

(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
2024 年 12 月 12 日 (12.12.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/251281 A1

(51) 国际专利分类号:

C07K 14/005 (2006.01) **A61K 39/155** (2006.01)
C07K 14/08 (2006.01) **C12N 15/45** (2006.01)
C07K 14/115 (2006.01) **A61P 31/14** (2006.01)
C07K 14/135 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/098246

(22) 国际申请日: 2024 年 6 月 7 日 (07.06.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202310705477.9 2023年6月7日 (07.06.2023) CN

(71) 申请人: 四川三叶草生物制药有限公司 (SICHUAN CLOVER BIOPHARMACEUTICALS, INC.) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区天府大道北段 1480 号高新孵化园 1 号楼 B 座 4-9, Sichuan 610041 (CN)。

(72) 发明人: 梁果 (LIANG, Joshua); 中国四川省成都市高新区天府大道北段 1480 号高新孵化园 1 号楼 B 座 4-9, Sichuan 610041 (CN)。宿丹梅 (SU, Danmei); 中国四川省成都市高新区天府大道北段 1480 号高新孵化园 1 号楼 B 座 4-9, Sichuan 610041 (CN)。梁朋 (LIANG, Peng); 中国四川省成都市高新区天府大道北段 1480 号高新孵化园 1 号楼 B 座 4-9, Sichuan 610041 (CN)。

(74) 代理人: 北京华睿卓成知识产权代理事务所 (普通合伙) (CHENG & PENG INTELLECTUAL

PROPERTY LAW OFFICE); 中国北京市东城区东长安街 1 号东方广场东方经贸城东一办公楼 12 层 12 室, Beijing 100738 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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))。
- 包括说明书序列表部分(细则 5.2(a))。

(54) Title: RSV VACCINE COMPOSITION, METHOD AND USE THEREOF

(54) 发明名称: RSV 疫苗组合物、方法及其用途

(57) Abstract: An immunogenic composition comprising a recombinant peptide and a protein, wherein the recombinant peptide and the protein comprise a respiratory syncytial virus (RSV) viral antigen and an immunogen such as an RSV F protein peptide. The immunogenic composition comprises a secreted fusion protein, the secreted fusion protein comprises a soluble RSV virus antigen, and the soluble RSV virus antigen is linked with the C-terminal part of collagen by means of in-frame fusion to form a disulfide bond-linked trimer fusion protein. The immunogenic composition can be used for producing an immune response, for example for treating or preventing RSV infection. The immunogenic composition can be used in a vaccine composition, for example as part of a prophylactic and/or therapeutic vaccine. Further provided are a method for producing the recombinant peptide and protein, prevention, treatment and/or diagnosis methods and related kits.

(57) 摘要: 一种包含重组肽和蛋白质的免疫原性组合物, 所述重组肽和蛋白质包含呼吸道合胞病毒(RSV) 病毒抗原和免疫原, 例如 RSV F 蛋白肽。所述免疫原性组合物包含分泌的融合蛋白, 所述分泌的融合蛋白包含可溶性 RSV 病毒抗原, 所述可溶性 RSV 病毒抗原与胶原蛋白 C 端部分通过框内融合而联结以形成二硫键连接的三聚体融合蛋白。所述免疫原性组合物可用于产生免疫应答, 例如用于治疗或预防 RSV 感染。所述免疫原性组合物可用于疫苗组合物, 例如作为预防性和/或治疗性疫苗的一部分。还提供了产生所述重组肽和蛋白质的方法, 预防、治疗和/或诊断方法以及相关试剂盒。

WO 2024/251281 A1

说明书

发明名称: RSV疫苗组合物、方法及其用途

技术领域

[0001] 本公开在一些方面涉及一种包含重组肽和蛋白质的免疫原性组合物，所述重组肽和蛋白质包含呼吸道合胞病毒(RSV)病毒抗原和免疫原，例如RSV F蛋白肽，所述免疫原性组合物用于治疗 and/或预防RSV感染。

