTTCAGCATCAAGAGGGCTAACAAGACAGTGGTGCCAAAGGTGTCTGGCTACCAATACAG GGTGTTC AAGGTGGTGTCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGCCCTGCCTGACTCCTCCCTGTTTGACCCAACCA CCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTACTGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGAGTGT CTGGACACCCATTCTGAACAAATATGATGATGTGGAGAACTCTGGCTCTGGAGGCAACCCTGGACAAGA CAACAGGGTGAATGTGGGGATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATGGTGGGCTGTGCCCCCTCCACTG GGAGAACACTGGGGCAAGGGCAAGCAGTGTACCAACACACCTGTCCAGGCTGGAGACTGTCCTCCATTG GAACTGATTACCTCTGTGATTAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGAACTTTGCTG

	ACCTCCAAACCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCACCCTTGTAATACCCCTGACTACCTC CAAATGGCTGCTGACCCATATGGAGACAGACTGTTCTTCTTCCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGCCAGAC ACTTCTTCAACAGGGCTGGAGAGGTGGGAGAACCTGTGCCTGACACCCTGATTATCAAGGGCTCTGGCAA CAGGACCTCTGTGGGCTCCAGCATCTATGTGAACACACCATCTGGCTCCCTGGTGTCTCTGAGGCTCAAC TTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCAACT TTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACC AATATGACCCTGTGTGCCTCTGTGACCACCTCCAGC ACCTACACCAACTCTGACTACAAGGAATATATGAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTCATCTTCC AACTTTGTAGCATCACCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACATCCACACAATGAACCCATCTGTGTTGGAG GACTGGAACTTTGGA CTGAGCCCTCTCCAAATGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTCCAGAGCC AGGCTATCACTTGT CAGAAGCCAACACCTGAGAAGGAGAAGCCTGACCCATACAAGAACCTGTCCTTCTG GGAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCTCTGAACTGGACCAATACCCACTGGGCAGGAAGTTCTCTGCTC CAATCTGGCTACAGGGGCAGGTCCAGCATCAGGACAGGAGTGAAGAGACCTGCTGTGAGCAAGGCATCT GCTGCCCCAAAGAGGAAGAGGGCTAAGACCAAGAGGTAAActgagctc
SEQ ID No: 6	0606 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGTGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCTGCCAATG ACTGTCCTCCATTGGA ACTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTA AA TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCA ACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACC AATATGACCCTGTGTACCCAGG

	TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTTGTGTTCCAACCTTGTAAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGGCTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActgagetc
SEQ ID No: 7	0607 HPV6L1 F1 CTTGGTACCATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGT
SEQ ID No: 8	0608 HPV6L1 R1 GCTTGGCTTTGTAGCCAGATTGGAGCAGGAACTTCC
SEQ ID No: 9	0609 HPV6L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTATGTGCCTCCTCCAAACCCTGTGAGCAAGGTG</u> <u>_GTGGCTACAGATGCCTATGTGACCAGGACCAACATCTTCTACCATGCCTCCTCCAGCAGA</u> <u>CTGCTGGCTGTGGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAGGGCTAACAAGACAGTGGTGCCA</u> <u>AAGGTGTCTGGCTACCAATACAGGGTGTTCAGGTGGTGCTGCCTGACCCAAACAAGTTT</u> <u>GCCCTGCCTGACTCCTCCCTGTTTGACCCAACCACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGACT</u> <u>GGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGAGTGTCTGGACACCCATTCTCTG</u> <u>AACAAATATGATGATGTGGAGAAGTCTGGCTCTGGAGGCAACCCTGGACAAGACAACAGG</u> <u>GTGAATGTGGGGATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTATGGTGGGCTGTGCCCCCTCA</u> <u>CTGGGAGAACACTGGGGCAAGGGCAAGCAGTGTACCAACACACCTGTCCAGGCTGGAGAC</u> <u>TGTCCTCCATTGGAAGTATTACCTCTGTGATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGC</u> <u>TTTGGAGCTATGAACTTTGCTGACCTCCAAACCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATC</u> <u>TGTGGCACCACTTGTAATAACCTGACTACCTCCAAATGGCTGCTGACCCATATGGAGAC</u> <u>AGACTGTTCTTCTCCTGAGGAAGGAACAGATGTTGCCAGACACTTCTTCAACAGGGCT</u> <u>GGAGAGGTGGGAGAACCTGTGCCTGACACCTGATTATCAAGGGCTCTGGCAACAGGACC</u> <u>TCTGTGGGCTCCAGCATCTATGTGAACACACCATCTGGCTCCCTGGTGTCTCTGAGGCT</u> <u>CAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT</u>

	<u>TGGGGCAACCAACTTTTGTGACAGTGGTGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTG</u> <u>TGTGCCTCTGTGACCACCTCCAGCACCTACACCAACTCTGACTACAAGGAATATATGAGG</u> <u>CATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTGTAGCATCACCTGTCTGCT</u> <u>GAGGTGATGGCTTACATCCACACAATGAACCCATCTGTGTGGAGGACTGGAACCTTGGA</u> <u>CTGAGCCCTCCTCCAAATGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTCCAGAGCCAGGCT</u> <u>ATCACTGTGTCAGAAGCCAACACCTGAGAAGGAGAAGCCTGACCCATACAAGAACCTGTCC</u> <u>TTCTGGGAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCCTCTGAACTGGACCAATACCCACTGGGC</u> <u>AGGAAGTTCCTGCTCCAATCTGGCTAC</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV6L1 的 1-469 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 10	0610 HPV6L1 F2 ATCTGGCTACAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 11	0611 HPV6L1 R2 CTGTCTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGGC
SEQ ID No: 12	0612 HPV6L1 扩增序列 2 <u>ATCTGGCTAC</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA <u>ATCTAGA</u>^[3]CAG. [1]: 与 HPV6L1 的 1-469 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点。
SEQ ID No: 13	0613 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

附录 2: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 11 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 14	1101 HPV 11 型 L1 蛋白的 1-470 氨基酸序列 MWRPSDSTVYVPPPNPVSKVVATDAYVKRTNIFYHASSRLLAVGHPYYSIKK VNKTVPKVSQYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVG RGQPLGVGVSGHPLLNKYDDVENSNGGYGGNPGQDNRVNVGMDYKQTQLCM VGCAPPLGEHWGKGTQCSNTSVQNGDCPPLELITSVIQDGMVDTGFGAMNF ADLQTNKSDVPLDICGTVCKYPDYQLQMAADPYGDRLFFYLRLKEQMFARHFFN RAGTVGEPVPDDLVLKGGNNRSSVASSIYVHTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQK AQGHNNGICWGNHLFVTVDTRSTNMTLCASVSKSATYTNNDYKEYMRHV EEFDLQFIFQLCSITLSAEVMAIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLEDYRYV QSQAITCQKPTPEKEKQDPYKDMSFWEVNLKEKFSSELDQFPLGRKFLLQSGY
SEQ ID No: 15	1102 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 16	1103 嵌合的 HPV 11 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MWRPSDSTVYVPPPNPVSKVVATDAYVKRTNIFYHASSRLLAVGHPYYSIKK VNKTVPKVSQYQYRVFKVVLDPNKFALPDSSLFDPTTQRLVWACTGLEVG RGQPLGVGVSGHPLLNKYDDVENSNGGYGGNPGQDNRVNVGMDYKQTQLCM VGCAPPLGEHWGKGTQCSNTSVQNGDCPPLELITSVIQDGMVDTGFGAMNF ADLQTNKSDVPLDICGTVCKYPDYQLQMAADPYGDRLFFYLRLKEQMFARHFFN RAGTVGEPVPDDLVLKGGNNRSSVASSIYVHTPSGSLVSSEAQLFNKPYWLQK AQGHNNGICWGNHLFVTVDTRSTNMTLCASVSKSATYTNNDYKEYMRHV EEFDLQFIFQLCSITLSAEVMAIHTMNPSVLEDWNFGLSPPPNGTLEDYRYV QSQAITCQKPTPEKEKQDPYKDMSFWEVNLKEKFSSELDQFPLGRKFLLQSGY KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 17	1104 嵌合的 HPV 11 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTATGTGCCTCCTCAAACCTGTGAGCAAGGTGGTGGCTACAG ATGCCTATGTGAAGAGGACCAACATCTTCTACCATGCCTCCTCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACACCC ATACTACAGCATCAAGAAGGTGAACAAGACAGTGGTGCCAAAGGTGTCTGGCTACCAATACAGGGTGT CAAGGTGGTGTGCCTGACCAAAACAAGTTTGCCCTGCCTGACTCCTCCCTGTTTGACCAACCAACCCAGA

	GACTGGTGTGGGCTTGTACTGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGAGTGTCTGGAC ACCACTGCTGAACAAATATGATGATGTGGAGAACTCTGGAGGCTATGGAGGCAACCCTGGACAAGACA ACAGGGTGAATGTGGGGATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTATGGTGGGCTGTGCCCCCTCCACTGGG AGAACACTGGGGCAAGGGCACCCAGTGTAGCAACACCTCTGTCCAGAATGGAGACTGTCCTCCATTGGAA CTGATTACCTCTGTGATTACGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTGGAGCTATGAACTTTGCTGACCT CCAAACCAACAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCTGTGGCACAGTGTGTAAATACCCTGACTACCTCCAA ATGGCTGCTGACCCATATGGAGACAGACTGTTCTTCTACCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGCAGACACT TCTTCAACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAACCTGTGCCTGATGACCTGCTGGTGAAGGGAGGCAACAACA GGTCCTCTGTGGCATCCAGCATCTATGTGCATACACCATCTGGCTCCCTGGTGTCTCTGAGGCTCAACTT TTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCACCTGT TTGTGACAGTGGTGGACACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTGCCTCTGTGAGCAAGTCTGCCAC CTACACCAACTCTGACTACAAGGAATATATGAGGCATGTGGAGGAGTTTGACCTCCAATTCATCTTCCAA CTTTGTAGCATCACCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACATCCACACAATGAACCCATCTGTGTTGGAGGA CTGGAACCTTTGACTGAGCCCTCCTCCAAATGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTCCAGAGCCAG GCTATCACTTGTGAGAAGCCAACACCTGAGAAGGAGAAGCAGGACCCATACAAGGATATGAGTTTCTGG GAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCCTCTGAACTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCTGCTCC AATCTGGCTACAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAAGCACCAGGACCTCCTCTGCCA AGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 18	1105 合成的 HPV11L1 基因 ctgggtaccATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTATGTGCCTCCTCCAAACCCTGTGAGCAAGGTGGTGG CTACAGATGCCTATGTGAAGAGGACCAACATCTTCTACCATGCCTCCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGG ACACCCATACTACAGCATCAAGAAGGTGAACAAGACAGTGGTGCCAAAGGTGTCTGGCTACCAATACAG GGTGTTC AAGGTGGTGTGCCTGACCCAAACAAGTTTGCCCTGCCTGACTCCTCCTGTTTGACCCAAACCA CCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTACTGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGAGTGT CTGGACACCCACTGCTGAACAAATATGATGATGTGGAGAACTCTGGAGGCTATGGAGGCAACCCTGGAC AAGACAACAGGGTGAATGTGGGGATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTATGGTGGGCTGTGCCCCCTCC ACTGGGAGAACACTGGGGCAAGGGCACCCAGTGTAGCAACACCTCTGTCCAGAATGGAGACTGTCCTCC ATTGGAAGTATTACCTCTGTGATTACGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTGGAGCTATGAACTTT GCTGACCTCCAAACCAACAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCTGTGGCACAGTGTGTAATACCCTGACT

	ACCTCCAAATGGCTGCTGACCCATATGGAGACAGACTGTTCTTCTACCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGC CAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAACCTGTGCCTGATGACCTGCTGGTGAAGGGAGG CAACAACAGGTCCTCTGTGGCATCCAGCATCTATGTGCATACACCATCTGGCTCCCTGGTGTCTCTGAGG CTCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAA CCACCTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTGCCTCTGTGAGCAAG TCTGCCACCTACACCAACTCTGACTACAAGGAATATATGAGGCATGTGGAGGAGTTTGACCTCCAATTCA TCTTCCAAC TTTGTAGCATCACCTGTCTGTGAGGTGATGGCTTACATCCACACAATGAACCCATCTGTG TTGGAGGACTGGAAC TTTGGACTGAGCCCTCCTCCAAATGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTCC AGAGCCAGGCTATCACTTGTCAGAAGCCAACACCTGAGAAGGAGAAAGCAGGACCCATACAAGGATATGA GTTTCTGGGAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCCTCTGAACTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTT CCTGCTCCAATCTGGCTACAGGGGCAGGACCTTGCCAGGACAGGCATCAAGAGACCTGCTGTGAGCAA GCCAAGCACAGCCCCAAAGAGGAAGAGGACCAAGACCAAGAAGTAAActcgagctc
SEQ ID No: 19	1106 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCTGCCAATG ACTGTCCTCCATTGGAAGTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAG TACCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGACACACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCAAC TTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAAGTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT

	CCAATTGTGTTCCAACCTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGGCTGCCCCAACCCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgagetc
SEQ ID No: 20	1107 HPV11L1 F1 CTTGGTACCATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGT
SEQ ID No: 21	1108 HPV11L1 R1 GCTTGGCTTTGTAGCCAGATTGGAGCAGGAACTTCC
SEQ ID No: 22	1109 HPV11L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTATGTGCCTCCTCCAAACCCTGTGAGCAAGGTGGTGGCTACAG</u> <u>ATGCCTATGTGAAGAGGACCAACATCTTCTACCATGCCTCCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACACCC</u> <u>ATACTACAGCATCAAGAAGGTGAACAAGACAGTGGTGCCAAAGGTGTCTGGCTACCAATACAGGGTGTT</u> <u>CAAGGTGGTGCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGCCCTGCCTGACTCCTCCCTGTTTGACCCAACCACCCAGA</u> <u>GACTGGTGTGGGCTTGTACTGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGAGTGTCTGGAC</u> <u>ACCCACTGCTGAACAAATATGATGATGTGGAGAACTCTGGAGGCTATGGAGGCAACCCTGGACAAGACA</u> <u>ACAGGGTGAATGTGGGGATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATGGTGGGCTGTGCCCCCTCACTGGG</u> <u>AGAACACTGGGGCAAGGGCACCCAGTGTAGCAACACCTCTGTCCAGAATGGAGACTGTCCTCCATTGGAA</u> <u>CTGATTACCTCTGTGATTAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGAACCTTGCTGACCT</u> <u>CCAAACCAACAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCTGTGGCACAGTGTGTAAATACCCTGACTACCTCCAA</u> <u>ATGGCTGCTGACCCATATGGAGACAGACTGTTCTTCTACCTGAGGAAGGAACAGATGTTTGCCAGACACT</u> <u>TCTTCAACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAACCTGTGCCTGATGACCTGCTGGTGAAGGGAGGCAACAACA</u> <u>GGTCTCTGTGGCATCCAGCATCTATGTGCATACACCATCTGGCTCCCTGGTGTCTCTGAGGCTCAACTT</u> <u>TTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAACCACCTGT</u> <u>TTGTGACAGTGGTGGACACCACAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTGCCTCTGTGAGCAAGTCTGCCAC</u> <u>CTACACCAACTCTGACTACAAGGAATATATGAGGCATGTGGAGGAGTTTGACCTCCAATTCATCTTCCAA</u> <u>CTTTGTAGCATCACCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACATCCACACAATGAACCATCTGTGTTGGAGGA</u>

	<u>CTGGAAC TTTGGACTGAGCCCTCCTCCAAATGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTCCAGAGCCAG</u> <u>GCTATCACTTGTGAGAAGCCAACACCTGAGAAGGAGAAGCAGGACCCATACAAGGATATGAGTTTCTGG</u> <u>GAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCTCTGAACTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCCTGCTCC</u> <u>AATCTGGCTAC</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV11L1 的 1-470 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 23	1110 HPV11L1 F2 ATCTGGCTACAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 24	1111 HPV11L1 R2 CTGTCTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGGC
SEQ ID No: 25	1112 HPV11L1 扩增序列 2 <u>ATCTGGCTAC</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA <u>ATCTAGA</u>^[3] CAG. [1]: 与 HPV11L1 的 1-470 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点。
SEQ ID No: 26	1113 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

附录 3: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 16 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 27	1601 HPV 16 型 L1 蛋白的 1-474 氨基酸序列 MSLWLPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAUGHYPYFIK KPNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLDPNKFPGPDTSFYNPDTQRLVWACVGVE VGRGQPLGVGISGHPLLNLDDTENASAYAANAGVDNRECISMDYKQTQLCL IGCKPPIGEHWGKGSPCTNVAVNPGDCPPLELINTVIQDGMVDTGFGAMDFT TLQANKSEVPLDICTSICKYPDYIKMVSEPYGDSLFFYLRRQMFVRHLFNLAG AVGENVPDDLYIKGSGSTANLASSNYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQG HNNGICWGNQLFVTVDTTTRSTNMSLCAAISTSETTYKNTNFKEYLRHGEEYD LQFIFQLCKITLTADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGGTLEDYRFVTSQAI ACQKHTPPAPKEDPLKKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGL
SEQ ID No: 28	1602 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 29	1603 嵌合的 HPV 16 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MSLWLPSEATVYLPVPVSKVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAUGHYPYFIK KPNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLDPNKFPGPDTSFYNPDTQRLVWACVGVE VGRGQPLGVGISGHPLLNLDDTENASAYAANAGVDNRECISMDYKQTQLCL IGCKPPIGEHWGKGSPCTNVAVNPGDCPPLELINTVIQDGMVDTGFGAMDFT TLQANKSEVPLDICTSICKYPDYIKMVSEPYGDSLFFYLRRQMFVRHLFNLAG AVGENVPDDLYIKGSGSTANLASSNYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQG HNNGICWGNQLFVTVDTTTRSTNMSLCAAISTSETTYKNTNFKEYLRHGEEYD LQFIFQLCKITLTADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGGTLEDYRFVTSQAI ACQKHTPPAPKEDPLKKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGLKAKP KLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 30	1604 嵌合的 HPV 16 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGAGTCTGTGGCTGCCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGGTGAGCA CAGATGAATATGTGGCAAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGCACCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACA CCCATACTTTCCAATCAAGAAGCCAAACAACAACAAGATTCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCCAATAC AGGGTGTTCAGGATTACCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCTACAACCTGA

	CAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCAT CTCTGGACACCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAATGCCTCTGCCTATGCTGCCAATGCTGGA GTGGACAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGATTGGCTGTAAGCCTC CAATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGCAGCCCATGTACCAATGTGGCTGTGAACCTGGAGACTGTCCTCC ATTGAACTGATAAACACAGTGATTTCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTC ACCACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTACCAGCATCTGTAAATACCCTGACT ACATCAAGATGGTGTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAGATGTTTGT GAGACACCTGTTCAACAGGGCTGGAGCAGTGGGAGAGAATGTGCCTGATGACCTCTACATCAAGGGCTCT GGCAGCACAGCCAACCTGGCATCCAGCAACTACTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGATG CCCAGATTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAA CCAACCTTTTGTGACAGTGGTGGACACCAGGAGCACCAATATGAGTCTGTGTGCTGCCATCAGCACC TCTGAGACCACCTACAAGAACACCAACTTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACCTCCAAT TCATCTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAACAGCACC ATCTTGAGGACTGGAACCTTTGGACTCCAACCTCCTCCTGGAGGCACCTTGAGGACACCTACAGGTTTG TGACCAGCCAGGCTATTGCCTGTCAGAAACACACACCTCCTGCCCCAAAGGAGGACCACTGAAAAATA CACCTTCTGGGAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAG TTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACAGCACCAGGACC TCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 31	1605 合成的 HPV16L1 基因 ctgggtaccATGAGTCTGTGGCTGCCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGGT GAGCACAGATGAATATGTGGCAAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGCACCAGCAGACTGCTGGCTGTG GGACACCCATACTTTCCAATCAAGAAGCCAAACAACAAGATTCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCC AATACAGGGTGTTCAGGATTCACCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCTACAAC CCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTG GGCATCTCTGGACACCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAATGCCTCTGCCTATGCTGCCAATG CTGGAGTGGACAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGATTGGCTGTAA GCCTCCAATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGCAGCCCATGTACCAATGTGGCTGTGAACCTGGAGACTGT CCTCCATTGGAACCTGATAAACACAGTGATTTCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGG ACTTACCAACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTACCAGCATCTGTAAATACCC

	TGA CTACATCAAGATGGTGTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAGATG TTTGTGAGACACCTGTTCAACAGGGCTGGAGCAGTGGGAGAGAATGTGCCTGATGACCTCTACATCAAGG GCTCTGGCAGCACAGCCAACCTGGCATCCAGCAACTACTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTC TGATGCCCAGATTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGG GGCAACCAACTTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGAGTCTGTGTGCTGCCATCA GCACCTCTGAGACCACCTACAAGAACACCAACTTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACC TCCAATTCATCTTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAAC AGCACCATCTTGGAGGACTGGAACCTTTGGACTCCAACCTCCTCCTGGAGGCACCTTGGAGGACACCTACA GGTTTGTGACCAGCCAGGCTATTGCCTGTCAGAAACACACACCTCCTGCCCCAAAGGAGGACCCACTGAA AAAATACACCTTCTGGGAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGC AGGAAGTTCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAGTTCAACCCTGGGCAAGAGGAAGGCTACA CCAACCACCTCCAGCACCAGCACCACAGCCAAGAGGAAGAAGAGGAAACTGTAAActcgagctc
SEQ ID No: 32	1606 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCCAACCAATGCCAAGAAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACTGAGGGAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCTGCCAATG ACTGTCCTCCATTGGAAGTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAC TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAAGTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT

	CCAATTGTGTTCCAACCTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCCAACCCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgagetc
SEQ ID No: 33	1607 HPV16L1 F1 CTTGGTACCATGAGTCTGTGGCTGCCATCTGAGG
SEQ ID No: 34	1608 HPV16L1 R1 GCTTGGCTTTTCAATCCTGCTTGGAGCAGGAACCTTCC
SEQ ID No: 35	1609 HPV16L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGAGTCTGTGGCTGCCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGGTGAGCA</u> <u>CAGATGAATATGTGGCAAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGCACCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACA</u> <u>CCCATACTTTCCAATCAAGAAGCCAAACAACAACAAGATTCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCCAATAC</u> <u>AGGGTGTTCAGGATTCACCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTCTGACACCTCCTTCTACAACCCTGA</u> <u>CACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCAT</u> <u>CTCTGGACACCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAATGCCTCTGCCTATGCTGCCAATGCTGGA</u> <u>GTGGACAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGATTGGCTGTAAGCCTC</u> <u>CAATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGCAGCCCATGTACCAATGTGGCTGTGAACCTTGAGACTGTCCTCC</u> <u>ATTGGAAGTATAAACACAGTGATTCAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTC</u> <u>ACCACCTCCAAGCCAACAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTACCAGCATCTGTAAATACCCTGACT</u> <u>ACATCAAGATGGTGTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAGATGTTGT</u> <u>GAGACACCTGTTCAACAGGGCTGGAGCAGTGGGAGAGAATGTGCCTGTGACCTCTACATCAAGGGCTCT</u> <u>GGCAGCACAGCCAACCTGGCATCCAGCAACTACTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGATG</u> <u>CCCAGATTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAA</u> <u>CCAACTTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGAGTCTGTGTGCTGCCATCAGCACC</u> <u>TCTGAGACCACCTACAAGAACACCAACTTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACCTCCAAT</u> <u>TCATCTTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAACAGCACC</u>

	<u>ATCTTGAGGAGCTGGAACCTTTGGACTCCAACCTCCTCTGGAGGCACCTTGGAGGACACCTACAGGTTTG</u> <u>TGACCAGCCAGGCTATTGCCTGTCAGAAACACACACCTCCTGCCCCAAAGGAGGACCCACTGAAAAATA</u> <u>CACCTTCTGGGAGGTGAACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAG</u> <u>TTCCTGCTCCAAGCAGGACTG</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV16L1 的 1-474 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 36	1610 HPV16L1 F2 AGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAACTGAAAAGGG
SEQ ID No: 37	1611 HPV16L1 R2 CTGTCTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No: 38	1612 HPV16L1 扩增序列 2 <u>AGCAGGACTG</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAACTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA <u>ATCTAGA</u>^[3] CAG. [1]: 与 HPV16L1 的 1-474 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点。
SEQ ID No: 39	1613 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

附录 4: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 18 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 40	1801 HPV 18 型 L1 蛋白的 1-470 氨基酸序列 MALWRPSDNTVYLPPPSVARVVNTDDYVTRTSIFYHAGSSRLLTVGNPYFRVP AGGGNKQDIPKVSAYQYRVFRVQLPDPNKFGLPDTSIYNPETQRLVWACAGV EIGRGQPLGVGLSGHPFYNKLDDTESSHAATSNVSEDVRDNVSVDYKQTQLCI LGCAPAIGEHWAKGTACKSRPLSQGDCPPLELKNTVLEDGDMVDTGYGAMD FSTLQDTKCEVPLDICQSICKYPDY LQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWN RAGTMGDTV PQSLYIKGTGMRASPGSCVYSPSPSGSIVTSDSQLFNKPYWLHK AQGHNNGVCWHNQLFVTVD TTRSTNLTICASTQSPVPGQYDATKFKQYSRH VEEYDLQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSILEDWNFGVPPPPTTSLVD TYRFV QSVAITCQKDAAPAENKDPYDKLKFWNVDLKEKFSLDLDQYPLGRKFL
SEQ ID No: 41	1802 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 42	1803 嵌合的 HPV 18 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MALWRPSDNTVYLPPPSVARVVNTDDYVTRTSIFYHAGSSRLLTVGNPYFRVP AGGGNKQDIPKVSAYQYRVFRVQLPDPNKFGLPDTSIYNPETQRLVWACAGV EIGRGQPLGVGLSGHPFYNKLDDTESSHAATSNVSEDVRDNVSVDYKQTQLCI LGCAPAIGEHWAKGTACKSRPLSQGDCPPLELKNTVLEDGDMVDTGYGAMD FSTLQDTKCEVPLDICQSICKYPDY LQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWN RAGTMGDTV PQSLYIKGTGMRASPGSCVYSPSPSGSIVTSDSQLFNKPYWLHK AQGHNNGVCWHNQLFVTVD TTRSTNLTICASTQSPVPGQYDATKFKQYSRH VEEYDLQFIFQLCTITLTADVMSYIHSMNSSILEDWNFGVPPPPTTSLVD TYRFV QSVAITCQKDAAPAENKDPYDKLKFWNVDLKEKFSLDLDQYPLGRKFLKAKP KLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 43	1804 嵌合的 HPV 18 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGGCCCTCTGGAGACCATCCGATAACACAGTG TACTTGCCCCACCCAGCGTCGCCCCGGTGGTGAACA CAGACGACTACGTCACCAGAACCTCAATCTTCTACCACGCCGGGTCCAGCCGGCTGCTGACCGTGGGCAA CCCCTACTTCCGCGTGCCCGCCGGCGGCGGAAACAAACAAGACATCCCCAAAGTCAGCGCCTATCAGTAC CGGGTGTTCGCGTCCAAC TGCCGATCCCAACAAGTT CGGCCTGCCGACACCTCCATCTACAACCCCG

	AGACCCAGAGGCTGGTCTGGGCTTGCGCCGGCGTCGAGATCGGGAGGGGCCAACCCCTGGGCGTGGGGT TGTCCGGCCACCCCTTCTACAACAAGCTGGACGATACCGAGTCCAGCCACGCAGCAACCAGCAACGTCTC CGAAGATGTGCGGATAACGTCAGCGTGGACTACAAACAAACCCAACTGTGCATCCTGGGATGCGCACCC GCCATCGGCGAGCATTGGGCCAAGGGGACCGCCTGCAAGAGCAGGCCCTGAGCCAAGGGGACTGTCCA CCCCTGGAGTTGAAGAATACCGTGCTCGAGGACGGCGACATGGTGACACCGGCTACGGCGCTATGGAT TTCTCCACCCTCCAGGACACCAAGTGCGAAGTGCCCTCGACATCTGCCAAAGCATCTGCAAGTACCCCG ACTACCTCCAGATGAGCGCCGACCCCTACGGCGACAGCATGTTCTTCTGTCTCAGAAGGGAACAATTGTT CGCCCGCCACTTCTGGAACCGGGCCGGCACAATGGGAGATACAGTCCCCCAGAGCCTGTACATCAAGGG GACCGGAATGAGGGCCAGCCCCGGGTCTGCGTCTACAGCCCAAGCCCCTCCGGGAGCATCGTCACAAG CGATAGCCAACTCTTCAACAAGCCCTACTGGCTCCACAAAGCCCAAGGCCACAATAACGGGGTGTGTTGG CACAACCAGCTGTTCTGTACCGTCTGTGGACACAACCAGGTCCACAAACCTGACCATCTGCGCCAGCACCC AAAGCCCCGTGCCCCGCCAGTACGACGCCACAAAGTTCAAACAATACTCTCGGCACGTGGAAGAGTACG ACCTCCAATTCATCTTCCAACCTCTGCACCATCACCTCACCGCCGACGTGATGAGCTACATCCACTCCATG AACTCCTCCATCCTGGAAGACTGGAATTTGCGCGTGCCACCACCCCTACCACCTCCCTCGTCGACACCTA CAGATTCTGTGAGAGCGTGGCCATCATATGCCAGAAAGACGCCGCCCCCGCGAGAACAAGACCCATA CGACAAACTGAAATTCTGGAACGTCGACCTGAAAGAGAAATTCAGCCTGGATCTGGACCAGTACCCATTG GGCAGGAAGTTCCTCAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGGACCTCCTCT GCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 44	1805 合成的 HPV18L1 基因 ctgggtaccATGGCCCTCTGGAGACCATCCGATAACACAGTGTACTTGCCCCACCCAGCGTCGCCGGGTGG TGAACACAGACGACTACGTCACCAGAACCTCAATCTTCTACCACGCCGGGTCCAGCCGGCTGCTGACCGT GGGCAACCCCTACTTCCGCGTGCCCGCCGGCGGCGGAAACAAACAAGACATCCCCAAAGTCAGCGCCTA TCAGTACCGGGTGTCCGCGTCCAACCTGCCGATCCCAACAAGTTCGGCCTGCCGACACCTCCATCTACA ACCCCGAGACCCAGAGGCTGGTCTGGGCTTGCGCCGGCGTCGAGATCGGGAGGGGCCAACCCCTGGGCG TGGGGTTGTCCGGCCACCCCTTCTACAACAAGCTGGACGATACCGAGTCCAGCCACGCAGCAACCAGCAA CGTCTCCGAAGATGTGCGGATAACGTCAGCGTGGACTACAAACAAACCCAACTGTGCATCCTGGGATGC GCACCCGCCATCGGCGAGCATTGGGCCAAGGGGACCGCCTGCAAGAGCAGGCCCTGAGCCAAGGGGAC TGTCCACCCCTGGAGTTGAAGAATACCGTGCTCGAGGACGGCGACATGGTGACACCGGCTACGGCGCT

	ATGGATTCTCCACCCTCCAGGACACCAAGTGCGAAGTGCCCTCGACATCTGCCAAAGCATCTGCAAGT ACCCCGACTACCTCCAGATGAGCGCCGACCCCTACGGCGACAGCATGTTCTTCTGTCTCAGAAGGGAACA ATTGTTGCCCCGCCACTTCTGGAACCGGGCCGGCACAATGGGAGATACAGTCCCCAGAGCCTGTACATC AAGGGGACCGGAATGAGGGCCAGCCCCGGTCTGCGTCTACAGCCCAAGCCCCCTCCGGGAGCATCGTC ACAAGCGATAGCCAACCTCTTCAACAAGCCCTACTGGCTCCACAAAGCCCAAGGCCACAATAACGGGGTGT GTTGGCACAACCAGCTGTTCTGTGACCGTCTGTGGACACAACCAGGTCCACAAACCTGACCATCTGCGCCAG CACCCAAAGCCCCGTGCCCGGCCAGTACGACGCCACAAAGTTCAAACAATACTCTCGGCACGTGGAAGA GTACGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTCTGCACCATCACCCCTACCGCCGACGTGATGAGCTACATCCACT CCATGAACTCCTCCATCCTGGAAGACTGGAATTTGCGCGTGCCACCACCCCTACCACCTCCCTCGTCGAC ACCTACAGATTCTGTGAGAGCGTGGCCATCACATGCCAGAAAGACGCCGCCCGCCGAGAACAAAGAC CCATACGACAAACTGAAATTCTGGAACGTCGACCTGAAAGAGAAATTCAGCCTGGATCTGGACCAGTACC CATTGGGCAGGAAGTTCCTCGTGCAAGCCGGCCTCAGGAGAAAACCAACAATCGGGCCAGGAAGAGGA GCGCCCCAGCGCAACCACCAGCAGCAAGCCGCAAAAAGGGTCAGAGTGAGGGCACGCAAATAAAActeg agctc
SEQ ID No: 45	1806 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCCTGCCAATG ACTGTCTCCATTGGAACCTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAC TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT

	TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTGTGTTCCTCACTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActegagetc
SEQ ID No: 46	1807 HPV18L1 F1 CTTGGTACCATGGCCCTCTGGAGACCATCCGATA
SEQ ID No: 47	1808 HPV18L1 R1 GCTTGGCTTTGAGGAACTTCCTGCCCAATGGGTAC
SEQ ID No: 48	1809 HPV18L1 扩增序列 1 <u>CTTGGTACC^[1]</u> <u>ATGGCCCTCTGGAGACCATCCGATAACACAGTGTA</u><u>CTTGCCCCACCCAGCGTCGCGCGGGTGGTGAACA</u> <u>CAGACGACTACGTCACCAGAACCTCAATCTTCTACCACGCCGGGTCCAGCCGGCTGCTGACCGTGGGCAA</u> <u>CCCCTACTTCCGCGTGCCCGCCGGCGGCGGAAACAAACAAGACATCCCCAAAGTCAGCGCCTATCAGTAC</u> <u>CGGGTGTTCGCGTCCAAGTGGCGATCCCAACAAGTTCGGCCTGCCCGACACCTCCATCTACAACCCCG</u> <u>AGACCCAGAGGCTGGTCTGGGCTTGCGCCGGCGTCGAGATCGGGAGGGGCCAACCCTGGGCGTGGGGT</u> <u>TGTCCGGCCACCCCTTCTACAACAAGCTGGACGATACCGAGTCCAGCCACGCAGCAACCAGCAACGTCTC</u> <u>CGAAGATGTGCGGATAACGTGAGCGTGGACTACAAACAAACCAACTGTGCATCCTGGGATGCGCACCC</u> <u>GCCATCGGCGAGCATTTGGGCCAAGGGGACCGCCTGCAAGAGCAGGCCCTGAGCCAAGGGGACTGTCCA</u> <u>CCCCTGGAGTTGAAGAATACCGTGCTCGAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTACGGCGCTATGGAT</u> <u>TTCTCCACCCTCCAGGACACCAAGTGCGAAGTGCCCTCGACATCTGCCAAAGCATCTGCAAGTACCCCG</u> <u>ACTACCTCCAGATGAGCGCGGACCCCTACGGCGACAGCATGTTCTTGTCTCAGAAGGGGAACAATTGTT</u> <u>CGCCCGCCACTTCTGGAACCGGGCCGGCACAATGGGAGATACAGTCCCCCAGAGCCTGTACATCAAGGG</u> <u>GACCGGAATGAGGGCCAGCCCCGGTCTGCGTCTACAGCCCAAGCCCCTCCGGGAGCATCGTCACAAG</u> <u>CGATAGCCAACTCTTCAACAAGCCCTACTGGCTCCACAAAGCCCAAGGCCACAATAACGGGGTGTGTTGG</u> <u>CACAACCAGCTGTTCTGTGACCGTCTGTGGACACAACCAGGTCCACAAACCTGACCATCTGCGCCAGCACCC</u>

	<u>AAAGCCCCGTGCCCGGCCAGTACGACGCCACAAAGTTCAAACAATACTCTCGGCACGTGGAAGAGTACG</u> <u>ACCTCCAATTCATCTTCCAACCTCTGCACCATCACCTCACCGCCGACGTGATGAGCTACATCCACTCCATG</u> <u>AACTCCTCCATCCTGGAAGACTGGAATTTGGCGTGCCACCACCCCTACCACCTCCCTCGTCGACACCTA</u> <u>CAGATTCGTGCAGAGCGTGGCCATCACATGCCAGAAAGACGCCGCCCCCGCCGAGAACAAAGACCCATA</u> <u>CGACAAACTGAAATTCTGGAACGTGACCTGAAAGAGAAATTCAGCCTGGATCTGGACCAGTACCCATTG</u> <u>GGCAGGAAGTTCCTC</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV18L1 的 1-470 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 49	1810 HPV18L1 F2 GAAGTTCCTCAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGG
SEQ ID No: 50	1811 HPV18L1 R2 CTGTCTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCTCTTGG
SEQ ID No: 51	1812 HPV18L1 扩增序列 2 <u>GAAGTTCCTC</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA ATCTAGA^[3]CAG。 [1]: 与 HPV18L1 的 1-470 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点。
SEQ ID No: 52	1813 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVRKRKSSRK

附录 5: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 31 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 53	3101 HPV 31 型 L1 蛋白的 1-475 氨基酸序列 MSLWRPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSARLLTVGHPYYSIP KSDNPKKIVVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKFGFPDTSFYNPETQRLVWACVGL EVGRGQPLGVGISGHPLLNFDDTENSNNRYAGGPGTDNRECISMDYKQTQLC LLGCKPPIGEHWGKGSPCSNNAITPGDCPPLELKNSVIQDGDMDVDTGFGAMDF TALQDTKSNVPLDICNSICKYPDYLMVAEPYGDTLFFYLRREQMFVRHFFNR SGTVGESVPTDLYIKGSGSTATLANSTYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWMQRA QGHNNIGCWGNQLFVTVVDTTTRSTNMSVCAAIANSDDTFKSSNFKEYLRHGE EFDLQFIFQLCKITLSADIMTYIHSMNPAILEDWNFGLTTPPSGSLEDYRFVTS QAITCQKSAPQKPKEDPFKDYVFEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGY
SEQ ID No: 54	3102 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 55	3103 嵌合的 HPV 31 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MSLWRPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSARLLTVGHPYYSIP KSDNPKKIVVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKFGFPDTSFYNPETQRLVWACVGL EVGRGQPLGVGISGHPLLNFDDTENSNNRYAGGPGTDNRECISMDYKQTQLC LLGCKPPIGEHWGKGSPCSNNAITPGDCPPLELKNSVIQDGDMDVDTGFGAMDF TALQDTKSNVPLDICNSICKYPDYLMVAEPYGDTLFFYLRREQMFVRHFFNR SGTVGESVPTDLYIKGSGSTATLANSTYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWMQRA QGHNNIGCWGNQLFVTVVDTTTRSTNMSVCAAIANSDDTFKSSNFKEYLRHGE EFDLQFIFQLCKITLSADIMTYIHSMNPAILEDWNFGLTTPPSGSLEDYRFVTS QAITCQKSAPQKPKEDPFKDYVFEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGYKA KPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 56	3104 嵌合的 HPV 31 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGAGCCTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGTGAGC ACCGACGAGTACGTGACCAGGACCAACATCTACTACCACGCCGGCAGCGCCAGGCTGCTGACCGTGGGC CACCCTACTACAGCATCCCCAAGAGCGACAACCCCAAGAAGATCGTGGTGCCCAAGGTGAGCGGCCTG CAGTACAGGGTGTTACAGGGTGAGGCTGCCCCACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCTTCTACA

	ACCCCGAGACCCAGAGGCTGGTGTGGGCCTGCGTGGGCCTGGAGGTGGGCAGGGGCCAGCCCCTGGGCG TGGGCATCAGCGGCCACCCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGAACAGCAACAGGTACGCCGGCG GCCCCGGCACCGACAACAGGGAGTGCATCAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCCTGCTGGGCT GCAAGCCCCCATCGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCAGCCCCTGCAGCAACAACGCCATCACCCC GGCG ACTGCCCCCCCCTGGAGCTGAAGAACAGCGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTTCGGCG CCATGGACTTCACCGCCCTGCAGGACACCAAGAGCAACGTGCCCCTGGACATCTGCAACAGCATCTGCAA GTACCCCGACTACCTGAAGATGGTGGCCGAGCCCTACGGCGACACCCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAG CAGATGTTCTGTGAGGCACTTCTTCAACAGGAGCGGCACCGTGGGCGAGAGCGTGCCACCGACCTGTACA TCAAGGGCAGCGGCAGCACCGCCACCCTGGCCAACAGCACCTACTTCCCCACCCCAGCGGCAGCATGGT GACCAGCGACGCCAGATCTTCAACAAGCCCTACTGGATGCAGAGGGGCCAGGGCCACAACAACGGCAT CTGCTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTGACCGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACATGAGCGTGTGCGC CGCCATCGCCAACAGCGACACCACCTTCAAGAGCAGCAACTTCAAGGAGTACCTGAGGCACGGCGAGGA GTTGACCTGCAGTTCATCTTCCAGCTGTGCAAGATCACCTGAGCGCCGACATCATGACCTACATCCACA GCATGAACCCCGCCATCCTGGAGGACTGGAACCTTCGGCCTGACCACCCCCCAGCGGCAGCCTGGAGG ACACCTACAGGTTCTGTGACCAGCCAGGCCATCACCTGCCAGAAGTCCGCCCCCAGAAGCCCAAGGAGG ACCCCTTCAAGGACTACGTGTTCTGGGAGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCTGGACCAGTT CCCCCTGGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGGCCGGCTACAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCC AACCAGCACCAGGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 57	3105 合成的 HPV31L1 基因 ctgggtaccATGAGCCTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGG TGAGCACCGACGAGTACGTGACCAGGACCAACATCTACTACCACGCCGGCAGCGCCAGGCTGCTGACCG TGGGCCACCCCTACTACAGCATCCCCAAGAGCGACAACCCCAAGAAGATCGTGGTGCCCAAGGTGAGCG GCCTGCAGTACAGGGTGTTCAGGGTGAGGCTGCCCGACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCTT CTACAACCCCGAGACCCAGAGGCTGGTGTGGGCCTGCGTGGGCCTGGAGGTGGGCAGGGGCCAGCCCCT GGGCGTGGGCATCAGCGGCCACCCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGAACAGCAACAGGTACGC CGGCGGCCCCGGCACCGACAACAGGGAGTGCATCAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCCTGCT GGGCTGCAAGCCCCCATCGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCAGCCCCTGCAGCAACAACGCCATACCCC CGGCGACTGCCCCCCCCTGGAGCTGAAGAACAGCGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTT

	CGGCGCCATGGACTTCACCGCCCTGCAGGACACCAAGAGCAACGTGCCCCCTGGACATCTGCAACAGCATC TGCAAGTACCCCGACTACCTGAAGATGGTGGCCGAGCCCTACGGCGACACCCTGTTCTTCTACCTGAGGA GGGAGCAGATGTTCTGTGAGGCACTTCTTCAACAGGAGCGGCACCGTGGGCGAGAGCGTGCCACCGACC TGTACATCAAGGGCAGCGGCAGCACCGCCACCCTGGCCAACAGCACCTACTTCCCCACCCCAGCGGCAG CATGGTGACCAGCGACGCCAGATCTTCAACAAGCCCTACTGGATGCAGAGGGCCCAGGGCCACAACAA CGGCATCTGCTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTGACCGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACATGAGCGT GTGCGCCGCCATCGCCAACAGCGACACCACCTTCAAGAGCAGCAACTTCAAGGAGTACCTGAGGCACGG CGAGGAGTTCGACCTGCAGTTCATCTTCCAGCTGTGCAAGATCACCTGAGCGCCGACATCATGACCTAC ATCCACAGCATGAACCCCGCCATCCTGGAGGACTGGAACCTTCGGCCTGACCACCCCCCCCAGCGGCAGCC TGGAGGACACCTACAGGTTCGTGACCAGCCAGGCCATCACCTGCCAGAAGTCCGCCCCCAGAAGCCCCA AGGAGGACCCCTTCAAGGACTACGTGTTCTGGGAGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCTGG ACCAGTCCCCCTGGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGGCCGGCTACAGGGCCAGGCCCAAGTTCAGGCCG GCAAGAGGAGCGCCCCAGCGCCAGCACCAACCACCCCGCCAAGAGGAAGAAGACCAAGAAGTAAActcg agctc
SEQ ID No: 58	3106 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGACCAATGCTGCCCCCTGCCAATG ACTGTCTCTCATTGGAACCTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAG TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCAAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC

	CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTGTGTTCCAACCTTGTAAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgaetc
SEQ ID No: 59	3107 HPV31L1 F1 CTTGGTACCATGAGCCTGTGGAGGCCAGCGAG
SEQ ID No: 60	3108 HPV31L1 R1 GCTTGGCTTTGTAGCCGGCCTGCAGCAGGAACTTCCTG
SEQ ID No: 61	3109 HPV31L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGAGCCTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGTGAGC</u> <u>ACCGACGAGTACGTGACCAGGACCAACATCTACTACCACGCCGGCAGCGCCAGGCTGCTGACCGTGGGC</u> <u>CACCCCTACTACAGCATCCCCAAGAGCGACAACCCCAAGAAGATCGTGGTGCCCAAGGTGAGCGGCCTG</u> <u>CAGTACAGGGTGTTCAGGGTGAGGCTGCCCCACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCTTCTACA</u> <u>ACCCCGAGACCCAGAGGCTGGTGTGGCCTGCGTGGGCCTGGAGGTGGGCAGGGGCCAGCCCCTGGGCG</u> <u>TGGGCATCAGCGGCCACCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGAACAGCAACAGGTACGCCGGCG</u> <u>GCCCCGGCACCGACAACAGGGAGTGCATCAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCCTGCTGGGCT</u> <u>GCAAGCCCCCATCGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCAGCCCTGCAGCAACAACGCCATCACCCCGGCG</u> <u>ACTGCCCCCCTGGAGCTGAAGAACAGCGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTTCGGCG</u> <u>CCATGGACTTCACCGCCCTGCAGGACACCAAGAGCAACGTGCCCCTGGACATCTGCAACAGCATCTGCAA</u> <u>GTACCCCGACTACCTGAAGATGGTGGCCGAGCCCTACGGCGACACCCTGTTCTTACTGAGGAGGGAG</u> <u>CAGATGTTCTGTGAGGCACTTCTTAACAGGAGCGGCACCGTGGGCGAGAGCGTGCCACCGACCTGTACA</u> <u>TCAAGGGCAGCGGCAGCACCGCCACCCTGGCCAACAGCACCTACTTCCCCACCCCGAGCGGCAGCATGGT</u> <u>GACCAGCGACGCCAGATCTTCAACAAGCCCTACTGGATGCAGAGGGGCCAGGGCCACAACAACGGCAT</u>

	<u>CTGCTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTGACCGTGGTGACACCACCAGGAGCACCAACATGAGCGTGTGCGC</u> <u>CGCCATCGCCAACAGCGACACCACCTTCAAGAGCAGCAACTTCAAGGAGTACCTGAGGCACGGCGAGGA</u> <u>GTTTCGACCTGCAGTTCATCTTCCAGCTGTGCAAGATCACCTGAGCGCCGACATCATGACCTACATCCACA</u> <u>GCATGAACCCCGCCATCCTGGAGGACTGGAACCTCGGCCTGACCACCCCCCAGCGGCAGCCTGGAGG</u> <u>ACACCTACAGGTTCTGTGACCAGCCAGGCCATCACCTGCCAGAAGTCCGCCCCCAGAAGCCCAAGGAGG</u> <u>ACCCCTTCAAGGACTACGTGTTCTGGGAGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCTGGACCAGTT</u> <u>CCCCCTGGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGGCCGGCTAC</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV31L1 的 1-475 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 62	3110 HPV31L1 F2 GGCCGGCTACAAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 63	3111 HPV31L1 R2 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCTCTTGGCAGAG
SEQ ID No: 64	3112 HPV31L1 扩增序列 2 <u>GGCCGGCTAC</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA ATCTAGA^[3]CAG. [1]: 与 HPV31L1 的 1-475 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点。
SEQ ID No: 65	3113 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVRKRKSSRK

附录 6: 序列表-人乳头瘤病毒 33 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 66	3301 HPV 33 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MSVWRPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYYAGSSRL LAVGHPYFSIK NPTNAKKLLVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKF GFDTSFYNPDTQRLVWACVG LEIGRGQPLGVGISGHPLL NKFDDTETGNKY PGQPGADNRECL SMDYKQTQLC LLGCKPPTGEHWGKG VACTNAAPANDCPPLELINTI IEDGDMVDTGFGCMDF KTLQANKSDVPIDICGSTCKYPDYLKMTSEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFNRA GTLGEAVPDDL YIKGSGTTASIQSSAFFPTPSGSMVTSESQ LFNKPYWLQRAQG HNNGICWGNQVFVTVD TTRSTNMTLCTQVTS DSTYKNENFKEYIRHVEEYD LQFVFLCKVTLTAEVMTYIHAMNPDI EDWQFGLTPPPSASLQD TYRFVTSQ AITCQKTVPPKEKEDPLGKYTFWEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGLKAK PKLKRAAPTSTR TSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 67	3302 HPV 33 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGGTGAGCA CAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACA CCCATACTTCAGCATCAAGAACCCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCCAA TACAGGGTGTT CAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCTACAACCC TGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGG CATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCTGGACAACCT GGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGGGCTGTAAG CCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTGTACCAATGCTGCCCTGCCAATGACTGTCCTC CATTGGAAGTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTGTATGGACTT CAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAATACCTGAC TACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACAGATGTTTGT GAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATCAAGGGCTCT GGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGAGAG CCAAC TTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAAC CAGGTGTTGTGACAGTGGTGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGGTGACCTCTG

	ACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAATTTGT GTTCCAACCTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACCTGACATC TTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGGTTTGTGAC CAGCCAGGCTATCACTTGTGTCAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGCAAATACAC CTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTC CTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCAACCAGCACCAGGACCTCC TCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 68	3303 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTTACCAATGCTGCCCTGCCAATG ACTGTCCTCCATTGGAACGTATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTA TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCTCTGCCTTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCAACCTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACC AATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTTGTGTTCCAACCTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGTCAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA

	GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAACTGAAAAGGGCTGCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgagetc
--	--

附录 7: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 35 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 69	3501 HPV 35 型 L1 蛋白的 1-472 氨基酸序列 MSLWRSNEATVYLPPVSVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSSRL LAVGHPYYAIK KQDSNKIAVPKVSGLQYRVFRVKLPDPNKFGFPDTSFYDPASQRLVWACTGV EVGRGQPLGVGISGHPLLNKLDDTENS NKYVGNSGTDNRECISMDYKQTQLC LIGCRPPIGEHWGKGTPCNANQVKAGECPPELLNTVLQDGD MVDTGFGAMD FTTLQANKSDVPLDICSSICKYPDY LK MVSEPYGDMLFFYLRREQMFVRHLFN RAGTVGETVPADLYIKGTTGTL PSTSYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQ GHNNGICWSNQLFVTVD TTRSTNMSVCSAVSSSDSTYKDNDFKEYLRHGEE YDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHS MNPSILEDWNFGLTPPPSGTLED TYRYVTS QAVTCQKPSAPKPKDDPLKNYTFWEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGL
SEQ ID No: 70	3502 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTR TSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 71	3503 嵌合的 HPV 35 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MSLWRSNEATVYLPPVSVSKVVSTDEYVTRTNIYYHAGSSRL LAVGHPYYAIK KQDSNKIAVPKVSGLQYRVFRVKLPDPNKFGFPDTSFYDPASQRLVWACTGV EVGRGQPLGVGISGHPLLNKLDDTENS NKYVGNSGTDNRECISMDYKQTQLC LIGCRPPIGEHWGKGTPCNANQVKAGECPPELLNTVLQDGD MVDTGFGAMD FTTLQANKSDVPLDICSSICKYPDY LK MVSEPYGDMLFFYLRREQMFVRHLFN RAGTVGETVPADLYIKGTTGTL PSTSYFPTPSGSMVTSDAQIFNKPYWLQRAQ GHNNGICWSNQLFVTVD TTRSTNMSVCSAVSSSDSTYKDNDFKEYLRHGEE YDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHS MNPSILEDWNFGLTPPPSGTLED TYRYVTS QAVTCQKPSAPKPKDDPLKNYTFWEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAGLK AKPKLKRAAPTSTR TSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 72	3504 嵌合的 HPV 35 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGAGTCTGTGGAGGAGCAATGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGTCTGTGAGCAAGGTGGTGAGCA CAGATGAATATGTGACCAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACA CCCATACTATGCCATCAAGAAGCAGGACAGCAACAAGATTGCTGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCCAATAC

	AGGGTGTTCAGGGTGAACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCTATGACCCGTGC CAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTACTGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCAT CTCTGGACACCCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAACAGCAACAAATATGTGGGCAACTCTGG CACAGACAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGATTGGCTGTAGACCT CCAATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGGCACACCATGTAATGCCAACCAGGTGAAGGCTGGAGAGTGTCTCT CCATTGGAAGTGTGAACACAGTGTCTCAAGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACT TCACCACCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCTGTTCCAGCATCTGTAAATACCCTGAC TACCTGAAAATGGTGTCTGAACCATATGGAGATATGCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAGATGTTTG TGAGACACCTGTTCAACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAGACAGTGCCTGCTGACCTCTACATCAAGGGCA CCACAGGCACCTGCCAAGCACCTCCTACTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGATGCCCA GATTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGAGCAACCAA CTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGAGTGTGTGTTCTGCTGTGTCCTCCTCTGA CAGCACCTACAAGAATGACAACCTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACCTCCAATTCATC TTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAACCCAAGCATCTT GGAGGACTGGAACTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATATGTGACC AGCCAGGCTGTGACTTGTGAGAAGCCATCTGCCCCAAAGCCAAAGGATGACCACTGAAAACTACACCT TCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCTT GCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACAGCACCAGGACCTCCTC TGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 73	3505 合成的 HPV35L1 基因 ctgggtaccATGAGTCTGTGGAGGAGCAATGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGTCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGACCAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTATGCCATCAAGAAGCAGGACAGCAACAAGATTGCTGTGCCAAAGGTGTCTGGACT CCAATACAGGGTGTTCAGGGTGAACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCTATG ACCCTGCCAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTACTGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAG TGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAACAGCAACAAATATGTGGGCA ACTCTGGCACAGACAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGATTGGCTG TAGACCTCCAATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGGCACACCATGTAATGCCAACCAGGTGAAGGCTGGAGA

	GTGTCCTCCATTGGAAGTCTGAACACAGTCTCCAAGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCT ATGGACTTCACCACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCTGTTCCAGCATCTGTAAATA CCCTGACTACCTGAAAATGGTGTCTGAACCATATGGAGATATGCTGTTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAG ATGTTTGTGAGACACCTGTTCAACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAGACAGTGCCTGCTGACCTCTACATCA AGGGCACCACAGGCACCCTGCCAAGCACCTCCTACTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGA TGCCCAGATTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGAGC AACCAACTTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGAGTGTGTGTTCTGCTGTGTCCTC CTCTGACAGCACCTACAAGAATGACAACCTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACCTCCA ATTCATCTTCCAACTTTGTAAAGATTACCCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAACCCAA GCATCTTGGAGGACTGGAACCTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGGCACCTTGGAGGACACCTACAGATA TGTGACCAGCCAGGCTGTGACTTGTGAGAGCCATCTGCCCCAAAGCCAAAGGATGACCCACTGAAAAAC TACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGA AGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAGACCAAACTTCAGACTGGGCAAGAGGGCTGCCCTGCCA GCACCAGCAAGAAGTCCAGCACCAAGAGGAGGAAGGTGAAGAGCTAAActegagctc
SEQ ID No: 74	3506 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCCTGCCAATG ACTGTCCTCCATTGGAAGTGTAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAATA TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC

	CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTGTGTTCCAACCTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgaetc
SEQ ID No: 75	3507 HPV35L1 F1 CTTGGTACCATGAGTCTGTGGAGGAGCAATGAGG
SEQ ID No: 76	3508 HPV35L1 R1 GCTTGGCTTTCAGTCCTGCTTGGAGCAGGAACTTCC
SEQ ID No: 77	3509 HPV35L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGAGTCTGTGGAGGAGCAATGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGTCTGTGTGAGCAAGGTGGTGAGCA</u> <u>CAGATGAATATGTGACCAGGACCAACATCTACTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACA</u> <u>CCCATACTATGCCATCAAGAAGCAGGACAGCAACAAGATTGCTGTGCCAAAGGTGTCTGGACTCCAATAC</u> <u>AGGGTGTTCAGGGTGAACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCTATGACCCTGC</u> <u>CAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTACTGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCAT</u> <u>CTCTGGACACCCACTGCTGAACAACTGGATGACACAGAGAACAGCAACAAATATGTGGGCAACTCTGG</u> <u>CACAGACAACAGGGAGTGTATCAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGATTGGCTGTAGACCT</u> <u>CCAATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGCACACCATGTAATGCCAACCAGGTGAAGGCTGGAGAGTGTCTCT</u> <u>CCATTGGAACCTGCTGAACACAGTGTCTCAAGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACT</u> <u>TCACCACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCTGTTCCAGCATCTGTAAATACCCTGAC</u> <u>TACCTGAAAAATGGTGTCTGAACCATATGGAGATATGCTGTCTTCTACCTGAGGAGGGAACAGATGTTTG</u> <u>TGAGACACCTGTTCAACAGGGCTGGCACAGTGGGAGAGACAGTGCCTGCTGACCTCTACATCAAGGGCA</u> <u>CCACAGGCACCCTGCCAAGCACCTCCTACTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGATGCCCA</u> <u>GATTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTGGAGCAACCAA</u>

	<u>CTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGAGTGTGTGTTCTGCTGTGTCCTCCTCTGA</u> <u>CAGCACCTACAAGAATGACAACCTCAAGGAATACCTGAGACATGGAGAGGAATATGACCTCCAATTCATC</u> <u>TTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACAGCAGATGTGATGACCTACATCCACAGTATGAACCCAAGCATCTT</u> <u>GGAGGACTGGAACTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGGCACCTTGAGGACACCTACAGATATGTGACC</u> <u>AGCCAGGCTGTGACTTGTGAGAGCCATCTGCCCCAAAGCCAAAGGATGACCCACTGAAAACTACACCT</u> <u>TCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTCTT</u> <u>GCTCCAAGCAGGACTG</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV35L1 的 1-472 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 78	3510 HPV35L1 F2 AGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 79	3511 HPV35L1 R2 CTGTCTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No: 80	3512 HPV35L1 扩增序列 2 <u>AGCAGGACTG</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA <u>ATCTAGA</u>^[3] CAG. [1]: 与 HPV35L1 的 1-472 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点。
SEQ ID No: 81	3513 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVRKRRKSSRK

附录 8: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 39 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 82	3901 HPV 39 型 L1 蛋白的 1-469 氨基酸序列 MAMWRSSDSMVYLPSPSVAKVVNTDDYVTRTGIYYYAGSSRLTVGHPYFK VGMNGGRKQDIPKVSAYQYRVFRVTLDPNKFSPDASLYNPETQRLVWACV GVEVGRGQPLGVGISGHPLYNRQDDTENSFSSSTTNKDSRDNVSDYKQTQL CIIGCVPAIGEHWGKGKACKPNNVSTGDCPPLELVNTPIEDGDMIDTGYGAMD FGALQETKSEVPLDICQSICKYPDYLQMSADVYGDSMFFCLRREQLFARHFWN RGGMVGDAIPAQLYIKGTDIRANPGSSVYCPSPSGSMVTSDSQLFNKPYWLHK AQGHNNGICWHNQLFLTVDVTTSTNFTLSTSISSIPSTYDPSKFKEYTRHVEE YDLQFIFQLCTVTLTTDVMSYIHTMNSSILDNWNFAVAPPPSASLVDITYRYLQS AAITCQKDAPAPEKKDPYDGLKFWNVDLREKFSLELDQFPLGRKFL
SEQ ID No: 83	3902 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK
SEQ ID No: 84	3903 嵌合的 HPV 39 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MAMWRSSDSMVYLPSPSVAKVVNTDDYVTRTGIYYYAGSSRLTVGHPYFK VGMNGGRKQDIPKVSAYQYRVFRVTLDPNKFSPDASLYNPETQRLVWACV GVEVGRGQPLGVGISGHPLYNRQDDTENSFSSSTTNKDSRDNVSDYKQTQL CIIGCVPAIGEHWGKGKACKPNNVSTGDCPPLELVNTPIEDGDMIDTGYGAMD FGALQETKSEVPLDICQSICKYPDYLQMSADVYGDSMFFCLRREQLFARHFWN RGGMVGDAIPAQLYIKGTDIRANPGSSVYCPSPSGSMVTSDSQLFNKPYWLHK AQGHNNGICWHNQLFLTVDVTTSTNFTLSTSISSIPSTYDPSKFKEYTRHVEE YDLQFIFQLCTVTLTTDVMSYIHTMNSSILDNWNFAVAPPPSASLVDITYRYLQS AAITCQKDAPAPEKKDPYDGLKFWNVDLREKFSLELDQFPLGRKFL LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK
SEQ ID No: 85	3904 嵌合的 HPV 39 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGGCTATGTGGAGGTCCTCTGACAGTATGGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCTAAGGTGGTGAACAC AGATGACTATGTGACCAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGACAC CCATACTTCAAGGTGGGGATGAATGGAGGCAGGAAGCAGGACATCCCAAAGGTGCTGCCTACCAATAC

	AGGGTGTTCAGGGTGACCCTGCCTGACCCAAACAAGTTCAGCATCCCTGATGCCTCCCTCTACAACCCTG AGACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCA TCTCTGGACACCCACTCTACAACAGACAGGATGACACAGAGAACAGCCCATTCTCCAGCACCACCAACAA GGACAGCAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATCATTGGCTGTGTGCCTGCC ATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGCAAGGCTTGTAAGCCAAACAATGTGAGCACAGGAGACTGTCCTCCA TTGGAACCTGGTGAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTATGGAGCTATGGACTTTG GAGCCCTCCAAGAGACCAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAATACCCTGACTA CCTCCAAATGAGTGCTGATGTCTATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAACCTTTTGCCA GAACTTCTGGAACAGGGGAGGGATGGTGGGAGATGCCATCCCTGCCAACTCTACATCAAGGGCACAG ACATCAGGGCTAACCCTGGCTCCTCTGTCTACTGTCCAAGCCCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGACAGC CAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGCACAAAC AACTTTTCTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACTTCACCCTGAGCACCAGCATTGAGTCCAG CATCCCAAGCACCTATGACCCAAGCAAGTTCAAGGAATACACCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAA TTCATCTTCCAACCTTTGTACTGTGACCCTGACCACAGATGTGATGAGTTACATCCACACAATGAACTCCAG CATCCTGGACAACCTGGAACCTTTGCTGTGGCTCCTCCTCCATCTGCCTCCCTGGTGGACCTACAGATACC TCCAATCTGCTGCCATCACTTGTGAGAAGGATGCCCCTGCCCCTGAGAAGAAGGACCCATATGATGGACT GAAGTTCTGGAATGTGGACCTGAGGGAGAAGTTCTCCTTGGAACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAG TTCCTGCTCCAACCTTGAGCCAGACCAAAGCCAACCATTTGGACCAAGGAAGAGGGCTGCCCTGCCCAA CCAGCACACCAAGCCCAAGAGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAAGTAAA
SEQ ID No: 86	3905 合成的 HPV39L1 基因 ctgggtaccATGGCTATGTGGAGGTCTCTGACAGTATGGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCTAAGGTGGT GAACACAGATGACTATGTGACCAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTG GGACACCCATACTTCAAGGTGGGGATGAATGGAGGCAGGAAGCAGGACATCCCAAAGGTGTCTGCCTAC CAATACAGGGTGTTCAGGGTGACCCTGCCTGACCCAAACAAGTTCAGCATCCCTGATGCCTCCCTCTACA ACCCTGAGACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAG TGGGCATCTCTGGACACCCACTCTACAACAGACAGGATGACACAGAGAACAGCCCATTCTCCAGCACCAC CAACAAGGACAGCAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATCATTGGCTGTGTG CCTGCCATTGGAGAACACTGGGGCAAGGGCAAGGCTTGTAAGCCAAACAATGTGAGCACAGGAGACTGT

	CCTCCATTGGAAGTGGTGAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTATGGAGCTATGG ACTTTGGAGCCCTCCAAGAGACCAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAATACCC TGACTACCTCCAAATGAGTGCTGATGTCTATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAACCTT TTGCCAGACACTTCTGGAACAGGGGAGGGATGGTGGGAGATGCCATCCCTGCCCAACTCTACATCAAGGG CACAGACATCAGGGCTAACCCTGGCTCCTCTGTCTACTGTCCAAGCCCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTG ACAGCCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGCA CAACCAACTTTTCTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACTTCACCCTGAGCACCAGCATTGAG TCCAGCATCCCAAGCACCTATGACCCAAGCAAGTTCAAGGAATACACCAGGCATGTGGAGGAATATGACC TCCAATTCATCTTCCAACCTTGTACTGTGACCCTGACCACAGATGTGATGAGTTACATCCACACAATGAAC TCCAGCATCCTGGACAACTGGAACCTTGTGTGGCTCCTCCTCCATCTGCCTCCCTGGTGGACACCTACAG ATACCTCCAATCTGCTGCCATCACTTGTGAGAAGGATGCCCCTGCCCTGAGAAGAAGGACCCATATGAT GGACTGAAGTTCTGGAATGTGGACCTGAGGGAGAAGTTCTCCTTGGAACTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCTGCTCCAAGCCAGGGTGAGGAGGAGACCAACCATTGGACCAAGGAAGAGACCTGCTGCCA GCACCTCCTCCTCTGCCCACCAACACAAGAGGAAGAGGGTGAGCAAGTAAActcgagetc
SEQ ID No: 87	3906 合成的 HPV59L1 基因 ctgggtaccATGGCTCTGTGGAGGTCTCTGACAACAAGGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCTAAGGTGGT GAGCACAGATGAATATGTGACCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTG GGACACCCATACTTCAAGGTGCCAAAGGGAGGCAATGGCAGACAGGATGTGCCAAAGGTGTCTGCCTAC CAATACAGGGTGTTCAAGGTGAACTGCCTGACCCAAACAAGTTGGACTGCCTGACAACACAGTCTATG ACCCAAACAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGAG TGGGACTGTCTGGACACCCACTCTACAACAACTGGATGACACAGAGAAGTCTCATGTGGCATCTGCTGT GGACACCAAGGACACCAGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACTTGTATCATTGGCTGT GTGCCTGCCATTGGAGAACACTGGACCAAGGGCACAGCCTGTAAGCCAACACAGTGGTCCAGGGAGAC TGTCTCCATTGGAAGTGATAAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTA TGGACTTCAAAGTCTCCAAGACAACAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAATA CCCTGACTACCTCCAAATGAGTGCTGATGCCTATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAG GTGTTTGCCAGACACTTCTGGAACAGGTCTGGCACAATGGGAGACCAACTCCTGAGTCCCTCTACATCA AGGGCACAGACATCAGGGCTAACCCTGGCTCCTACCTCTACAGCCCAAGCCCATCTGGCTCTGTGGTGAC

	CTCTGACAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACTGAACAATGGCATCTGT TGGCACAACCAACTTTTCTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGTCTGTGTGTGCCAGCA CCACCTCCAGCATCCCAAATGTCTACACACCAACCTCCTTCAAGGAATATGCCAGGCATGTGGAGGAGTT TGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTTGTAAGATTACCTGACCACAGAGGTGATGAGTTACATCCACAATA TGAACACCACCATCTTGGAGGACTGGAACCTTGGAGTGACACCTCCTCCAACAGCCTCCCTGGTGGACAC CTACAGGTTTGTCCAGTCTGCTGTGACTTGTGAGAAGGACACAGCCCCTCCTGTGAAGCAGGACCCA TATGACAACTGAAGTTCTGGCCTGTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCAC TGGGCAGGAAGTTCTGCTCCAACCTTGGAGCCAGACCAAAGCCAACCATTGGACCAAGGAAGAGGGCTG CCCCTGCCCCAACCAGCACACCAAGCCCAAAGAGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAAGTAAActcg agctc
SEQ ID No: 88	3907 HPV39L1 F1 CTTGGTACCATGGCTATGTGGAGGTCCTCTGACAGTAT
SEQ ID No: 89	3908 HPV39L1 R1 TCCAAGTTGGAGCAGGAACTTCCTGCCCAGTGGAACT
SEQ ID No: 90	3909 HPV39L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGGCTATGTGGAGGTCCTCTGACAGTATGGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCTAAGGTGGTGAACAC</u> <u>AGATGACTATGTGACCAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGACAC</u> <u>CCATACTTCAAGGTGGGGATGAATGGAGGCAGGAAGCAGGACATCCCAAAGGTGTCTGCCTACCAATAC</u> <u>AGGGTGTTCAGGGTGACCCTGCCTGACCCAAACAAGTTTCAGCATCCCTGATGCCTCCCTCTACAACCCTG</u> <u>AGACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGCA</u> <u>TCTCTGGACACCCACTCTACAACAGACAGGATGACACAGAGAACAGCCCATTCTCCAGCACCACCAACAA</u> <u>GGACAGCAGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTATCATTGGCTGTGTGCCTGCC</u> <u>ATTGGAGAACTGGGGCAAGGGCAAGGCTTGTAGCCAAACAATGTGAGCACAGGAGACTGTCCTCCA</u> <u>TTGGAACCTGGTGAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTATGGAGCTATGGACTTTG</u> <u>GAGCCCTCCAAGAGACCAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAATACCCTGACTA</u> <u>CCTCCAAATGAGTGCTGATGTCTATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAACCTTTTGCCA</u> <u>GAACTTCTGGAACAGGGGAGGGATGGTGGGAGATGCCATCCCTGCCCAACTCTACATCAAGGGCACAG</u>

	<u>ACATCAGGGCTAACCCTGGCTCCTCTGTCTACTGTCCAAGCCCATCTGGCAGTATGGTGACCTCTGACAGC</u> <u>CAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGCACAACC</u> <u>AACTTTCTCTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACTTCACCCTGAGCACCAGCATTGAGTCCAG</u> <u>CATCCCAAGCACCTATGACCCAAGCAAGTTCAAGGAATACACCAGGCATGTGGAGGAATATGACCTCCAA</u> <u>TTCATCTTCCAACCTTTGTACTGTGACCCCTGACCACAGATGTGATGAGTTACATCCACACAATGAACTCCAG</u> <u>CATCCTGGACAACCTGGAACCTTTGCTGTGGCTCCTCCTCCATCTGCCTCCCTGGTGGACACCTACAGATACC</u> <u>TCCAATCTGCTGCCATCACTTGTGTCAGAAGGATGCCCCTGCCCCTGAGAAGAAGGACCCATATGATGGACT</u> <u>GAAATTCTGGAATGTGGACCTGAGGGAGAAGTTCTCCTTGGAACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAG</u> <u>TTCCTG</u>^[2] CTCCAACCTGGA^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV39L1 的 1-469 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV59L1 的 471-508 氨基酸的基因片段重叠的 12 个碱基。
SEQ ID No: 91	3910 HPV39L1 F2 AGGAAGTTCCTGCTCCAACCTGGAGCCAGACCAAAGC
SEQ ID No: 92	3911 HPV39L1 R2 CTGTCTAGATTTACTTCCTGCTGGACTTCCTCCTCTTCAC
SEQ ID No: 93	3912 HPV39L1 扩增序列 2 <u>AGGAAGTTCCTG</u>^[1] <u>CTCCAACCTGGAGCCAGACCAAAGCCAACCATTGGACCAAGGAAGAGGGCTGCCCTGCCCAACCAGC</u> <u>ACACCAAGCCCAAAGAGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAAG</u>^[2] TAA ATCTAGA^[3]CAG. [1]: 与 HPV39L1 的 1-469 氨基酸 C 端基因片段重叠的 12bp 碱基; [2]: HPV59L1 C 端的 38 个 (471-508) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点。
SEQ ID No: 94	3913 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK

附录 9: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 45 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 95	4501 HPV 45 型 L1 蛋白的 1-478 氨基酸序列 MALWRPSDSTVYLPPPSVARVVNTDDYVSRTSIFYHAGSSRLLTVGNPYFRVV PSGAGNKQAVPKVSAYQYRVFRVALPDPNKFGLPDSTIYNPETQRLVWACVG MEIGRGQPLGIGLSGHPFYNKLDDTESAHAATAVITQDVRDNVSVDYKQTQL CILGCVPAIGEHWAKGTLCKPAQLQPGDCPPELKNTHIEDGDMVDTGYGAMD FSTLQDTKCEVPLDICQSICKYPDYQLQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWN RAGVMGDTVPTDLYIKGTSANMRETPGSCVYSPSPSGSITTSDSQLFNKPYWL HKAQGHNNGICWHNQLFVTVVDTRSTNLTLCASTQNPVPNTYDPTKFKHYS RHVEEYDLQFIFQLCTITLTAEVMSYIHSMNSSILENWNFGVPPPPTTSLVD TYR FVQSVAVTCQKDTTPPEKQDPYDKLKFWTVDLKEKFSSDLQYPLGRKFLVQ AGL
SEQ ID No: 96	4502 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 97	4503 嵌合的 HPV 45 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MALWRPSDSTVYLPPPSVARVVNTDDYVSRTSIFYHAGSSRLLTVGNPYFRVV PSGAGNKQAVPKVSAYQYRVFRVALPDPNKFGLPDSTIYNPETQRLVWACVG MEIGRGQPLGIGLSGHPFYNKLDDTESAHAATAVITQDVRDNVSVDYKQTQL CILGCVPAIGEHWAKGTLCKPAQLQPGDCPPELKNTHIEDGDMVDTGYGAMD FSTLQDTKCEVPLDICQSICKYPDYQLQMSADPYGDSMFFCLRREQLFARHFWN RAGVMGDTVPTDLYIKGTSANMRETPGSCVYSPSPSGSITTSDSQLFNKPYWL HKAQGHNNGICWHNQLFVTVVDTRSTNLTLCASTQNPVPNTYDPTKFKHYS RHVEEYDLQFIFQLCTITLTAEVMSYIHSMNSSILENWNFGVPPPPTTSLVD TYR FVQSVAVTCQKDTTPPEKQDPYDKLKFWTVDLKEKFSSDLQYPLGRKFLVQ AGLKAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 98	4504 嵌合的 HPV 45 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGGCTCTGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCAAGGGTGGTGAACA CAGATGACTATGTGAGCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGCAA CCCATACTTCAGGGTGGTGCCAAGTGGAGCAGGCAACAAGCAGGCTGTGCCAAAGGTGTCTGCCTACCA

	ATACAGGGTGTTCAGGGTGGCTCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACAGCACCATCTACAAC CCTGAGACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGGATGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGCATT GGACTGTCTGGACACCCATTCTACAACAACTGGATGACACAGAGTCTGCCCATGTGCCACAGCAGTGA TTACCCAGGATGTGAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATCCTGGGCTGTGT GCCTGCCATTGGAGAACACTGGGCTAAGGGCACCTGTGTAAGCCTGCCAACTCCAACCTGGAGACTGT CCTCCATTGGAAGTGAACCAACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGG ACTTCAGCACCTCCAAGACACCAAGTGTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAATACCC TGA CTACCTCAAATGAGTGTGACCCATATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAACCTT TTTGCCAGACACTTCTGGAACAGGGCTGGAGTGATGGGAGACACAGTGCCAACAGACCTCTACATCAAGG GCACCTCTGCCAATATGAGGGAGACACCTGGCTCCTGTGTCTACAGCCCAAGCCCATCTGGCAGCATCAC CACCTCTGACAGCCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATC TGTTGGCACAACCAACTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGACCCTGTGTGCCA GCACCCAGAACCCTGTGCCAAACACCTATGACCCAACCAAGTTCAAGCACTACAGCAGGCATGTGGAGG AATATGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTTGTACCATCACCTGACAGCAGAGGTGATGAGTTACATCCAC AGTATGAACTCCAGCATCTTGAGAACTGGAACCTTGGAGTGCCTCCTCCTCAACCACCTCCCTGGTGG ACACCTACAGGTTTGTCCAGTCTGTGGCTGTGACTTGTGAGAAGGACACCACACCTCCTGAGAAGCAGGA CCCATATGACAACTGAAGTTCTGGACAGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCCTCTGACCTGGACCAATAC CCACTGGGCAGGAAGTCTGTGTCAGGCTGGACTGAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCA ACCAGCACCGAGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 99	4505 合成的 HPV45L1 基因 ctgggtaccATGGCTCTGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCAAGGGTGGT GAACACAGATGACTATGTGAGCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTG GGCAACCCATACTTCAGGGTGGTGCCAAGTGGAGCAGGCAACAAGCAGGCTGTGCCAAAGGTGTCTGCC TACCAATACAGGGTGTTCAGGGTGGCTCTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACAGCACCATCT ACAACCCTGAGACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGGATGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GCATTGGACTGTCTGGACACCCATTCTACAACAACTGGATGACACAGAGTCTGCCCATGTGCCACAGC AGTGATTACCCAGGATGTGAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATCCTGGGC TGTGTGCCTGCCATTGGAGAACACTGGGCTAAGGGCACCTGTGTAAGCCTGCCAACTCCAACCTGGAG

	ACTGTCCTCCATTGGAAGTGAACAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGC TATGGACTTCAGCACCTCCAAGACACCAAGTGTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAA TACCCTGACTACCTCCAAATGAGTGCTGACCCATATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAAC AACTTTTGGCAGACACTTCTGGAACAGGGCTGGAGTGATGGGAGACACAGTGCCAACAGACCTCTACAT CAAGGGCACCTCTGCCAATATGAGGGAGACACCTGGCTCCTGTGTCTACAGCCCAAGCCCATCTGGCAGC ATCACCACTCTGACAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATG GCATCTGTTGGCACAACCAACTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGACCCTGTG TGCCAGCACCCAGAACCTGTGCCAAACACCTATGACCCAACCAAGTTCAAGCACTACAGCAGGCATGTG GAGGAATATGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTTGTACCATCACCTGACAGCAGAGGTGATGAGTTACAT CCACAGTATGAAGTCCAGCATCTTGGAGAACTGGAACCTTGGAGTGCCTCCTCTCCAACCACTCCCTGG TGGACACCTACAGGTTTGTCCAGTCTGTGGCTGTGACTTGTGAGAAGGACACCACCTCCTGAGAAGCA GGACCCATATGACAACTGAAGTTCTGGACAGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCCTCTGACCTGGACCA TACCCACTGGGCAGGAAGTTCTGTGTCAGGCTGGACTGAGGAGGAGACCAACCATTGGACCAAGGAAG AGACCTGCTGCCAGCACAGCACAGCCAGCAGACCTGCCAAGAGGGTGAGGATTAGGAGCAAGAAGTAA A ctcgagctc
SEQ ID No: 100	4506 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCTGCCAATG ACTGTCCTCCATTGGAAGTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTA TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTCCTGAGGAGGGAACA GATGTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC

	AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTGTGTTCCAACCTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgagctc
SEQ ID No: 101	4507 HPV45L1 F1 CTTGGTACCATGGCTCTGTGGAGACCATCTGAC
SEQ ID No: 102	4508 HPV45L1 R1 GCTTGGCTTTCAGTCCAGCCTGGACCAGGAAC
SEQ ID No: 103	4509 HPV45L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGGCTCTGTGGAGACCATCTGACAGCACAGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCAAGGGTGGTGAACA</u> <u>CAGATGACTATGTGAGCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGCAA</u> <u>CCCATACTTCAGGGTGGTGCCAAGTGGAGCAGGCAACAAGCAGGCTGTGCCAAAGGTGTCTGCCTACCA</u> <u>ATACAGGGTGTTAGGGTGGCTCTGCCTGACCCAAACAAGTTGGACTGCCTGACAGCACCATCTACAAC</u> <u>CCTGAGACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGGATGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGCATT</u> <u>GGACTGTCTGGACACCCATTCTACAACAACTGGATGACACAGAGTCTGCCATGCTGCCACAGCAGTGA</u> <u>TTACCCAGGATGTGAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTATCTGGGCTGTGT</u> <u>GCCTGCCATTGGAGAACACTGGGCTAAGGGCACCTGTGTAAAGCCTGCCAACTCCAACCTGGAGACTGT</u> <u>CCTCCATTGGAAGTGAAAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGG</u> <u>ACTTCAGCACCTCCAAGACACCAAGTGTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAATACCC</u> <u>TGACTACCTCCAAATGAGTGTGACCCATATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAACCTT</u> <u>TTTGCCAGACACTTCTGGAACAGGGCTGGAGTGATGGGAGACACAGTGCCAACAGACCTCTACATCAAGG</u> <u>GCACCTCTGCCAATATGAGGGAGACACCTGGCTCCTGTGTCTACAGCCCAAGCCCATCTGGCAGCATCAC</u>

	<u>CACCTCTGACAGCCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACACAACAATGGCATC</u> <u>TGTTGGCACAACCAACTTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGACCCTGTGTGCCA</u> <u>GCACCCAGAACCCCTGTGCCAAACACCTATGACCCAACCAAGTTCAAGCACTACAGCAGGCATGTGGAGG</u> <u>AATATGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTTGTACCATCACCTGACAGCAGAGGTGATGAGTTACATCCAC</u> <u>AGTATGAACTCCAGCATCTTGGAGAACTGGAACCTTTGGAGTGCTCTCTCTCCAACCACCTCCCTGGTGG</u> <u>ACACCTACAGGTTTGTCCAGTCTGTGGCTGTGACTTGTGAGAAGGACACCACACCTCTGAGAAGCAGGA</u> <u>CCCATATGACAACTGAAGTTCTGGACAGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTCTGACCTGGACCAATAC</u> <u>CCACTGGGCAGGAAGTCTCTGGTCCAGGCTGGACTG</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV45L1 的 1-478 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基.
SEQ ID No: 104	4510 HPV45L1 F2 GGCTGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGG
SEQ ID No: 105	4511 HPV45L1 R2 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCTCTTGGC
SEQ ID No: 106	4512 HPV45L1 扩增序列 2 <u>GGCTGGACTG</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA ATCTAGA^[3]CAG. [1]: 与 HPV45L1 的 1-478 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点.
SEQ ID No: 107	4513 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSKRVKRRKSSRK

附录 10: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 51 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 108	5101 HPV 51 型 L1 蛋白的 1-474 氨基酸序列 MALWRTNDSKVYLPPAPVSRIVNTEEYITRTGIYYYAGSSRLITLGHYPYFPIPKT STRAAIPKVSAFQYRVFRVQLPDPNKFGLPDPNLYNPDTDRLVWGCVGVEVG RGQPLGVGLSGHPLFNKYDDTENSRIANGNAQQDVRDNTSVDNKQTQLCIIGC APPIGEHWGIGTTCKNTPVPPGDCPPELVSSVIQDGDMDTGFGAMDFAALQ ATKSDVPLDISQSVCKYPDYLKMSADTYGNSMFFHLRREQIFARHYYNKLVG VGEDIPNDYYIKGSGNGRDPIESYIYSATPSGSMITSDSQIFNKPYWLHRAQGH NNGICWNNQLFITCVDTTTRSTNLTISTATAAVSPTFTPSNFKQYIRHGEEYELQF IFQLCKITLTTEVMAYLHTMDPTILEQWNFGLTLPPSASLEDAYRFVRNAATSC QKDTTPQAKPDPLAKYKFWDVDLKERFSLDLDQFALGRKFLLQVGV
SEQ ID No: 109	5102 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 110	5103 嵌合的 HPV 51 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MALWRTNDSKVYLPPAPVSRIVNTEEYITRTGIYYYAGSSRLITLGHYPYFPIPKT STRAAIPKVSAFQYRVFRVQLPDPNKFGLPDPNLYNPDTDRLVWGCVGVEVG RGQPLGVGLSGHPLFNKYDDTENSRIANGNAQQDVRDNTSVDNKQTQLCIIGC APPIGEHWGIGTTCKNTPVPPGDCPPELVSSVIQDGDMDTGFGAMDFAALQ ATKSDVPLDISQSVCKYPDYLKMSADTYGNSMFFHLRREQIFARHYYNKLVG VGEDIPNDYYIKGSGNGRDPIESYIYSATPSGSMITSDSQIFNKPYWLHRAQGH NNGICWNNQLFITCVDTTTRSTNLTISTATAAVSPTFTPSNFKQYIRHGEEYELQF IFQLCKITLTTEVMAYLHTMDPTILEQWNFGLTLPPSASLEDAYRFVRNAATSC QKDTTPQAKPDPLAKYKFWDVDLKERFSLDLDQFALGRKFLLQVGVKAKPKL KRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 111	5104 嵌合的 HPV 51 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGGCTCTGTGGAGGACCAATGACAGCAAGGTCTACCTGCCTCCTGCCCCTGTGAGCAGGATTGTGAACA CAGAGGAATACATCACCAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGATTACCCTGGGACA CCCATACTTTCCAATCCCAAAGACCAGCACCAGGGCTGCCATCCCAAAGGTGTCTGCCTTCCAATACAGG

	GTGTTTCAGGGTCCAACTTCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACCCAAACCTCTACAACCTGACA CAGACAGACTGGTGTGGGGCTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGACTGT CTGGACACCCACTGTTCAACAAATATGATGACACAGAGAACAGCAGGATTGCCAATGGCAATGCCAAC AGGATGTGAGGGACAACACCTCTGTGTGACAACAAGCAGACCCAACCTTTGTATCATTGGCTGTGCCCCCTC AATTGGAGAACACTGGGGCATTGGCACCCTTGTGAAGAACACACCTGTGCCTCCTGGAGACTGTCCTCCA TTGGAACCTGGTGTCTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTTGC TGCCCTCCAAGCCACCAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCAGCCAGTCTGTGTGTAAATACCCTGACTACC TGAAAATGAGTGCTGACACCTATGGCAACAGTATGTTCTTCCACCTGAGGAGGGAACAGATTTTGGCAG ACACTACTACAACAACTGGTGGGAGTGGGAGAGGACATCCCAAATGACTACTACATCAAGGGCTCTGG CAATGGCAGGGACCCAATTGAGTCTTACATCTACTCTGCCACACCATCTGGCAGTATGATTACCTCTGACA GCCAGATTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGAACAA CCAACTTTTCATCACTTGTGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGACCATCAGCACAGCCACAGCAGCA GTGAGCCCAACCTTCACACCAAGCAACTTCAAGCAATACATCAGACATGGAGAGGAATATGAACTCCAAT TCATCTTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACCACAGAGGTGATGGCTTACCTGCACACAATGGACCCAACC ATCTTGGAAACAGTGGAACCTTTGGACTGACCCTGCCTCCATCTGCCTCCTTGGAGGATGCCTACAGGTTGT GAGGAATGCTGCCACCTCCTGTCAGAAGGACACACCTCCACAGGCTAAGCCTGACCCACTGGCTAAATAC AAGTTCTGGGATGTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCCCTGGACCTGGACCAGTTTGCCCTGGGCAGGAAGT TCCTGCTCCAAGTGGGAGTCAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCCAGCACCAGGACCT CCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 112	5105 合成的 HPV51L1 基因 ctgggtaccATGGCTCTGTGGAGGACCAATGACAGCAAGGTCTACCTGCCTCCTGCCCCCTGTGAGCAGGATTG TGAACACAGAGGAATACATCACCAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGATTACCCT GGGACACCCATACTTTCCAATCCCAAAGACCAGCACCAGGGCTGCCATCCCAAAGGTGTCTGCCTTCCAA TACAGGGTGTTTCAGGGTCCAACTTCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACCCAAACCTCTACAACC CTGACACAGACAGACTGGTGTGGGGCTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGG GACTGTCTGGACACCCACTGTTCAACAAATATGATGACACAGAGAACAGCAGGATTGCCAATGGCAATGC CCAACAGGATGTGAGGGACAACACCTCTGTGGACAACAAGCAGACCCAACCTTTGTATCATTGGCTGTGCC CCTCCAATTGGAGAACACTGGGGCATTGGCACCCTTGTGAAGAACACACCTGTGCCTCCTGGAGACTGTC

	CTCCATTGGAACCTGGTGTCTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTTGGAGCTATGGA CTTTGCTGCCCTCCAAGCCACCAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCAGCCAGTCTGTGTGTAAATACCCTG ACTACCTGAAAATGAGTGCTGACACCTATGGCAACAGTATGTTCTTCCACCTGAGGAGGGAACAGATTTT TGCCAGACACTACTACAACAACTGGTGGGAGTGGGAGAGGACATCCCAAATGACTACTACATCAAGGG CTCTGGCAATGGCAGGGACCCAATTGAGTCCTACATCTACTCTGCCACACCATCTGGCAGTATGATTACCT CTGACAGCCAGATTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTG GAACAACCAACTTTTCATCACTTGTGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGACCATCAGCACAGCCACA GCAGCAGTGAGCCCAACCTTCACACCAAGCAACTTCAAGCAATACATCAGACATGGAGAGGAATATGAA CTCCAATTCATCTTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACCACAGAGGTGATGGCTTACCTGCACACAATGGA CCCAACCATCTTGGAACAGTGGAACCTTTGGACTGACCTGCCTCCATCTGCCTCCTTGGAGGATGCCTACA GGTTTGTGAGGAATGCTGCCACCTCCTGTGAGAAGGACACACCTCCACAGGCTAAGCCTGACCCACTGGC TAAATACAAGTTCTGGGATGTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCCCTGGACCTGGACCAGTTTGCCTGGGC AGGAAGTTCCTGCTCCAAGTGGGAGTCCAGAGGAAGCCAAGACCTGGACTGAAAAGACCTGCCTCCTCT GCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAGGGTGAAGAAGTAAActcgagctc
SEQ ID No: 113	5106 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTTCAAGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCTGACACCTCCTTCT ACAACCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCCCTGCCAATG ACTGTCTCTCATTGGAACCTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAATA TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTCCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC

	CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTGTGTTCCAACCTTGTAAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgaetc
SEQ ID No: 114	5107 HPV51L1 F1 CTTGGTACCATGGCTCTGTGGAGGACCAATGACA
SEQ ID No: 115	5108 HPV51L1 R1 GCTTGGCTTTGACTCCCACTTGGAGCAGGAAC
SEQ ID No: 116	5109 HPV51L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGGCTCTGTGGAGGACCAATGACAGCAAGGTCTACCTGCCTCCTGCCCCTGTGAGCAGGATTGTGAACA</u> <u>CAGAGGAATACATCACCAGGACAGGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGATTACCCTGGGACA</u> <u>CCCATACTTTCCAATCCCAAAGACCAGCACCAGGGCTGCCATCCCAAAGGTGTCTGCCTTCCAATACAGG</u> <u>GTGTTACAGGGTCCAACCTCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACCCAAACCTCTACAACCTGACA</u> <u>CAGACAGACTGGTGTGGGGCTGTGTGGGAGTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGACTGT</u> <u>CTGGACACCCACTGTTCAACAAATATGATGACACAGAGAACAGCAGGATTGCCAATGGCAATGCCAAC</u> <u>AGGATGTGAGGGACAACACCTCTGTGGACAACAAGCAGACCCAACTTTGTATCATTGGCTGTGCCCCTCC</u> <u>AATTGGAGAACACTGGGGCATTGGCACCCTTGTAAAGAACACACCTGTGCCTCCTGGAGACTGTCTCCA</u> <u>TTGGAACCTGGTGTCTCTGTGATTCAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTTGC</u> <u>TGCCCTCCAAGCCACCAAGTCTGATGTGCCACTGGACATCAGCCAGTCTGTGTGTAAATACCCTGACTACC</u> <u>TGAAAATGAGTGCTGACACCTATGGCAACAGTATGTTCTTCCACCTGAGGAGGGAACAGATTTTGGCAG</u> <u>AACTACTACAACAACTGGTGGGAGTGGGAGAGGACATCCCAAATGACTACTACATCAAGGGCTCTGG</u> <u>CAATGGCAGGGACCCAATTGAGTCCTACATCTACTCTGCCACACCATCTGGCAGTATGATTACCTCTGACA</u> <u>GCCAGATTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGAACAA</u>

	<u>CCAACTTTTCATCACTTGTGTGGACACCACCAGGAGCACCAACCTGACCATCAGCACAGCCACAGCAGCA</u> <u>GTGAGCCCAACCTTCACACCAAGCAACTTCAAGCAATACATCAGACATGGAGAGGAATATGAACTCCAAT</u> <u>TCATCTTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGACCACAGAGGTGATGGCTTACCTGCACACAATGGACCCAACC</u> <u>ATCTTGGAACAGTGGAACCTTTGGACTGACCCTGCCTCCATCTGCCTCCTTGAGGATGCCTACAGTTTGT</u> <u>GAGGAATGCTGCCACCTCCTGTCAGAAGGACACACCTCCACAGGCTAAGCCTGACCCACTGGCTAAATAC</u> <u>AAGTTCTGGGATGTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCCCTGGACCTGGACCAGTTTGCCTGGGCAGGAAGT</u> <u>TCCTGCTCCAAGTGGGAGTC</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV51L1 的 1-474 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基
SEQ ID No: 117	5110 HPV51L1 F2 AGTGGGAGTCAAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGG
SEQ ID No: 118	5111 HPV51L1 R2 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTCCTCTTGG
SEQ ID No: 119	5112 HPV51L1 扩增序列 2 <u>AGTGGGAGTC</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAAGCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA <u>ATCTAGA</u>^[3] CAG. [1]: 与 HPV51L1 的 1-474 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点.
SEQ ID No: 120	5113 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

附录 11: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 52 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 121	5201 HPV 52 型 L1 蛋白的 1-478 氨基酸序列 MSVWRPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYYAGSSRLTVGHPYFSIK NTSSGNGKKVLVPKVSGLQYRVFRIKLDPNKFPGFDPDTSFYNPETQRLVWACT GLEIGRGQPLGVGISGHPLLNFDDTETS NKYAGKPGIDNRECLSM DYKQTQL CILGCKPPIGEHWGKGT PCNNNSGNPGDCPPLQLINSVIQD GDMVDTGFGCMD FNTLQASKSDVPIDICSSVCKYPDYLQMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFNR AGTLGDPVPGDLYIQGSNSGNTATVQSSAFFPTPSGSMVTSESQLFNKPYWLQ RAQGHNNGICWGNQLFVTVD TTRSTNMTLCAEVKKESTYKNENFKEYLRH GEEFDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHKMDATILEDWQFGLTPPPSASLED TYRF VTSTAITCQKNTPPKGKEDPLKDYMFEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAG L
SEQ ID No: 122	5202 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTR TSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 123	5203 嵌合的 HPV 52 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MSVWRPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYYAGSSRLTVGHPYFSIK NTSSGNGKKVLVPKVSGLQYRVFRIKLDPNKFPGFDPDTSFYNPETQRLVWACT GLEIGRGQPLGVGISGHPLLNFDDTETS NKYAGKPGIDNRECLSM DYKQTQL CILGCKPPIGEHWGKGT PCNNNSGNPGDCPPLQLINSVIQD GDMVDTGFGCMD FNTLQASKSDVPIDICSSVCKYPDYLQMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFNR AGTLGDPVPGDLYIQGSNSGNTATVQSSAFFPTPSGSMVTSESQLFNKPYWLQ RAQGHNNGICWGNQLFVTVD TTRSTNMTLCAEVKKESTYKNENFKEYLRH GEEFDLQFIFQLCKITLTADVMTYIHKMDATILEDWQFGLTPPPSASLED TYRF VTSTAITCQKNTPPKGKEDPLKDYMFEVDLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQAG LKAKPKLKRAAPTSTR TSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 124	5204 嵌合的 HPV 52 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTG TACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGTGAGC ACCGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCGCGCAGCAGCAGGCTGCTGACCGTGGGC

	CACCCCTACTTCAGCATCAAGAACACCAGCAGCGGCAACGGCAAGAAGGTGCTGGTGCCCAAGGTGAGC GGCCTGCAGTACAGGGTGTTCAAGATCAAGCTGCCCACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCT TCTACAACCCCGAGACCCAGAGGCTGGTGTGGGCCTGCACCGGCCTGGAGATCGGCAGGGGCCAGCCCC TGGGCGTGGGCATCAGCGGCCACCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAGCAACAAGTACG CCGGCAAGCCCGGCATCGACAACAGGGAGTGCCTGAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCATCC TGGGCTGCAAGCCCCCATCGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCACCCCTGCAACAACAACAGCGGCAACC CCGGCGACTGCCCCCCTGCAGCTGATCAACAGCGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTT CGGCTGCATGGACTTCAACACCCTGCAGGCCAGCAAGAGCGACGTGCCATCGACATCTGCAGCAGCGTG TGCAAGTACCCGACTACCTGCAGATGGCCAGCGAGCCCTACGGCGACAGCCTGTTCTTCTTCTGAGGA GGGAGCAGATGTTCTGTGAGGCACTTCTTCAACAGGGCCGGCACCCCTGGGCGACCCCGTGGCCGGGACCT GTACATCCAGGGCAGCAACAGCGGCAACACCGCCACCGTGCAGAGCAGCGCCTTCTTCCCCACCCCCAGC GGCAGCATGGTGACCAGCGAGAGCCAGCTGTTCAACAAGCCCTACTGGCTGCAGAGGGGCCAGGGCCAC AACAACGGCATCTGCTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTGACCGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACATG ACCCTGTGCGCCGAGGTGAAGAAGGAGAGCACCTACAAGAACGAGAACTTCAAGGAGTACCTGAGGCAC GGCGAGGAGTTCGACCTGCAGTTCATCTTCCAGCTGTGCAAGATCACCCTGACCGCCGACGTGATGACCT ACATCCACAAGATGGACGCCACCATCCTGGAGGACTGGCAGTTCGGCCTGACCCCCCCCCCAGCGCCAG CCTGGAGGACACCTACAGGTTCTGTGACCAGCACCGCCATCACCTGCCAGAAGAACACCCCCCCAAGGG CAAGGAGGACCCCTGAAGGACTACATGTTCTGGGAGGTGGACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCT GGACCAGTTCCCCCTGGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGGCCGGCCTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGG GGCTGCCCCAACCCAGCACCCAGGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 125	5205 合成的 HPV52L1 基因 ctgggtaccATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGG TGAGCACCGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCGGCAGCAGCAGGCTGCTGACCG TGGGCCACCCCTACTTCAGCATCAAGAACACCAGCAGCGGCAACGGCAAGAAGGTGCTGGTGCCCAAGG TGAGCGGCCTGCAGTACAGGGTGTTCAAGATCAAGCTGCCCACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACAC CAGCTTCTACAACCCCGAGACCCAGAGGCTGGTGTGGGCCTGCACCGGCCTGGAGATCGGCAGGGGCCA GCCCCTGGGCGTGGGCATCAGCGGCCACCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAGCAACAA GTACGCCGGCAAGCCCGCATCGACAACAGGGAGTGCCTGAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTG

	CATCCTGGGCTGCAAGCCCCCATCGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCACCCCTGCAACAACAACAGCGG CAACCCCGGCGACTGCCCCCCTGCAGCTGATCAACAGCGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGACAC CGGCTTCGGCTGCATGGACTTCAACACCCTGCAGGCCAGCAAGAGCGACGTGCCATCGACATCTGCAGC AGCGTGTGCAAGTACCCGACTACCTGCAGATGGCCAGCGAGCCCTACGGCGACAGCCTGTTCTTCTTCC TGAGGAGGGAGCAGATGTTCTGTGAGGCACTTCTTCAACAGGGCCGGCACCCCTGGGCGACCCCGTGCCCG GCGACCTGTACATCCAGGGCAGCAACAGCGGCAACACCGCCACCGTGAGAGCAGCGCCTTCTTCCCCAC CCCCAGCGGCAGCATGGTGACCAGCGAGAGCCAGCTGTTCAACAAGCCCTACTGGCTGCAGAGGGCCCA GGGCCACAACAACGGCATCTGCTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTACCGTGGTGACACCACCAGGAGCAC CAACATGACCCTGTGCGCCGAGGTGAAGAAGGAGAGCACCTACAAGAACGAGAACTTCAAGGAGTACCT GAGGCACGGCGAGGAGTTCGACCTGCAGTTCATCTTCCAGCTGTGCAAGATCACCTGACCGCCGACGTG ATGACCTACATCCACAAGATGGACGCCACCATCCTGGAGGACTGGCAGTTCCGGCTGACCCCCCCCCCA GCGCCAGCCTGGAGGACACCTACAGGTTCTGTGACCAGCACCGCCATCACCTGCCAGAAGAACACCCCCC CAAGGGCAAGGAGGACCCCTGAAGGACTACATGTTCTGGGAGGTGGACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGC CGACCTGGACCAGTTCCCCCTGGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGGCCGGCCTGCAGGCCAGGCCAAGCTG AAGAGGCCCGCCAGCAGCGCCCCAGGACCAGCACCAAGAAGAAGAAGGTGAAGAGGTAAActcgagctc
SEQ ID No: 126	5206 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGATCAATGCTGCCCCCTGCCAATG ACTGTCTCCTCATTGGAAGTATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTAAG TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTCCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCCCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCAAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC

	CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTGTGTTCCAACCTTGTAAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTAAAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgaetc
SEQ ID No: 127	5207 HPV52L1 F1 CTTGGTACCATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGG
SEQ ID No: 128	5208 HPV52L1 R1 GCTTGGCTTTCAGGCCGGCCTGCAGCAGGAACTTC
SEQ ID No: 129	5209 HPV52L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGTGAGC</u> <u>ACCGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCGGCAGCAGCAGGCTGCTGACCGTGGGC</u> <u>CACCCCTACTTCAGCATCAAGAACACCAGCAGCGGCAACGGCAAGAAGGTGCTGGTGCCCAAGGTGAGC</u> <u>GGCCTGCAGTACAGGGTGTTCAGGATCAAGCTGCCCCGACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCT</u> <u>TCTACAACCCCGAGACCCAGAGGCTGGTGTGGGCTGCACCGGCTGGAGATCGGCAGGGGCCAGCCCC</u> <u>TGGGCGTGGGCATCAGCGGCCACCCCTGCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAGCAACAAGTACG</u> <u>CCGGCAAGCCCGCATCGACAACAGGGAGTGCCTGAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCATCC</u> <u>TGGGCTGCAAGCCCCCATCGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCACCCCTGCAACAACAACAGCGGCAACC</u> <u>CCGGCGACTGCCCCCCTGCAGCTGATCAACAGCGTGATCCAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTT</u> <u>CGGCTGCATGGACTTCAACACCCCTGCAGGCCAGCAAGAGCGACGTGCCATCGACATCTGCAGCAGCGTG</u> <u>TGCAAGTACCCCGACTACCTGCAGATGGCCAGCGAGCCCTACGGCGACAGCCTGTTCTTCTTCTGAGGA</u> <u>GGGAGCAGATGTTCTGTAGGCACTTCTTCAACAGGGCCGGCACCCCTGGGCGACCCGTGCCCGGCGACCT</u> <u>GTACATCCAGGGCAGCAACAGCGGCAACACCGCCACCGTGCAGAGCAGCGCTTCTTCCCCACCCACAGC</u> <u>GGCAGCATGGTGACCAGCGAGAGCCAGCTGTTCAACAAGCCCTACTGGCTGCAGAGGGGCCAGGGCCAC</u>

	<u>ACAACGGCATCTGCTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTGACCGTGGTGACACCACAGGAGCACCAACATG</u> <u>ACCCTGTGCGCCGAGGTGAAGAAGGAGAGCACCTACAAGAACGAGAACTTCAAGGAGTACCTGAGGCAC</u> <u>GGCGAGGAGTTCGACCTGCAGTTCATCTTCCAGCTGTGCAAGATCACCTGACCGCCGACGTGATGACCT</u> <u>ACATCCACAAGATGGACGCCACCATCCTGGAGGACTGGCAGTTCGGCCTGACCCCCCCCCCAGCGCCAG</u> <u>CCTGGAGGACACCTACAGGTTCGTGACCAGCACCGCCATCACCTGCCAGAAGAACACCCCCCCCCAAGGG</u> <u>CAAGGAGGACCCCTGAAGGACTACATGTTCTGGGAGGTGGACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCT</u> <u>GGACCAGTTCCTCCCTGGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGGCCGGCCTG</u>^[2] AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV52L1 的 1-478 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 130	5210 HPV52L1 F2 GGCCGGCCTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGG
SEQ ID No: 131	5211 HPV52L1 R2 CTGTCTAGATTTACTTCTTCACCTTCTTCTTCTTGG
SEQ ID No: 132	5212 HPV52L1 扩增序列 2 GGCCGGCCTG^[1] AAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG^[2] TAA ATCTAGA^[3]CAG. [1]: 与 HPV52L1 的 1-478 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点
SEQ ID No: 133	5213 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

附录 12: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 56 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 134	5601 HPV 56 型 L1 蛋白的 1-467 氨基酸序列 MATWRPSENKVYLPPTPVSKVVATDSYVKRTSIFYHAGSSRLLAUGHPPYYSV TKDNTKTNIPKVSAYQYRVFRVRLPDPNKFGLPDTNIYNPDQERLVWACVGLE VGRGQPLGAGLSGHPLFNRLDDTESSNLANNNVIEDSRDNISVDGKQTQLCIV GCTPAMGEHWTKGAVCKSTQVTTGDCPPLALINTPIEDGDMIDTGFGAMDFK VLQESKAEVPLDIVQSTCKYPDYLKMSADAYGDSMWFYLRREQLFARHYFNR AGKVGETIPAELYLKGSNGREPPSSVYVATPSGSMITSEAQLFNKPYWLQRA QGHNNGICWGNQLFVTVVDTTTRSTNMTISTATEQLSKYDARKINQYLRHVEE YELQFVFQLCKITLSAEVMAYLHNMNANLLEDWNIGLSPPVATSLEDKYRYV RSTAITCQREQPPTEKQDPLAKYKFWVDVNLQDSFSTDLDQFPLGRKFL
SEQ ID No: 135	5602 HPV 33 型 L1 蛋白的 469-499 氨基酸序列 LQAGLKAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 136	5603 嵌合的 HPV 56 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MATWRPSENKVYLPPTPVSKVVATDSYVKRTSIFYHAGSSRLLAUGHPPYYSV TKDNTKTNIPKVSAYQYRVFRVRLPDPNKFGLPDTNIYNPDQERLVWACVGLE VGRGQPLGAGLSGHPLFNRLDDTESSNLANNNVIEDSRDNISVDGKQTQLCIV GCTPAMGEHWTKGAVCKSTQVTTGDCPPLALINTPIEDGDMIDTGFGAMDFK VLQESKAEVPLDIVQSTCKYPDYLKMSADAYGDSMWFYLRREQLFARHYFNR AGKVGETIPAELYLKGSNGREPPSSVYVATPSGSMITSEAQLFNKPYWLQRA QGHNNGICWGNQLFVTVVDTTTRSTNMTISTATEQLSKYDARKINQYLRHVEE YELQFVFQLCKITLSAEVMAYLHNMNANLLEDWNIGLSPPVATSLEDKYRYV RSTAITCQREQPPTEKQDPLAKYKFWVDVNLQDSFSTDLDQFPLGRKFL LQAGLKAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 137	5604 嵌合的 HPV 56 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGGCTACCTGGAGACCATCTGAGAACAAAGGTCTACCTGCCTCCAACACCTGTGAGCAAGGTGGTGGCTA CAGACTCCTATGTGAAGAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACA CCCATACTACTCTGTGACCAAGGACAACACCAAGACCAACATCCCAAAGGTGTCTGCCTACCAATACAGG GTGTTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACCAACATCTACAACCCTGACC

	AGGAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGCAGGACTGT CTGGACACCCACTGTTCAACAGACTGGATGACACAGAGTCCAGCAACCTGGCTAACAACAATGTGATTGA GGACAGCAGGGACAACATCTCTGTGGATGGCAAGCAGACCCAACTTTGTATTGTGGGCTGTACTCCTGCT ATGGGAGAACACTGGACCAAGGGAGCAGTGTGTAAGAGCACCCAGGTGACCACAGGAGACTGTCCTCCA CTGGCTCTGATAAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTCA AGGTGCTCCAAGAGAGCAAGGCTGAGGTGCCACTGGACATTGTCCAGAGCACTTGTAATACCTGACTA CCTGAAAATGAGTGCTGATGCCTATGGAGACAGTATGTGGTTCTACCTGAGGAGGGAACAACCTTTTGGC AGACACTACTTCAACAGGGCTGGCAAGGTGGGAGAGACCATCCCTGCTGAACTCTACCTGAAAGGCAGC AATGGCAGGGAACCTCCTCCATCCTCTGTCTATGTGGCTACACCATCTGGCAGTATGATTACCTCTGAGGC TCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAAC CAACTTTTGTGACAGTGGTGGACACCAGGAGCACCAATATGACCATCAGCACAGCCACAGAACAAC TTAGCAAATATGATGCCAGGAAGATAAACCAATACCTGAGGCATGTGGAGGAATATGAACTCCAATTTGT GTTCCAACCTTTGTAAGATTACCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACCTGCACAATATGAATGCCAACCTGT TGGAGGACTGGAACATTGGACTGAGCCCTCCTGTGGCTACCTCCTTGAGGACAAAATACAGATATGTGAG GAGCACAGCCATCACTTGTCAGAGGGAACAACCTCCAACAGAGAAGCAGGACCCACTGGCTAAATACAA GTTCTGGGATGTGAACCTCCAAGACTCCTTCAGCACAGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTC CTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAACCTGAAAAGGGCTGCCCCAACCAAGCAGCAGGACCTCC TCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 138	5605 合成的 HPV56L1 基因 ctgggtaccATGGCTACCTGGAGACCATCTGAGAACAAGGTCTACCTGCCTCCAACACCTGTGAGCAAGGTGG TGGCTACAGACTCCTATGTGAAGAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTACTCTGTGACCAAGGACAACACCAAGACCAACATCCCAAAGGTGTCTGCCTACCAA TACAGGGTGTTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACACCAACATCTACAACC CTGACCAGGAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGCAG GACTGTCTGGACACCCACTGTTCAACAGACTGGATGACACAGAGTCCAGCAACCTGGCTAACAACAATGT GATTGAGGACAGCAGGGACAACATCTCTGTGGATGGCAAGCAGACCCAACTTTGTATTGTGGGCTGTACT CCTGCTATGGGAGAACACTGGACCAAGGGAGCAGTGTGTAAGAGCACCCAGGTGACCACAGGAGACTGT CCTCCACTGGCTCTGATAAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTTGGAGCTATGG

	ACTTCAAGGTGCTCCAAGAGAGCAAGGCTGAGGTGCCACTGGACATTGTCCAGAGCACTTGTAATACCC TGACTACCTGAAAATGAGTGCTGATGCCTATGGAGACAGTATGTGGTTCTACCTGAGGAGGGAACAACCTT TTTGCCAGACACTACTTCAACAGGGCTGGCAAGGTGGGAGAGACCATCCCTGCTGAACTCTACCTGAAAG GCAGCAATGGCAGGGAACCTCCTCCATCCTCTGTCTATGTGGCTACACCATCTGGCAGTATGATTACCTCT GAGGCTCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGG GCAACCAACTTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCATCAGCACAGCCACAGA ACAACTTAGCAAATATGATGCCAGGAAGATAAACCAATACCTGAGGCATGTGGAGGAATATGAACTCCA ATTTGTGTTCCAACTTTGTAAGATTACCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACCTGCACAATATGAATGCCA ACCTGTGAGGACTGGAACATTGGACTGAGCCCTCCTGTGGCTACCTCCTTGGAGGACAAATACAGATA TGTGAGGAGCACAGCCATCACTTGTGAGGGAACAACCTCCAACAGAGAAGCAGGACCCACTGGCTAA ATACAAGTTCTGGGATGTGAACCTCCAAGACTCCTTCAGCACAGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGG AAGTTCCTGATGCAACTTGGCACCAGGAGCAAGCCTGCTGTGGCTACCAGCAAGAAGAGGTCTGCCCCAA CCAGCACCAGCACACCTGCCAAGAGGAAGAGGAGGTAAActgagctc
SEQ ID No: 139	5606 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACCTTTGTCTGCTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCCTGCCAATG ACTGTCCTCCATTGGAAGTATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTA TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTCCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT TGGGGCAACCAGGTGTTGTGACAGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG

	TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTTGTGTTCCAACCTTGTGAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGTCAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActgagetc
SEQ ID No: 140	5607 HPV56L1 F1 CTTGGTACCATGGCTACCTGGAGACCATCTGAG
SEQ ID No: 141	5608 HPV56L1 R1 CTGCTTGGAGCAGGAACTTCCTGCCCAGTGG
SEQ ID No: 142	5609 HPV56L1 扩增序列 1 <u>CTTGGTACC^[1]</u> <u>ATGGCTACCTGGAGACCATCTGAGAACAAAGGTCTACCTGCCTCCAACACCTGTGAGCAAGGTGGTGGCTA</u> <u>CAGACTCCTATGTGAAGAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGTGGGACA</u> <u>CCCATACTACTCTGTGACCAAGGACAACACCAAGACCAACATCCCAAAGGTGTCTGCCTACCAATACAGG</u> <u>GTGTTCAAGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACACCAACATCTACAACCCTGACC</u> <u>AGGAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGGTGGGCAGGGGACAACCACTGGGAGCAGGACTGT</u> <u>CTGGACACCCACTGTTCAACAGACTGGATGACACAGAGTCCAGCAACCTGGCTAACAAACAATGTGATTGA</u> <u>GGACAGCAGGGACAACATCTCTGTGGATGGCAAGCAGACCCAACCTTGTATTGTGGGCTGTACTCCTGCT</u> <u>ATGGGAGAACTGGACCAAGGGAGCAGTGTGTAAGAGCACCCAGGTGACCACAGGAGACTGTCTCTCA</u> <u>CTGGCTCTGATAAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGATTGACACAGGCTTTGGAGCTATGGACTTCA</u> <u>AGGTGCTCCAAGAGAGCAAGGCTGAGGTGCCACTGGACATTGTCCAGAGCACTGTAAATACCCTGACTA</u> <u>CCTGAAAATGAGTGCTGATGCCTATGGAGACAGTATGTGGTTCTACCTGAGGAGGGAACAACCTTTTGCC</u> <u>AGACACTACTTCAACAGGGCTGGCAAGGTGGGAGAGACCATCCCTGCTGAACTCTACCTGAAAGGCAGC</u> <u>AATGGCAGGGAACCTCCTCCATCCTCTGTCTATGTGGCTACACCATCTGGCAGTATGATTACCTCTGAGGC</u> <u>TCAACTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGTTGGGGCAAC</u> <u>CAACTTTTGTGACAGTGGTGGACACCACAGGAGCACCAATATGACCATCAGCACAGCCACAGAACAAAC</u>

	<u>TTAGCAAATATGATGCCAGGAAGATAAACCAATACCTGAGGCATGTGGAGGAATATGAACTCCAATTTGT</u> <u>GTTCCAACCTTTGTAAGATTACCCTGTCTGCTGAGGTGATGGCTTACCTGCACAATATGAATGCCAACCTGT</u> <u>TGGAGGACTGGAACATTGGACTGAGCCCTCCTGTGGCTACCTCCTTGAGGACAAATACAGATATGTGAG</u> <u>GAGCACAGCCATCACTTGTCTAGAGGGAACAACCTCCAACAGAGAAGCAGGACCCACTGGCTAAATACAA</u> <u>GTTCTGGGATGTGAACCTCCAAGACTCCTTCAGCACAGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCAGGAAGTTC</u> <u>CTG</u>^[2] CTCCAAGCAG^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV56L1 的 1-467 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 469-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基.
SEQ ID No: 143	5610 HPV56L1 F2 GAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCC
SEQ ID No: 144	5611 HPV56L1 R2 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No: 145	5612 HPV56L1 扩增序列 2 <u>GAAGTTCCTG</u>^[1] <u>CTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAACTGAAAAGGGCTGCCCAACCAGCACCAGGACCTCCTCT</u> <u>GCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA ATCTAGA^[3]CAG. [1]: 与 HPV56L1 的 1-467 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 31 个 (469-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点.
SEQ ID No: 146	5613 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

附录 13: 序列表-嵌合的人乳头瘤病毒 58 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 147	5801 HPV 58 型 L1 蛋白的 1-473 氨基酸序列 MSVWRPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYYAGSSRLAVGNPYFSIKS PNNNKVLVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKFGFPDTSFYNPDTQRLVWACVGL EIGRGQPLGVGVSGHPYLNKFDDTETSNRYPAQPGSDNRECLSM DYKQTQLC LIGCKPPTGEHWGKG VACNNNAAATDCPPELFNSIIEDGDMVDTGFGCMDF GTLQANKSDVPIDICNSTCKYPDYLKMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFNR AGKLGEAVPDDLYIKGSGNTAVIQSSAFFPTPSGSIVTSESQLFNKPYWLQRAQ GHNNGICWGNQLFVTVVDTTTRSTNMTLCTEVTKEGTYKNDNFKEYVRHVEE YDLQFVFQLCKITLTAEIMTYIHTMDSNILEDWQFGLTPPPSASLQD TYRFVTS QAITCQKTAPPKEKEDPLNKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQSGL
SEQ ID No: 148	5802 HPV 33 型 L1 蛋白的 474-499 氨基酸序列 KAKPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 149	5803 嵌合的 HPV 58 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MSVWRPSEATVYLPPVPVSKVVSTDEYVSRTSIYYYAGSSRLAVGNPYFSIKS PNNNKVLVPKVSGLQYRVFRVRLPDPNKFGFPDTSFYNPDTQRLVWACVGL EIGRGQPLGVGVSGHPYLNKFDDTETSNRYPAQPGSDNRECLSM DYKQTQLC LIGCKPPTGEHWGKG VACNNNAAATDCPPELFNSIIEDGDMVDTGFGCMDF GTLQANKSDVPIDICNSTCKYPDYLKMASEPYGDSLFFFLRREQMFVRHFFNR AGKLGEAVPDDLYIKGSGNTAVIQSSAFFPTPSGSIVTSESQLFNKPYWLQRAQ GHNNGICWGNQLFVTVVDTTTRSTNMTLCTEVTKEGTYKNDNFKEYVRHVEE YDLQFVFQLCKITLTAEIMTYIHTMDSNILEDWQFGLTPPPSASLQD TYRFVTS QAITCQKTAPPKEKEDPLNKYTFWEVNLKEKFSADLDQFPLGRKFLLQSGLKA KPKLKRAAPTSTRTSSAKRKKVKK
SEQ ID No: 150	5804 嵌合的 HPV 58 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGTGAGC ACCGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCGCGCAGCAGCAGGCTGCTGGCCGTGGGC AACCCTACTTCAGCATCAAGAGCCCCAACAAACAAGAAGGTGCTGGTGCCCAAGGTGAGCGGCCTG

	CAGTACAGGGTGTTTCAGGGTGAGGCTGCCCCACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCTTCTACA ACCCCGACACCCAGAGGCTGGTGTGGGCCTGCGTGGGCCTGGAGATCGGCAGGGGCCAGCCCCTGGGCG TGGGCGTGAGCGGCCACCCCTACCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAGCAACAGGTACCCCGCCC AGCCCGGCAGCGACAACAGGGAGTGCCTGAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCCTGATCGGCT GCAAGCCCCCACC GGCGAGCACTGGGGCAAGGGCGTGGCCTGCAACAACAACGCCGCCGCCACCGACT GCCCCCCCCTGGAGCTGTTCAACAGCATCATCGAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTTCGGCTGCAT GGACTTCGGCACCCCTGCAGGCCAACAAGAGCGACGTGCCATCGACATCTGCAACAGCACCTGCAAGTA CCCCGACTACCTGAAGATGGCCAGCGAGCCCTACGGCGACAGCCTGTTCTTCTCTCTGAGGAGGGAGCAG ATGTTCTGTGAGGCATTCTTCAACAGGGCCGGCAAGCTGGGCGAGGCCGTGCCGACGACCTGTACATCA AGGGCAGCGGCAACACCGCCGTGATCCAGAGCAGCGCCTTCTTCCCCACCCCCAGCGGCAGCATCGTGAC CAGCGAGAGCCAGCTGTTCACAAGCCCTACTGGCTGCAGAGGGCCAGGGCCACAACAACGGCATCTG CTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTACCGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACATGACCCTGTGCACCGA GGTGACCAAGGAGGGCACCTACAAGAACGACAACCTCAAGGAGTACGTGAGGCACGTGGAGGAGTACGA CCTGCAGTTCGTGTTCCAGCTGTGCAAGATCACCCCTGACCGCCGAGATCATGACCTACATCCACACCATG GACAGCAACATCCTGGAGGACTGGCAGTTCGGCCTGACCCCCCCCCCAGCGCCAGCCTGCAGGACACCT ACAGGTTCTGTGACCAGCCAGGCCATCACCTGCCAGAAGACCGCCCCCCCCAAGGAGAAGGAGGACCCCC TGAACAAGTACACCTTCTGGGAGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCTGGACCAGTTCCCCCT GGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGAGCGGCCTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCAACCAG CACCAGGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA
SEQ ID No: 151	5805 合成的 HPV58L1 基因 ctgggtaccATGAGCGTGTGAGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGG TGAGCACCGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCGGCAGCAGCAGGCTGCTGGCCG TGGGCAACCCCTACTTCAGCATCAAGAGCCCCAACAACAACAAGAAGGTGCTGGTGCCCAAGGTGAGCG GCCTGCAGTACAGGGTGTTTCAGGGTGAGGCTGCCCCACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCTT CTACAACCCCGACACCCAGAGGCTGGTGTGGGCCTGCGTGGGCCTGGAGATCGGCAGGGGCCAGCCCCT GGGCGTGGGCGTGAGCGGCCACCCCTACCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAGCAACAGGTACCC CGCCCAGCCCGGCAGCGACAACAGGGAGTGCCTGAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCCTGAT CGGCTGCAAGCCCCCACC GGCGAGCACTGGGGCAAGGGCGTGGCCTGCAACAACAACGCCGCCGCCAC CGACTGCCCCCCCCTGGAGCTGTTCAACAGCATCATCGAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTTCGGC

	TGCATGGACTTCGGCACCTGCAAGGCAACAAGAGCGACGTGCCATCGACATCTGCAACAGCACCTGCA AGTACCCCGACTACCTGAAGATGGCCAGCGAGCCCTACGGCGACAGCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGA GCAGATGTTCTGTGAGGCACTTCTTCAACAGGGCCGGCAAGCTGGGCGAGGCCGTGCCCGACGACCTGTAC ATCAAGGGCAGCGGCAACACCGCCGTGATCCAGAGCAGCGCCTTCTTCCCCACCCCAGCGGCAGCATCG TGACCAGCGAGAGCCAGCTGTTCAACAAGCCCTACTGGCTGCAGAGGGCCAGGGCCACAACAACGGCA TCTGCTGGGGCAACCAGCTGTTCTGTGACCGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACATGACCCTGTGCAC CGAGGTGACCAAGGAGGGCACCTACAAGAACGACAACCTTCAAGGAGTACGTGAGGCACGTGGAGGAGTA CGACCTGCAGTTCGTGTTCCAGCTGTGCAAGATCACCTGACCGCCGAGATCATGACCTACATCCACACC ATGGACAGCAACATCCTGGAGGACTGGCAGTTCGGCCTGACCCCCCCCCCAGCGCCAGCCTGCAGGAC ACCTACAGGTTCGTGACCAGCCAGGCCATCACCTGCCAGAAGACCGCCCCCCCCAAGGAGAAGGAGGAC CCCCTGAACAAGTACACCTTCTGGGAGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTTACGCGCCGACCTGGACCACTTCC CCCTGGGCAGGAAGTTCTGTGTCAGAGCGGCCTGAAGGCCAAGCCAGGCTGAAGAGGAGCGCCCCCA CCACCAGGGCCCCCAGCACCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAA ctcgagctc
SEQ ID No: 152	5806 合成的 HPV33L1 基因 ctgggtaccATGAGTGTGTGGAGACCATCTGAGGCTACAGTCTACCTGCCTCCTGTGCCTGTGAGCAAGGTGG TGAGCACAGATGAATATGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGGCTGT GGGACACCCATACTTCAGCATCAAGAACCAACCAATGCCAAGAACTGCTGGTGCCAAAGGTGTCTGG ACTCCAATACAGGGTGTTCAGGGTGAGACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGCTTTCCTGACACCTCCTTCT ACAACCCTGACACCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGATTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGG GAGTGGGCATCTCTGGACACCCACTGCTGAACAAGTTTGATGACACAGAGACAGGCAACAAATACCCTG GACAACCTGGAGCAGACAACAGGGAGTGTCTGAGTATGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTCTGTGG GCTGTAAGCCTCCAACAGGAGAACACTGGGGCAAGGGAGTGGCTTGTACCAATGCTGCCCTGCCAATG ACTGTCTCCATTGGAACCTGATAAACACCATCATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTTTGGCTG TATGGACTTCAAGACCCTCCAAGCCAACAAGTCTGATGTGCCAATTGACATCTGTGGCAGCACTTGTA TACCCTGACTACCTGAAAATGACCTCTGAACCATATGGAGACTCCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAACA GATGTTTGTGAGACACTTCTTCAACAGGGCTGGCACCTGGGAGAGGCTGTGCCTGATGACCTCTACATC AAGGGCTCTGGCACCACAGCCAGCATCCAGTCCTCTGCCTTCTTCCAACACCATCTGGCAGTATGGTGAC CTCTGAGAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTCCAAAGGGCTCAAGGACACAACAATGGCATCTGT

	TGGGGCAACCAGGTGTTTGTGACAGTGTTGGACACCACCAGGAGCACCAATATGACCCTGTGTACCCAGG TGACCTCTGACAGCACCTACAAGAATGAGAACTTCAAGGAATACATCAGGCATGTGGAGGAATATGACCT CCAATTGTGTTCCTCACTTTGTAAGGTGACCCTGACAGCAGAGGTGATGACCTACATCCATGCTATGAACC CTGACATCTTGGAGGACTGGCAGTTTGGACTGACACCTCCTCCATCTGCCTCCCTCCAAGACACCTACAGG TTTGTGACCAGCCAGGCTATCACTTGTGAGAAGACAGTGCCTCCAAAGGAGAAGGAGGACCCACTGGGC AAATACACCTTCTGGGAGGTGGACCTGAAAGAGAAGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGCA GGAAGTTCCTGCTCCAAGCAGGACTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGGTGCCCCAACCAGCACCA GGACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAGTAAActcgagetc
SEQ ID No: 153	5807 HPV58L1 F1 CTTGGTACCATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGG
SEQ ID No: 154	5808 HPV58L1 R1 GCTTGGCTTTTCAAGGCCGCTCTGCAGCAGGAACTTCC
SEQ ID No: 155	5809 HPV58L1 扩增序列 1 CTTGGTACC^[1] <u>ATGAGCGTGTGGAGGCCAGCGAGGCCACCGTGTACCTGCCCCCGTGCCCGTGAGCAAGGTGGTGAGC</u> <u>ACCGACGAGTACGTGAGCAGGACCAGCATCTACTACTACGCCGGCAGCAGCAGGCTGCTGGCCGTGGGC</u> <u>AACCCCTACTTCAGCATCAAGAGCCCCAACAACAACAAGAAGGTGCTGGTGCCCAAGGTGAGCGGCCTG</u> <u>CAGTACAGGGTGTTCAGGGTGAGGCTGCCCCACCCCAACAAGTTCGGCTTCCCCGACACCAGCTTCTACA</u> <u>ACCCGACACCCAGAGGCTGGTGTGGGCTGCGTGGGCTGGAGATCGGCAGGGGCCAGCCCTGGGCG</u> <u>TGGGCGTGAGCGGCCACCCCTACCTGAACAAGTTCGACGACACCGAGACCAGCAACAGGTACCCGCCC</u> <u>AGCCCGGCAGCGACAACAGGGAGTGCCTGAGCATGGACTACAAGCAGACCCAGCTGTGCCTGATCGGCT</u> <u>GCAAGCCCCCACCAGGCGAGCACTGGGGCAAGGGCGTGGCCTGCAACAACAACGCCGCCGCCACCGACT</u> <u>GCCCCCCTGGAGCTGTTCAACAGCATCATCGAGGACGGCGACATGGTGGACACCGGCTTCGGCTGCAT</u> <u>GGACTTCGGCACCCCTGCAGGCCAACAAGAGCGACGTGCCATCGACATCTGCAACAGCACCTGCAAGTA</u> <u>CCCCGACTACCTGAAGATGGCCAGCGAGCCCTACGGCGACAGCCTGTTCTTCTTCTGAGGAGGGAGCAG</u> <u>ATGTTCGTGAGGCACTTCTTCAACAGGGCCGGCAAGCTGGGCGAGGCCGTGCCCCGACGACCTGTACATCA</u> <u>AGGGCAGCGGCAACACCGCCGTGATCCAGAGCAGCGCCTTCTTCCCCACCCCAAGCGGCAGCATCGTGAC</u> <u>CAGCGAGAGCCAGCTGTCAACAAGCCCTACTGGCTGCAGAGGGCCAGGGCCACAACAACGGCATCTG</u> <u>CTGGGGCAACCAGCTGTTCGTGACCGTGGTGGACACCACCAGGAGCACCAACATGACCCTGTGCACCGA</u>

	<u>GGTGACCAAGGAGGGCACCTACAAGAACGACAACCTCAAGGAGTACGTGAGGCACGTGGAGGAGTACGA</u> <u>CCTGCAGTTCGTGTTCAGCTGTGCAAGATCACCTGACCGCCGAGATCATGACCTACATCCACACCATG</u> <u>GACAGCAACATCCTGGAGGACTGGCAGTTCGGCCTGACCCCCCCCCCAGCGCCAGCCTGCAGGACACCT</u> <u>ACAGGTTCTGTGACCAGCCAGGCCATCACCTGCCAGAAGACCGCCCCCCCCAAGGAGAAGGAGGACCCCC</u> <u>TGAACAAGTACACCTTCTGGGAGGTGAACCTGAAGGAGAAGTTCAGCGCCGACCTGGACCAGTTCCTCCCT</u> <u>GGGCAGGAAGTTCCTGCTGCAGAGCGGCCTG</u>^[2]AAAGCCAAGC^[3] [1]: KpnI酶切位点; [2]: 编码 HPV58L1 的 1-473 氨基酸的基因片段; [3]: 与 HPV33L1 的 474-499 氨基酸的基因片段重叠的 10 个碱基。
SEQ ID No: 156	5810 HPV58L1 F2 GAGCGGCCTGAAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGG
SEQ ID No: 157	5811 HPV58L1 R2 CTGTCTAGATTACTTCTTCACCTTCTTCCTCTTGG
SEQ ID No: 158	5812 HPV58L1 扩增序列 2 <u>GAGCGGCCTG</u>^[1] <u>AAAGCCAAGCCAAAAGTGAAGGGCTGCCCCAACCAGCACCAGG</u> <u>ACCTCCTCTGCCAAGAGGAAGAAGGTGAAGAAG</u>^[2] TAA ATCTAGA^[3]CAG. [1]: 与 HPV58L1 的 1-473 氨基酸 C 端基因片段重叠的 10bp 碱基; [2]: HPV33L1 C 端的 26 个 (474-499) 氨基酸的基因片段; [3]: XbaI 酶切位点
SEQ ID No: 159	5813 HPV 59 型 L1 蛋白的 471-508 氨基酸序列 LQLGARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK

附录 14: 序列表-人乳头瘤病毒 59 型 L1 蛋白

SEQ ID No: 160	5901 HPV 59 型 L1 蛋白的氨基酸序列 MALWRSSDNKVYLPSPSVAKVVSTDEYVTRTSIFYHAGSSRLTLVGHYPYFKVP KGGNGRQDVPKVSAYQYRVFRVKLPDPNKFGLPDNTVYDPNSQRLVWACVG VEIGRGQPLGVGLSGHPLYNKLDDTENS HVASAVDTKDTRDNVSVDYKQTQL CIIGCVPAIGEHWTGKTACKPTTVVQGDCPPELINTPIEDGDMVDTGYGAMD FKLLQDNKSEVPLDICQSICKYPDY LQMSADAYGDSMFFCLRREQVFARHFWN RSGTMGDQLPESLYIKGTDIRANPGSYLYSPSPSGSVVTSDSQLFNKPYWLHK AQGLNNGICWHNQLFLT VVDTRSTNLSVCASTTSSIPNVYTPTSFKEYARHV EEFDLQFIFQLCKITLTTEVMSYIHNMTTILEDWNFGVT PPTASLVD TYRFV QSAAVTCQKDTAPPVKQDPYDKLKFWPVDLKERFSADLDQFPLGRKFLLQLG ARPKPTIGPRKRAAPAPTSTPSPKRVKRRKSSRK
SEQ ID No: 161	5902 HPV 59 型 L1 蛋白的核苷酸序列 ATGGCTCTGTGGAGGTCCTCTGACAACAAGGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCTAAGGTGGTGAGCA CAGATGAATATGTGACCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTGGGACA CCCATACTTCAAGGTGCCAAAGGGAGGCAATGGCAGACAGGATGTGCCAAAGGTGTCTGCCTACCAATA CAGGGTGTTCAGGGTGAACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGACTGCCTGACAACACAGTCTATGACCCA AACAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGAGTGGGA CTGTCTGGACACCCACTCTACAACAACTGGATGACACAGAGAACTCTCATGTGGCATCTGCTGTGGACA CCAAGGACACCAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACCTTGTATCATTGGCTGTGTGCC TGCCATTGGAGAACACTGGACCAAGGGCACAGCCTGTAAGCCAACCACAGTGGTCCAGGGAGACTGTCC TCCATTGGAAGTGATAAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTATGGA CTTCAAAGTCTCCAAGACAACAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCAGAGCATCTGTAAATACCTT GACTACCTCCAAATGAGTGCTGATGCCTATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAGGTGT TTGCCAGACACTTCTGGAACAGGTCTGGCACAATGGGAGACCAACTTCTGAGTCCCTCTACATCAAGGG CACAGACATCAGGGCTAACCCTGGCTCCTACCTCTACAGCCCAAGCCATCTGGCTCTGTGGTGACCTCTG ACAGCCAACCTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACTGAACAATGGCATCTGTGGCA CAACCAACTTTTCTGACAGTGGTGGACACCAGGAGCACCAACCTGTCTGTGTGTGCCAGCACCACC

	TCCAGCATCCCAAATGTCTACACACCAACCTCCTTCAAGGAATATGCCAGGCATGTGGAGGAGTTTGACC TCCAATTCATCTTCCAACCTTGTAAAGATTACCCTGACCACAGAGGTGATGAGTTACATCCACAATATGAAC ACCACCATCTTGGAGGACTGGAACCTTGGAGTGACACCTCCTCCAACAGCCTCCCTGGTGGACACCTACA GGTTTGTCCAGTCTGCTGCTGTGACTTGTGAGAAGGACACAGCCCCCTCCTGTGAAGCAGGACCCATATGA CAAACCTGAAGTTCTGGCCTGTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTTCCACTGGGC AGGAAGTTCTGCTCCAACCTTGGAGCCAGACCAAAGCCAACCATTGGACCAAGGAAGAGGGCTGCCCCCT GCCCCAACCCAGCACACCAAGCCCCAAAGAGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAAGTAAA
SEQ ID No: 162	5903 合成的 HPV59L1 基因 ctgggtaccATGGCTCTGTGGAGGTCTCTGACAACAAGGTCTACCTGCCTCCTCCATCTGTGGCTAAGGTGGT GAGCACAGATGAATATGTGACCAGGACCAGCATCTTCTACCATGCTGGCTCCAGCAGACTGCTGACAGTG GGACACCCATACTTCAAGGTGCCAAAGGGAGGCAATGGCAGACAGGATGTGCCAAAGGTGTCTGCCTAC CAATACAGGGTGTTCAGGGTGAACTGCCTGACCCAAACAAGTTTGGACTGCCTGACAACACAGTCTATG ACCCAAACAGCCAGAGACTGGTGTGGGCTTGTGTGGGAGTGGAGATTGGCAGGGGACAACCACTGGGAG TGGGACTGTCTGGACACCCACTCTACAACAACTGGATGACACAGAGAACTCTCATGTGGCATCTGCTGT GGACACCAAGGACACCAGGGACAATGTGTCTGTGGACTACAAGCAGACCCAACTTTGTATCATTGGCTGT GTGCCTGCCATTGGAGAACACTGGACCAAGGGCACAGCCTGTAAGCCAACCACAGTGGTCCAGGGAGAC TGTCCTCCATTGGAAC TGATAAACACACCAATTGAGGATGGAGATATGGTGGACACAGGCTATGGAGCTA TGGACTTCAAACCTGCTCCAAGACAACAAGTCTGAGGTGCCACTGGACATCTGTCTAGAGCATCTGTAAATA CCCTGACTACCTCCAAATGAGTGCTGATGCCTATGGAGACAGTATGTTCTTCTGTCTGAGGAGGGAACAG GTGTTTGCCAGACACTTCTGGAACAGGTCTGGCACAATGGGAGACCAACTTCTGAGTCCCTCTACATCA AGGGCACAGACATCAGGGCTAACCCTGGCTCCTACCTCTACAGCCCAAGCCCATCTGGCTCTGTGGTGAC CTCTGACAGCCAACCTTTTCAACAAGCCATACTGGCTGCACAAGGCTCAAGGACTGAACAATGGCATCTGT TGGCACAACCAACTTTTCTGACAGTGGTGGACACCAGGAGCACCACCTGTCTGTGTGTGCCAGCA CCACCTCCAGCATCCCAAATGTCTACACACCAACCTCCTTCAAGGAATATGCCAGGCATGTGGAGGAGTT TGACCTCCAATTCATCTTCCAACCTTGTAAAGATTACCCTGACCACAGAGGTGATGAGTTACATCCACAATA TGAACACCACCATCTTGGAGGACTGGAACCTTGGAGTGACACCTCCTCCAACAGCCTCCCTGGTGGACAC CTACAGGTTTGTCCAGTCTGCTGCTGTGACTTGTGAGAAGGACACAGCCCCCTCCTGTGAAGCAGGACCCA TATGACAACTGAAGTTCTGGCCTGTGGACCTGAAAGAGAGGTTCTCTGCTGACCTGGACCAGTTCCAC

	TGGGCAGGAAGTTCCTGCTCCAACCTGGAGCCAGACCAAAGCCAACCATTGGACCAAGGAAGAGGGCTG CCCCTGCCCCAACCAGCACACCAAGCCCAAAGAGGGTGAAGAGGAGGAAGTCCAGCAGGAAGTAAActeg agetc
--	---

权利要求书

1. 一种预防 HPV 相关疾病或感染的多价 HPV 免疫原性组合物，其包含：

5 由 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、33 型、45 型、52 型和 58 型的 L1 蛋白组装而成的 HPV 病毒样颗粒；和

一种或多种由其他致病的 HPV 型别的 L1 蛋白组装而成的 HPV 病毒样颗粒。

2. 根据权利要求 1 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中所述
10 一种或多种其他致病的 HPV 型别选自 HPV 35 型、39 型、51 型、56 型和 59 型。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中至少一种所述 HPV 病毒样颗粒为嵌合的 HPV 病毒样颗粒，所述嵌合的 HPV 病毒样颗粒包含一种或多种嵌合 HPV L1 蛋白；所述嵌合
15 HPV L1 蛋白自其 N 末端至 C 末端方向包含：

a. 衍生于第一型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的 N 端片段，所述 N 端片段保持该型别 L1 蛋白的免疫原性，其中第一型别的乳头瘤病毒选自权利要求 1 所述的 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、33 型、45 型、52 型和 58 型和一种或多种其他致病的 HPV 型别；和

20 b. 衍生于第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的 C 端片段，所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白具有相较于其他型别的 L1 蛋白表达量和可溶性较好的特性；

其中嵌合 HPV L1 蛋白具有第一型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的免疫原性。

25 4. 根据权利要求 3 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中所述 N 端片段为将所述第一型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的天然序列的 C 端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段，以及与其具有至少 98% 的同一性的片段；并且

所述 C 端片段为将第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白的天然序列的

N末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段, 以及该片段进一步突变、缺失和/或添加而产生的功能性变体。

5. 根据权利要求 4 所述的多价 HPV 免疫原性组合物, 其中所述 C 端片段含有一个或多个核定位序列。

5 6. 根据权利要求 3 所述的多价 HPV 免疫原性组合物,

其中所述第一型别乳头瘤 L1 蛋白选自 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型或 58 型;

其中所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白选自 HPV 1 型、2 型、3 型、4 型、6 型、7 型、10 型、11 型、13 型、16 型、18 型、22 型、
10 26 型、28 型、31 型、32 型、33 型、35 型、39 型、42 型、44 型、45 型、51 型、52 型、53 型、56 型、58 型、59 型、60 型、63 型、66 型、68 型、73 型或 82 型 L1 蛋白;

优选地, 所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白选自 HPV 16 型、28 型、33 型、59 型、或 68 型 L1 蛋白;

15 更优选地, 所述第二型别乳头瘤病毒 L1 蛋白选自 HPV 33 型或 HPV 59 型 L1 蛋白。

7. 根据权利要求 6 所述的多价 HPV 免疫原性组合物, 其中所述 C 端片段为 SEQ ID No: 2; 或其长度为 m_1 个氨基酸的片段, 优选涵盖 SEQ ID No: 2 的第 1- m_1 位氨基酸的片段; 其中 m_1 为 8-26 的整数;
20 或所述 C 端片段为 SEQ ID No: 135; 或其长度为 m_2 个氨基酸的片段, 优选涵盖 SEQ ID No: 135 的第 1- m_2 位氨基酸的片段; 其中 m_2 为 13-31 的整数。

8. 根据权利要求 6 所述的多价 HPV 免疫原性组合物, 其中所述 C 端片段为 SEQ ID No: 13; 或其长度为 n 个氨基酸的片段, 优选涵盖 SEQ ID No: 13 的第 1- n 位氨基酸的片段; 其中 n 为 16-38 的整数。
25

9. 根据权利要求 3 所述的多价 HPV 免疫原性组合物, 其中

所述 HPV 6 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 1 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

所述 HPV 11 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 14 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

5 所述 HPV 16 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 27 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

所述 HPV 18 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 40 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

10 所述 HPV 31 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 53 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

所述 HPV 35 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 69 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 15 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

所述 HPV 39 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 82 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

20 所述 HPV 45 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 95 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

所述 HPV 51 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 108 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

25 所述 HPV 52 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 121 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或 100%的同一性;

所述 HPV 56 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 134 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有

98%、98.5%、99%、99.5%、99%或100%的同一性；和

所述 HPV 58 型 L1 蛋白的 N 端片段与将 SEQ ID No: 147 所示序列的 C 末端截短于其 $\alpha 5$ 区内的任一氨基酸位点而得到的片段具有 98%、98.5%、99%、99.5%、99%或100%的同一性。

5 10. 根据权利要求 3 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，所述 N 端片段的 C 末端与所述 C 端片段的 N 末端直接连接或通过接头连接。

11. 根据权利要求 3 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中当所述 N 端片段的 C 末端与所述 C 端片段的 N 末端连接时，在连接点的正负 4 个氨基酸位点的范围内存在以下连续氨基酸序列：RKFL；

10 优选地，在连接点的正负 6 个氨基酸位点的范围内存在以下连续氨基酸序列：LGRKFL。

12. 根据权利要求 3 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中

所述嵌合的 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、31 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型和 58 型嵌合 HPV L1 蛋白分别与 SEQ
15 ID No: 3、SEQ ID No: 16、SEQ ID No: 29、SEQ ID No: 42、SEQ ID No: 55、SEQ ID No: 71、SEQ ID No: 84、SEQ ID No: 97、SEQ ID No: 110、SEQ ID No: 123、SEQ ID No: 136 和 SEQ ID No: 149 具有 98%、98.5%、99%、99.5%或100%的同一性；以及

HPV 33 型 L1 蛋白和 HPV 59 型 L1 蛋白分别与 SEQ ID No: 66
20 和 SEQ ID No: 160 具有 98%、98.5%、99%、99.5%或100%的同一性。

13. 根据权利要求 3 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中至少一种所述 HPV 病毒样颗粒由单一型别的嵌合 HPV L1 蛋白组成，
优选地，由具有相同的氨基酸序列的所述单一型别的嵌合 HPV L1 蛋白组成。

25 14. 根据权利要求 1-13 中任一项所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中所述多价 HPV 免疫原性组合物还包含生理学上可接受的载体以及任选地，还包含佐剂。