背景技术

[0002] 呼吸道合胞病毒(RSV)导致成人和儿童呼吸道感染，是婴儿期和儿童期下呼吸道感染和住院治疗的主要原因。尽管RSV感染率高，但包括预防剂、治疗剂和疫苗在内的治疗手段却有限或不可用。需要改进的方法来治疗RSV。本文提供了满足这些和其它需要的组合物、方法、用途和制品。

[0003] 发明内容

[0004] 在一个方面，本文提供了一种包含多个重组多肽的蛋白质，各重组多肽包含连接到胶原蛋白C端前肽的呼吸道合胞病毒(RSV)F蛋白肽或其片段或表位，其中所述重组多肽的C端前肽形成了多肽间二硫键。在一些实施方式中，所述RSV属于A亚型或B亚型。在一些实施方式中，所述表位是线性表位或构象表位。

[0005] 在一些实施方式中，本文公开了重组亚单位疫苗，所述重组亚单位疫苗包含RSV F蛋白或其片段的胞外结构域(例如，无跨膜结构域和胞质结构域)，所述胞外结构域与能够形成二硫键连接的同三聚体的胶原蛋白C前肽框内融合。所产生的重组亚单位疫苗如F三聚体可以从转染的细胞表达并纯化，并且预计呈三聚体形式的天然样构象。这解决了病毒抗原在表达为无跨膜结构域和/或胞质结构域的可溶性形式的重组肽或蛋白质时经常遇到的错误折叠问题。这种错误折叠的病毒抗原不能准确地保留天然病毒抗原构象，而且往往不能激发出中和抗体。

[0006] 在一些实施方式中，所述F蛋白肽包含F1亚单位肽、F2亚单位肽或其任何组合，并且所述蛋白质包含三个重组多肽。在一些实施方式中，所述F蛋白肽包含信号肽、七肽重复序列C(HRC)肽、pep27肽、融合肽(FP)、七肽重复序列A(HRA)肽、结构域I肽、结构域II肽或七肽重复序列B(HRB)肽或其任何组合。

在一些实施方式中，所述F蛋白肽包含F蛋白的F1亚单位但不包含F2亚单位，或相反。在一些实施方式中，所述F蛋白肽包含F蛋白的F1亚单位和F2亚单位，任选地不存在pep27，并且任选地其中所述F1亚单位和所述F2亚单位通过二硫键或人工引入的连接物连接。在一些实施方式中，所述F蛋白肽不包含跨膜(TM)结构域肽和/或胞质(CP)结构域肽。在一些实施方式中，所述F蛋白肽包含蛋白酶切割位点，其中所述蛋白酶任选地为弗林蛋白酶、胰蛋白酶、因子Xa、凝血酶或组织蛋白酶L。在一些实施方式中，所述F蛋白肽不包含蛋白酶切割位点，其中所述蛋白酶任选地为弗林蛋白酶、胰蛋白酶、因子Xa、凝血酶或组织蛋白酶L。

[0007] 在一些实施方式中，所述F蛋白肽是可溶性的，或不直接结合到脂质双分子层，例如膜或病毒包膜。在一些实施方式中，F蛋白肽在所述蛋白质的重组多肽间是相同的或不同的。在一些实施方式中，所述F蛋白肽直接与C端前肽融合，或通过连接物如包含甘氨酸-X-Y重复序列的连接物连接到C端前肽，其中X和Y独立地为任何氨基酸，任选地为脯氨酸或羟脯氨酸。

[0008] 在一些实施方式中，所述蛋白质是可溶性的，或不直接结合到脂质双分子层，例如膜或病毒包膜。在一些实施方式中，所述蛋白质能够形成包含F蛋白肽三聚体的莲座样寡聚物。在一些实施方式中，所述蛋白质能够结合到受试者的细胞表面附着因子或受体，任选地其中所述受试者是哺乳动物，如灵长类动物，例如人类。

[0009] 在一些实施方式中，所述C端前肽属于人类胶原蛋白。在一些实施方式中，所述C端前肽包含pro α 1(I)、pro α 1(II)、pro α 1(III)、pro α 1(V)、pro α 1(XI)、pro α 2(I)、pro α 2(V)、pro α 2(XI)或pro α 3(XI)的C端多肽或其片段。在一些实施方式中，在所述重组多肽间所述C端前肽是相同或不同的。在一些实施方式中，所述C端前肽包含SEQ ID NO:48-63中的任一个或与其具有至少90%同一性、能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。

[0010] 在一些实施方式中，各重组多肽中的F蛋白肽呈融合前构象或融合后构象，任选地其中所述蛋白质包含莲座样寡聚物，所述莲座样寡聚物包含拐杖形棒状F蛋白肽三聚体。在上述实施方式中的任一个中，各重组多肽中的F蛋白肽可以包含SEQ ID NO:17-47中的任一个或与其具有至少80%同一性的氨基酸序列。

- [0011] 在上述实施方式中的任一个中，所述重组多肽可以包含SEQ ID NO:1-16和64-71中的任一个或与其具有至少80%同一性的氨基酸序列。在上述实施方式中的任一个中，所述重组多肽可以包含直接或间接地连接到SEQ ID NO:48-63中的任一个或与其具有至少90%同一性的氨基酸序列的SEQ ID NO:17-47和72-79中的任一个或与其具有至少80%同一性的氨基酸序列。
- [0012] 本文还提供了一种包含本文所提供的蛋白质的免疫原。本文提供了一种包含直接或间接地连接到纳米粒子的本文所提供的蛋白质的蛋白质纳米粒子。本文提供了一种包含本文所提供的蛋白质的病毒样粒子(VLP)。
- [0013] 本文还提供了一种分离的核酸，所述分离的核酸编码本文所提供的蛋白质的1、2、3个或更多个重组多肽。在一些实施方式中，编码F蛋白肽的多肽与编码胶原蛋白C端前肽的多肽框内融合。在一些实施方式中，本文所提供的分离的核酸可操作地连接到启动子。
- [0014] 在一些实施方式中，本文所提供的分离的核酸是DNA分子。在一些实施方式中，本文所提供的分离的核酸是RNA分子，任选地为mRNA分子，如核苷修饰mRNA、非扩增mRNA、自扩增mRNA或反式扩增mRNA。
- [0015] 本文还提供了一种包含本文所提供的分离的核酸的载体。在一些实施方式中，所述载体是病毒载体。
- [0016] 在一些方面，本文提供了一种包含本文所提供的载体的病毒、假病毒或细胞，任选地其中所述病毒或细胞具有重组基因组。在一些方面，本文提供了一种免疫原性组合物，所述免疫原性组合物包含本文所提供的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒或细胞，以及药学上可接受的载剂。
- [0017] 本文还提供了一种包含本文所提供的免疫原性组合物和任选的佐剂的疫苗，其中所述疫苗任选地为亚单位疫苗。在一些实施方式中，所述疫苗是预防性和/或治疗性疫苗。
- [0018] 在一些方面，本文提供了一种产生蛋白质的方法，所述方法包括：在宿主细胞中表达本文所提供的分离的核酸或载体以产生本文所提供的蛋白质；以及纯化所述蛋白质。本文提供了一种通过本文所提供的方法产生的蛋白质。