15. 根据权利要求 14 所述的多价 HPV 免疫原性组合物，其中所述佐剂为磷酸铝佐剂。

16. 一种预防 HPV 相关疾病或感染的方法，其包括：

向受试者施用权利要求 1-15 中任一项所述的多价 HPV 免疫原性组合物。

17. 权利要求 1-15 中任一项所述的多价 HPV 免疫原性组合物在
5 用于制备用于预防 HPV 相关疾病或感染的疫苗或药物中的用途。

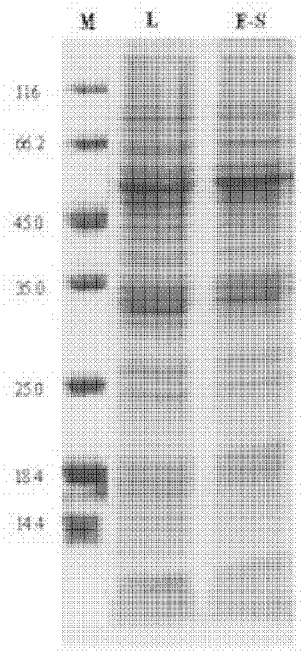


图 1A

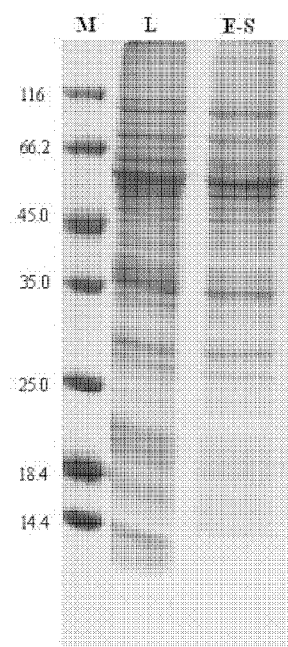


图 1B

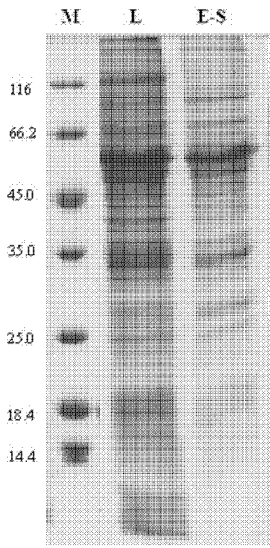


图 1C

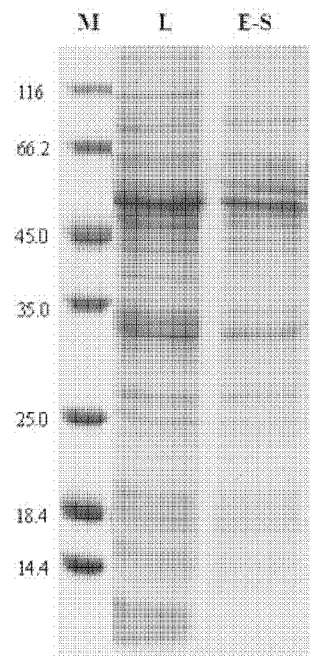


图 1D

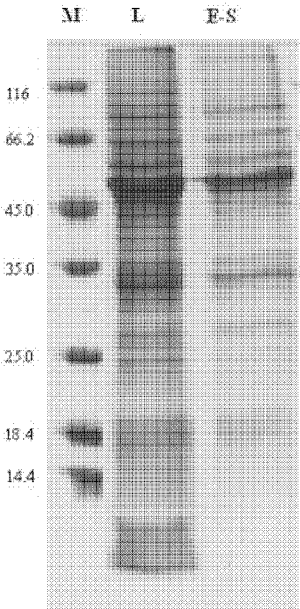


图 1E

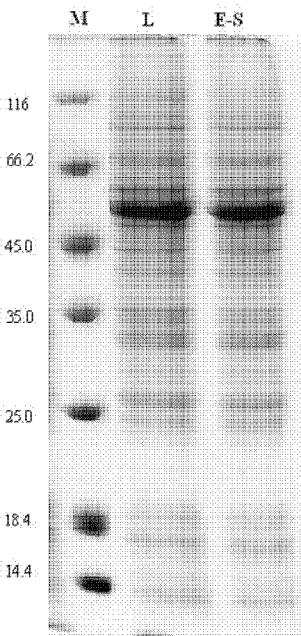


图 1F

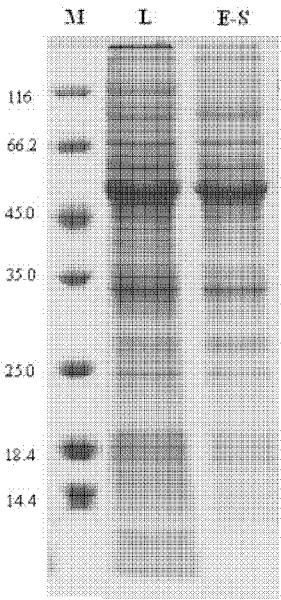


图 1G

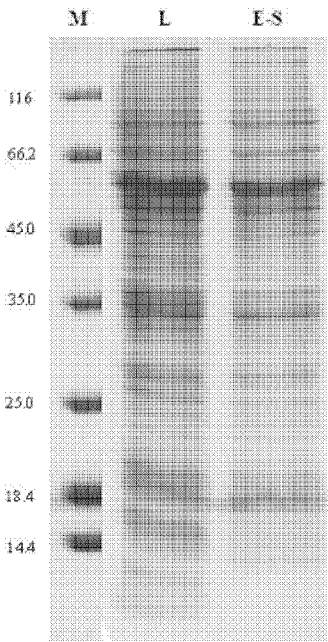


图 1H

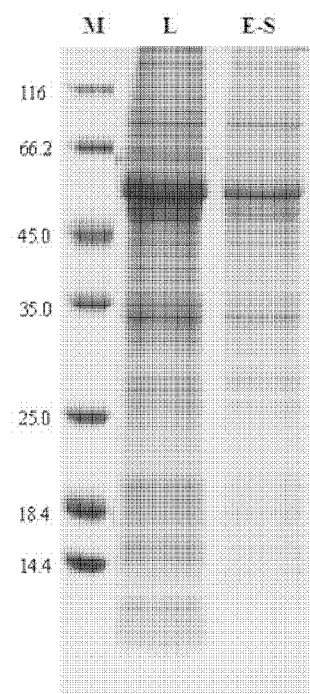


图 11

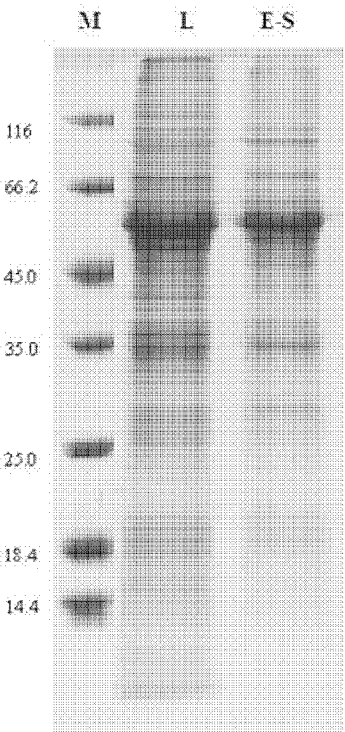


图 1J

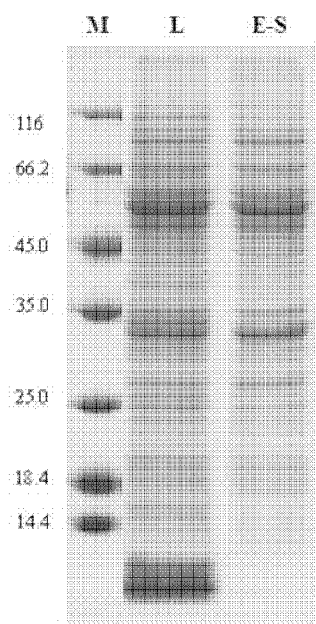


图 1K

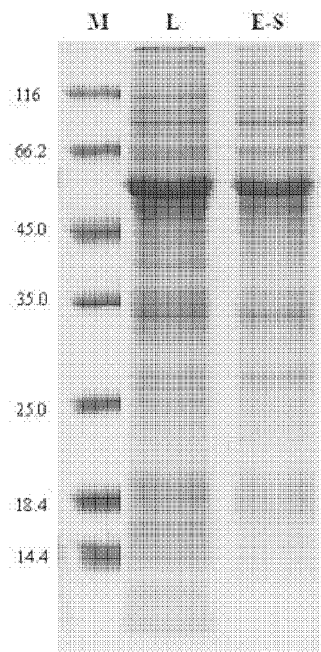


图 1L

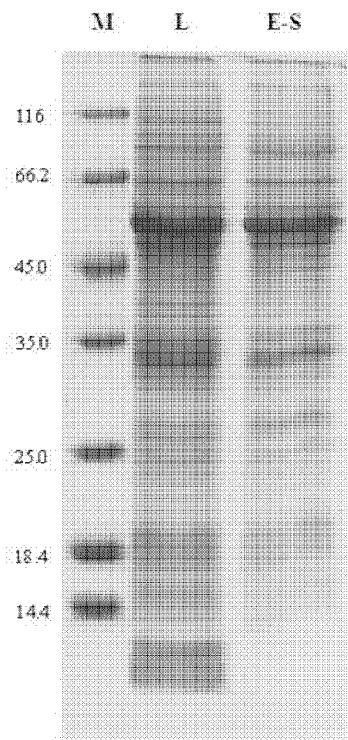


图 1M

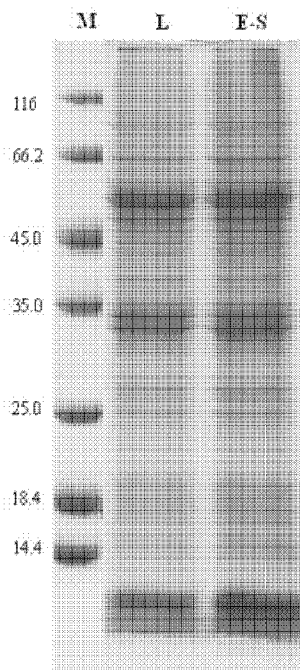


图 1N

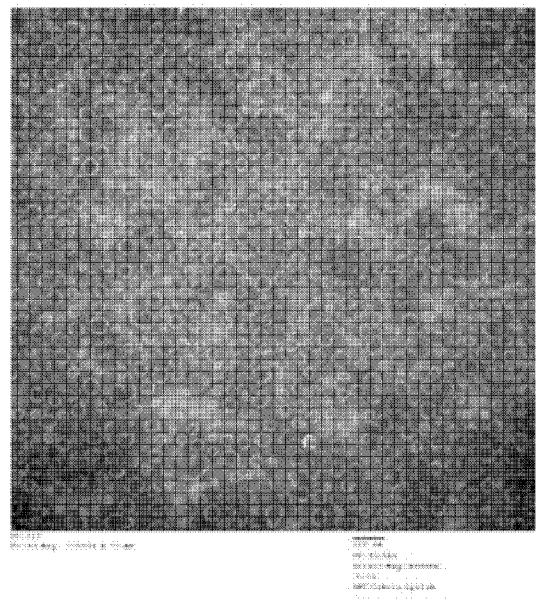


图 2B

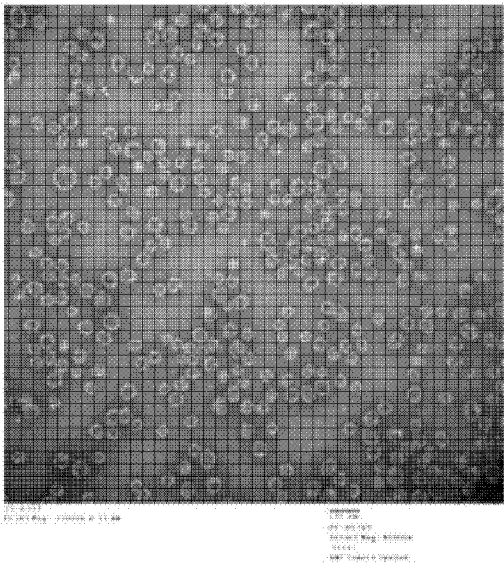


图 2C

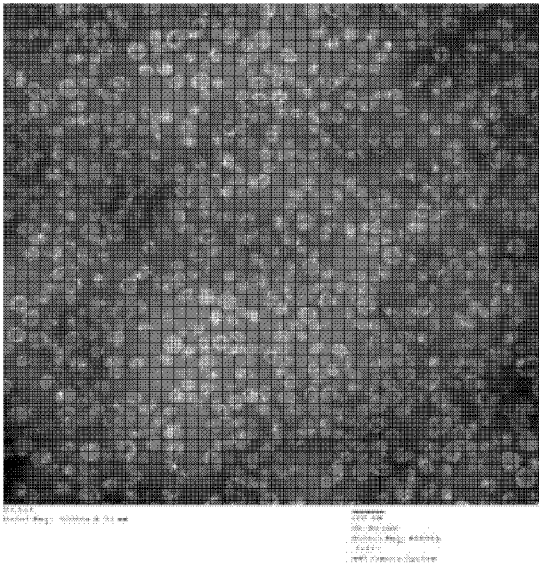


图 2D

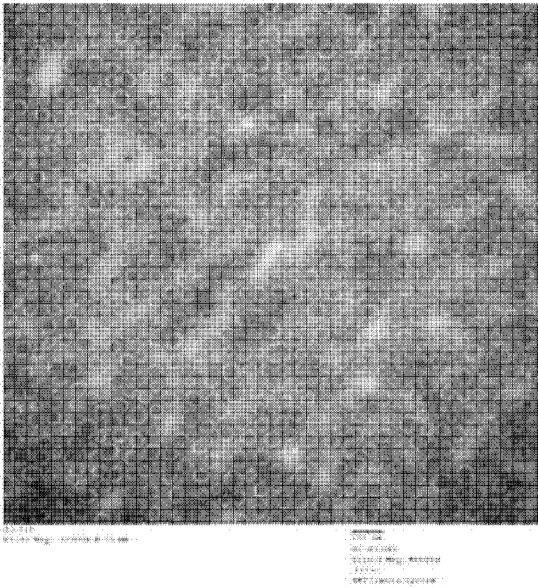


图 2E

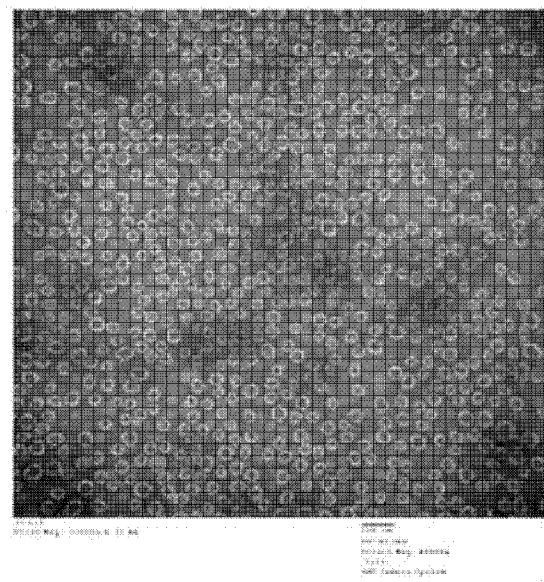


图 2F

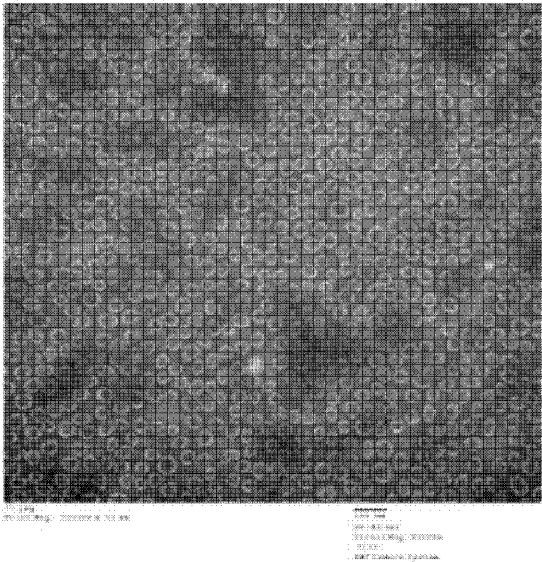


图 2G

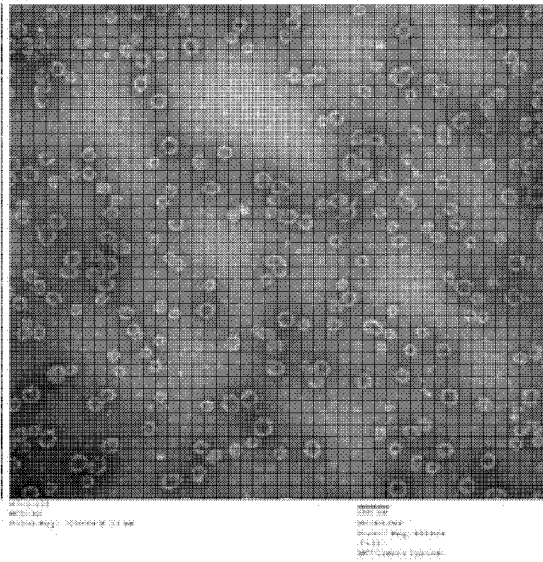


图 2H

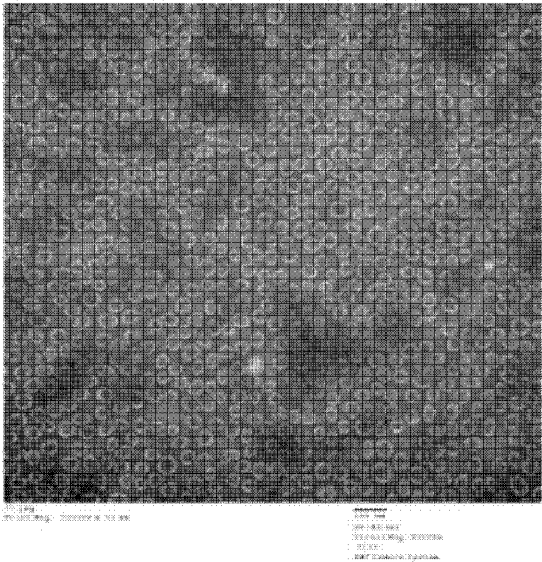


图 2I

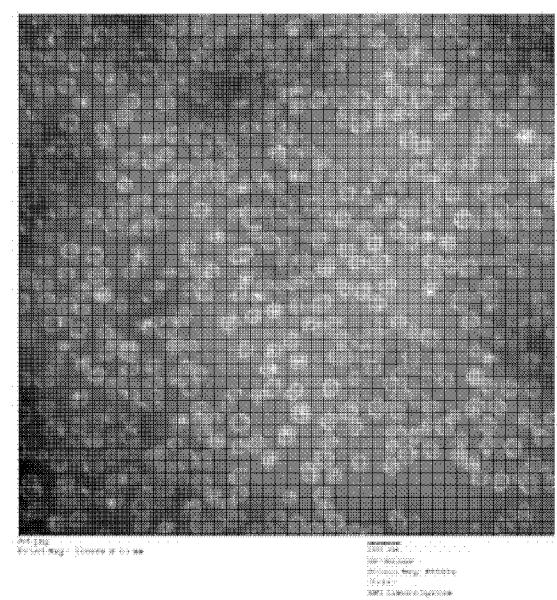


图 2J

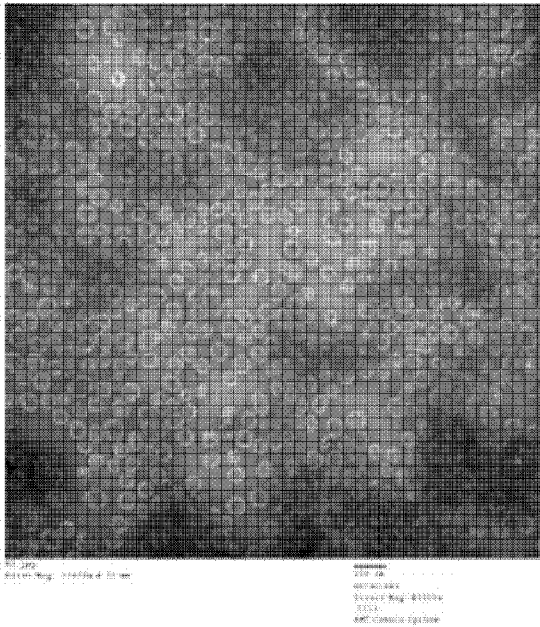


图 2K

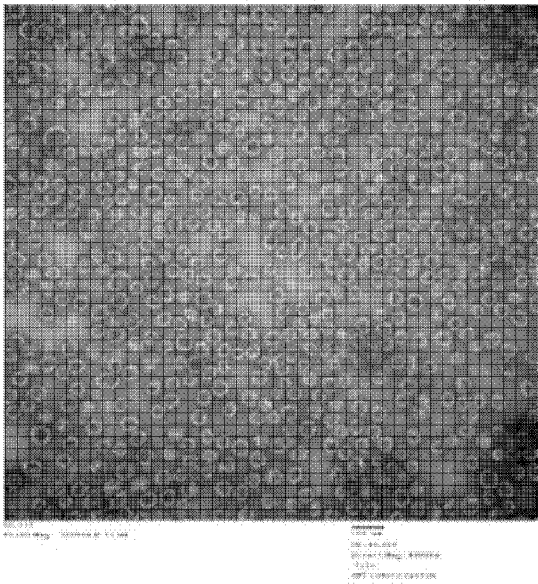


图 2L

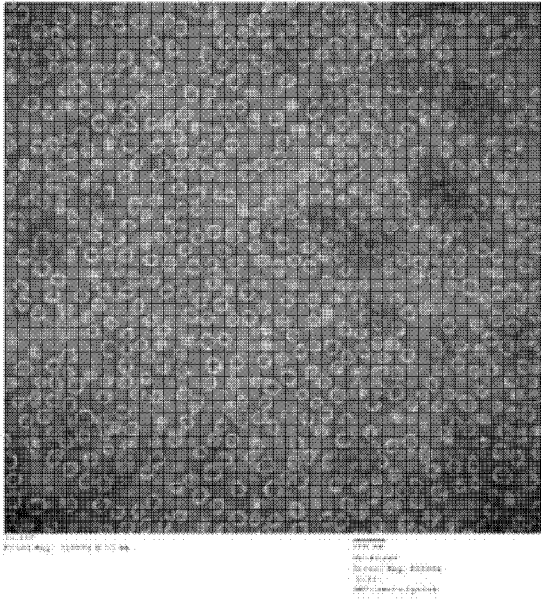


图 2M

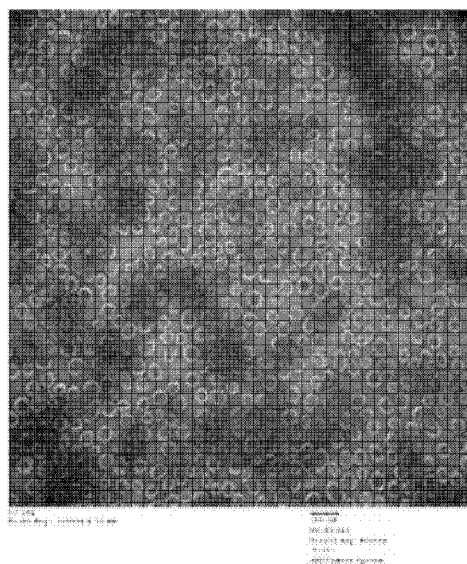


图 2N

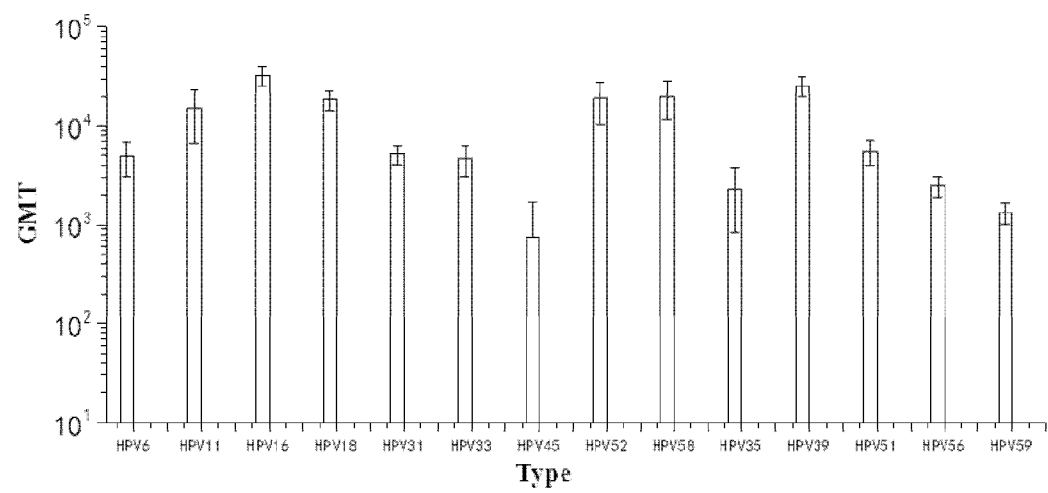


图 3

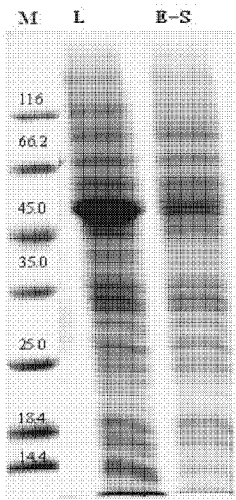


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/102601

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/025(2006.01)i; C12N 15/37(2006.01)i; A61K 39/12(2006.01)i; A61P 31/20(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 15/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K; C12N; A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNKI, 百度搜索, Baidu Xueshu Search, WEB OF SCIENCE, PubMed, GenBank, 中国生物序列检索数据库, Chinese Logical Sequence Retrieval Database: HPV 6型, 11型, 16型, 18型, 31型, 33型, 45型, 52型, 58型, 人乳头瘤病毒, 嵌合的, 融合蛋白, 型别, 免疫原性, 表达量, 可溶性, Human Papilloma virus, HPV, fusion protein, chimera, hybrid gene, immunogenic, expression, second tye, truncated, papovavirus, SEQ ID NOs: 1-162

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 102268076 A (XIAMEN UNIVERSITY et al.) 07 December 2011 (2011-12-07) see claims 1-12	1-15, 17
Y	CN 102747047 A (XIAMEN UNIVERSITY et al.) 24 October 2012 (2012-10-24) see claims 1-7, description, paragraphs [0032] and [0033]	1-15, 17
Y	CN 106795518 A (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF COLORADO et al.) 31 May 2017 (2017-05-31) see description, tables 1 and 2	3-15, 17
Y	US 5821087 A (MERCK & CO., INC.) 13 October 1998 (1998-10-13) see claims, and description, columns 6-9	3-15, 17
A	CN 101518647 A (BIOBRIDGE INTERNATIONAL BIOLOGGY TECHNICAL PARK et al.) 02 September 2009 (2009-09-02) see entire document	1-15, 17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 October 2020

Date of mailing of the international search report

18 November 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/102601

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/102601

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **16**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Claim 16 relates to a method of the treatment of the human or animal body by therapy (PCT Rule 39.1 (iv)).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/102601

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	102268076	A	07 December 2011	DK	2589604	T3	16 January 2017
				EP	2589604	B1	05 October 2016
				WO	2012000454	A1	05 January 2012
				BR	112013000031	A2	10 May 2016
				US	2013230548	A1	05 September 2013
				IN	117CHN2013	A	03 July 2015
				EP	2589604	A4	18 December 2013
				US	9499591	B2	22 November 2016
				EP	2589604	A1	08 May 2013
				CN	102268076	B	26 April 2017
CN	102747047	A	24 October 2012	CN	102747047	B	23 March 2016
CN	106795518	A	31 May 2017	US	2017326224	A1	16 November 2017
				WO	2015196112	A1	23 December 2015
				US	10413603	B2	17 September 2019
				US	2020121779	A1	23 April 2020
US	5821087	A	13 October 1998	None			
CN	101518647	A	02 September 2009	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/102601

A. 主题的分类

C07K 14/025(2006.01)i; C12N 15/37(2006.01)i; A61K 39/12(2006.01)i; A61P 31/20(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 15/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07K; C12N; A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNKI, 百度学术搜索, WEB OF SCIENCE, PubMed, GenBank, 中国生物序列检索数据库:HPV 6型、11型、16型、18型、31型、33型、45型、52型、58型, 人乳头瘤病毒, 嵌合的, 融合蛋白, 型别, 免疫原性, 表达量, 可溶性, Human Papilloma virus, HPV, fusion protein, chimera, hybrid gene, immunogenic, expression, second tye, truncated, papovavirus, SEQ ID NOs: 1-162

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 102268076 A (厦门大学等) 2011年 12月 7日 (2011 - 12 - 07) 参见权利要求1-12	1-15, 17
Y	CN 102747047 A (厦门大学等) 2012年 10月 24日 (2012 - 10 - 24) 参见权利要求1-7, 说明书第32-33段	1-15, 17
Y	CN 106795518 A (科罗拉多大学董事会等) 2017年 5月 31日 (2017 - 05 - 31) 参见说明书表1, 表2	3-15, 17
Y	US 5821087 A (MERCK & CO INC) 1998年 10月 13日 (1998 - 10 - 13) 参见权利要求书, 说明书第6-9栏	3-15, 17
A	CN 101518647 A (江阴艾托金生物技术有限公司等) 2009年 9月 2日 (2009 - 09 - 02) 参见全文	1-15, 17

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2020年 10月 16日

国际检索报告邮寄日期

2020年 11月 18日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

赵彦豪

电话号码 62411043

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:

a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:

☒ 附件C/ST. 25文本文件形式

☐ 纸件或图形文件形式

b. ☐ 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c. ☐ 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

☐ 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))

☐ 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b) 和行政规程第713段)

2. ☐ 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。

3. 补充意见:

第II栏

某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 16
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求16涉及人体或动物体的治疗方法（PCT实施细则39.1（iv））。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/102601

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102268076	A	2011年 12月 7日	DK	2589604	T3	2017年 1月 16日
				EP	2589604	B1	2016年 10月 5日
				WO	2012000454	A1	2012年 1月 5日
				BR	112013000031	A2	2016年 5月 10日
				US	2013230548	A1	2013年 9月 5日
				IN	536CHN2013	A	2015年 7月 3日
				EP	2589604	A4	2013年 12月 18日
				US	9499591	B2	2016年 11月 22日
				EP	2589604	A1	2013年 5月 8日
				CN	102268076	B	2017年 4月 26日
CN	102747047	A	2012年 10月 24日	CN	102747047	B	2016年 3月 23日
CN	106795518	A	2017年 5月 31日	US	2017326224	A1	2017年 11月 16日
				WO	2015196112	A1	2015年 12月 23日
				US	10413603	B2	2019年 9月 17日
				US	2020121779	A1	2020年 4月 23日
US	5821087	A	1998年 10月 13日	无			
CN	101518647	A	2009年 9月 2日	无			