[0019] 本文提供了在受试者中对RSV的F蛋白肽或其片段或表位产生免疫应答的方法，所述方法包括向所述受试者给药有效量的如本文所提供的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗以产生所述免疫应答。在一些实施方式中，本文所提供的方法用于治疗或预防RSV感染。在一些实施方式中，产生免疫应答抑制或减少了受试者中RSV的复制。在一些实施方式中，所述免疫应答包括细胞介导应答和/或体液应答，任选地包括产生一种或多种中和抗体，如多克隆抗体或单克隆抗体。在一些实施方式中，所述免疫应答针对RSV的F蛋白肽或其片段或表位，但不针对C端前肽。在一些实施方式中，给药于受试者不会由于所述受试者之前暴露于一种或多种RSV而导致抗体依赖性增强(ADE)。在一些实施方式中，当所述受试者随后暴露于一种或多种RSV时，所述给药不会导致抗体依赖性增强(ADE)。在一些实施方式中，所述方法还包括初免步骤和/或加强步骤。在一些实施方式中，所述给药步骤通过局部、经皮、皮下、皮内、口服、鼻内(例如鼻内喷雾)、气管内、舌下、颊、直肠、阴道、吸入、静脉内(例如静脉内注射)、动脉内、肌肉内(例如肌肉内注射)、心内、骨内、腹膜内、经粘膜、玻璃体内、视网膜下、关节内、关节周、局部或经表皮给药来进行。在一些实施方式中，所述有效量以单剂或者以一个或多个间期隔开的一系列剂量给药。在一些实施方式中，所述有效量在无佐剂的情况下给药。在一些实施方式中，所述有效量与佐剂一起给药。

[0020] 本文提供了一种方法，所述方法包括向受试者给药有效量的本文所提供的蛋白质，以在所述受试者中产生针对RSV的中和抗体或中和抗血清。在一些实施方式中，所述受试者是哺乳动物，任选地为人类或非人灵长类动物。在一些实施方式中，所述方法还包括从所述受试者分离所述中和抗体或中和抗血清。在一些实施方式中，所述方法还包括通过被动免疫向人类受试者给药有效量的所分离的中和抗体或中和抗血清以预防或治疗RSV感染。在一些实施方式中，针对RSV的中和抗体或中和抗血清包含针对RSV F蛋白肽或其片段或表位的多克隆抗体，任选地其中所述中和抗体或中和抗血清不含或基本上不含针对胶原蛋白C端前肽的抗体。在一些实施方式中，所述中和抗体包含针对RSV F蛋白肽或其片段

或表位的单克隆抗体，任选地其中所述中和抗体不含或基本上不含针对胶原蛋白C端前肽的抗体。

[0021] 在一些方面，本文所提供的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗用于在受试者中诱导对RSV的免疫应答和/或用于治疗或预防RSV感染。

[0022] 在一些方面，本文提供了本文所提供的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗的用途，用于在受试者中诱导对RSV的免疫应答和/或用于治疗或预防RSV感染。在一些方面，本文提供了本文所提供的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗的用途，其用于制备药物或预防药剂，所述药物或预防药剂用于在受试者中诱导针对RSV病毒的免疫应答和/或用于治疗或预防RSV感染。

[0023] 本文还提供了分析样品的方法，所述方法包括：将样品与本文所提供的蛋白质接触，以及检测所述蛋白质与能够特异性结合到RSV的F蛋白肽或其片段或表位的分析物之间的结合。在一些实施方式中，所述分析物是识别F蛋白肽或其片段或表位的抗体、受体或细胞。在一些实施方式中，所述结合表明所述样品中存在所述分析物和/或所述样品来源的受试者中存在RSV感染。

[0024] 本文提供了一种试剂盒，所述试剂盒包含本文所提供的蛋白质以及容纳或固定所述蛋白质的基材、衬垫或小瓶，任选地其中所述试剂盒是ELISA或测流测定用试剂盒。

附图说明

[0025] 图1示出了包含与三聚化肽融合的细胞外F结构域的示例性融合肽的示意图。

[0026] 图2示出了第3天293T细胞上清液中的OD值。第3天，通过ELISA测定上清液中总蛋白和融合前F蛋白的量。

[0027] 图3示出了第3天CHO细胞上清液中的OD值。第3天，通过ELISA测定上清液中总蛋白和融合前F蛋白的量。

[0028] 图4示出了第7天CHO细胞上清液中的OD值。第7天，通过ELISA测定上清液中总蛋白和融合前F蛋白的量。

- [0029] 图5示出使用来自无血清补料分批细胞培养物的示例性融合肽表达的肽8% SDS-PAGE分析的表达水平。SCB-N25C：在非还原和还原条件下分离第1天到第13天的无细胞条件培养基，然后进行考马斯蓝染色，上样量是26 μ l；SCB-N25：在非还原和还原条件下分离从第1天到第13天的无细胞条件培养基，然后进行考马斯蓝染色，上样量是26 μ l。
- [0030] 图6示出了通过SEC-HPLC对示例性纯化融合肽进行的纯度评估，示例性SCB-N25融合蛋白质的主峰面积是92.8%，SCB-N25C的蛋白质的主峰面积为81.7%。
- [0031] 图7为亲和动力学试验。A和B图通过对帕利珠单抗(palivizumab)和包含RSV F蛋白肽的示例性融合肽的生物层干涉法进行的结合研究。首先将5 μ g/mL帕利珠单抗固定在蛋白A传感器上，然后将传感器浸在不同浓度的示例性融合肽中以测量结合动力学。通过减去缓冲液参考值将所得曲线与1:1结合模型拟合，得到 $K_{\text{结合}}$ 和 $K_{\text{解离}}$ ，值如下面的表中所示。C和D示出通过抗体D25与包含RSV F蛋白肽的示例性融合肽之间的结合进行的结合研究。来自抗体D25结合实验的相应 K_D 、 K_{on} 、 K_{dis} 显示在下面的标签中。SCB-N25C对帕利珠单抗和抗体D25均表现出高亲和力。
- [0032] 图8A-8D示出了用包含RSV F蛋白肽的示例性融合肽进行免疫接种的试验结果。图8A示出了实验方法的示意图：第0天和第21天免疫接种小鼠，在第0天第35天分别收集血清。图8B示出针对纯化的示例性融合肽的血清学实验(D35)-RSV A2株型微量中和性抗体滴度，所述融合肽包含RSV F蛋白肽和佐剂Alum、Alum+CpG 1018或CAS-1。以Alum+CpG 1018为佐剂的融合蛋白显示出比以Alum或CAS-1为佐剂的相应融合蛋白更高的效价值。SCB-N25C显示出比其他抗原更高的滴度值。图8C示出了通过血清样品稀释液测定的对D25和帕利珠单抗与热灭活RSV(HI-RSV)粒子结合提供50%抑制的D25和帕利珠单抗竞争性IgG滴度。值表示为 $\log_2$ 和平均值 $\pm$ SEM。与Alum结合的所有抗原显示出比其他两种佐剂低的抗体(DCA：D25竞争性抗体和PCA：帕利珠单抗竞争性抗体)反应。与Alum+CpG1018佐剂联合使用时，DS-CAV1-Trimer和N20的DCA效价和PCA滴度均较高，且两者无显著差异。表现最差的是N25。与CAS-1佐剂联合使用的4种候选抗原均无有效的DCA滴度。N20和N25的PCA滴度较高，DS-

CAV1-Trimer最低。图8D示出了Elispot试验的结果。N25C抗原联合Alum佐剂能产生较强的Th1类细胞免疫应答。抗原联合Alum+CpG1018佐剂，均产生较低的Th2类细胞免疫应答。抗原联合CAS-1佐剂，均产生较高的Th1类和Th2类细胞免疫应答。CAS-1包含角鲨烯、 α -生育酚、和吐温-80。

具体实施方式

- [0033] 在一些实施方式中，公开了呈共价连接的三聚体形式的来自RNA病毒的重组可溶性表面抗原的组合物和使用方法。在一些实施方式中，所产生的融合蛋白作为二硫键连接的同三聚体分泌，其在结构上更稳定，同时保留了天然样三聚体病毒抗原的构象，因此可以用作针对这些危险病原体的更有效的疫苗。
- [0034] 在一些实施方式中，本文公开了使用病毒抗原三聚体作为疫苗或作为多价疫苗的一部分来预防病毒感染的方法，所述方法使用或不使用佐剂或使用超过一种佐剂，任选地通过肌肉内注射或鼻内给药。
- [0035] 在一些实施方式中，本文公开了使用病毒抗原三聚体作为抗原，通过检测识别所述病毒抗原的抗体例如IgM或IgG如中和抗体来诊断病毒感染的方法。
- [0036] 在一些实施方式中，本文公开了使用病毒抗原三聚体作为抗原来产生可用于被动免疫的多克隆或单克隆抗体，例如用于治疗婴儿RSV感染的中和mAb的方法。
- [0037] 在一些实施方式中，本文公开了一种作为疫苗或作为多价疫苗一部分的病毒抗原三聚体，其中所述疫苗包括多种三聚体亚单位疫苗，所述多种三聚体亚单位疫苗包含同一病毒蛋白的病毒抗原或包含一种或多种病毒或者同一病毒的一种或多种毒株的两种或更多种不同蛋白质的病毒抗原。
- [0038] 在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的病毒抗原三聚体的单价疫苗。在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的病毒抗原三聚体的二价疫苗。在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的病毒抗原三聚体的三价疫苗。在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的病毒抗原三聚体的四价疫苗。
- [0039] 在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的F三聚体的单价疫苗。在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的F三聚体的二价疫苗。在一些实施方式中，本文公开了一种包含至少一种包含第一F蛋白抗原的F三聚体和至

少一种包含第二F蛋白抗原的F三聚体的二价疫苗。在一些实施方式中，所述第一和第二F蛋白抗原来自于一种或多种病毒物种或毒株/亚型的相同F蛋白，或者来自一种或多种病毒物种或同一病毒物种的一种或多种毒株/亚型的两种或更多种不同的F蛋白。在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的F三聚体的三价疫苗。在一些实施方式中，本文公开了一种包含至少一种包含第一F蛋白抗原的F三聚体、至少一种包含第二F蛋白抗原的F三聚体，以及至少一种包含第三F蛋白抗原的F三聚体的三价疫苗。在一些实施方式中，所述第一、第二和第三F蛋白抗原来自于一种或多种病毒物种或毒株/亚型的相同F蛋白，或来自于一种或多种病毒物种或者同一病毒物种的一种或多种毒株/亚型的两种、三种或更多种不同的F蛋白。在一些实施方式中，本文公开了一种包含本文公开的F三聚体的四价疫苗。在一些实施方式中，本文公开了一种包含至少一种包含第一F蛋白抗原的F三聚体、至少一种包含第二F蛋白抗原的F三聚体、至少一种包含第三F蛋白抗原的F三聚体，以及至少一种包含第四F蛋白抗原的F三聚体的四价疫苗。在一些实施方式中，所述第一、第二、第三和第四F蛋白抗原来自于一种或多种病毒物种或毒株/亚型的相同F蛋白，或来自于一种或多种病毒物种或者同一病毒物种的一种或多种毒株/亚型的两种、三种、四种或更多种不同的F蛋白。

[0040] 本文提供了用于例如预防性、治疗性治疗RSV感染的包含RSV病毒抗原或免疫原的融合肽和蛋白质的免疫原性组合物、方法和用途。呼吸道合胞病毒(RSV)被视为婴儿和幼儿急性下呼吸道感染(ALRTI)的主要原因，每年在全世界造成7,000至20,000多名儿童死亡。RSV感染是发展中国家婴儿死亡的第二大常见原因。此外，RSV可以在老年人和免疫受损人群中导致严重疾病。有效的预防性人源化mAb帕利珠单抗(SYNAGIS®)仅可作为被动免疫措用于那些感染RSV风险高的婴儿。

[0041] 尽管进行了数十年研究，但RSV疫苗开发由于种种原因一直不成功。例如，RSV候选疫苗的生产、稳定性和有效性问题一直难以克服，特别地，安全性是一个主要问题，因为人们认识到福尔马林灭活RSV(FI-RSV)疫苗介导疫苗诱导的疾病增强(VEED)。

- [0042] 本文所提供的包含RSV病毒抗原和免疫原的蛋白质，包括重组多肽和融合蛋白，可用于有效且安全地治疗(例如治疗性地、预防性地)RSV感染。例如，本文提供的包含RSV病毒抗原和免疫原的蛋白质治疗RSV感染，而无需考虑VED和/或抗体依赖性增强(ADE)。此外，本文所提供的包含RSV病毒抗原和免疫原的蛋白质容易生产，并在高胁迫条件如高温、极端pH以及高渗透压和低渗透压下表现出稳定性。因此，本文所提供的蛋白质和免疫原性组合物规避并满足了阻碍RSV疫苗开发的生产、稳定性、安全性和有效性问题。
- [0043] 在一些方面，本文所提供的RSV病毒抗原和免疫原包含RSV糖蛋白(F)，本文也称为RSV F蛋白肽或肽。RSV F蛋白肽是一种介导膜和病毒渗透到宿主细胞中的同三聚体I型跨膜蛋白。RSV F蛋白肽合成为F0原蛋白前体，在两个位点被弗林蛋白酶切割后转化为二硫键连接的F1和F2成熟形式。RSV F蛋白肽在RSV A和B毒株间高度保守。中和抗体如帕利珠单抗靶向F的抗原位点，并对RSV感染引起的呼吸道疾病提供保护。
- [0044] 在一些实施方式中，包含RSV病毒抗原或免疫原的蛋白质，例如RSV F蛋白肽，能够产生免疫应答，例如对RSV F肽蛋白的免疫应答。在一些实施方式中，免疫应答抑制或减少受试者例如患者中RSV的复制。在一些实施方式中，免疫应答包括产生一种或多种中和抗体，如多克隆和/或单克隆抗体。在一些实施方式中，中和抗体抑制或减少受试者例如患者中RSV的复制。在一些实施方式中，向受试者给药蛋白质(例如呈免疫原性组合物形式)不会因受试者先前暴露于RSV而导致抗体依赖性增强(ADE)。在一些方面，包含RSV病毒抗原和免疫原，例如RSV F蛋白肽的蛋白质用作疫苗。
- [0045] 在一些实施方式中，RSV病毒抗原和免疫原，例如RSV F蛋白肽，连接到蛋白质或肽以形成融合蛋白或重组多肽。在一些实施方式中，RSV病毒抗原或免疫原所连接的蛋白质或肽能够与蛋白质或肽，如融合蛋白或重组多肽的蛋白质或肽缔合，例如共价或非共价连接。因此，在一些情况下，RSV病毒抗原或免疫原所连接的蛋白质或肽是多聚体化结构域。
- [0046] 在一些实施方式中，RSV病毒抗原和免疫原，如RSV F蛋白肽，连接到胶原蛋白前肽，如胶原蛋白前肽C端，以形成融合肽或重组多肽。因此，在一些实施方

式中，本文所提供的蛋白质包含重组多肽，所述重组多肽含有连接到胶原蛋白C端前肽的RSV病毒抗原和免疫原，例如RSV F蛋白肽或其片段或表位。在一些实施方式中，胶原蛋白前肽来源于人 $\alpha 1$ 胶原蛋白C前肽，并能够自身三聚化。

[0047] 在一些实施方式中，将RSV病毒抗原和免疫原，如RSV F蛋白肽连接到胶原蛋白前肽，如胶原蛋白前肽C端，有助于蛋白质产生免疫应答的能力。例如，重组蛋白的产生可以保留RSV F蛋白肽的三级和四级结构，这可能对RSV F蛋白肽的天然构象的稳定性，进而对能够诱导免疫应答的蛋白质(例如中和抗体)的表面上抗原位点的可及性很重要。此外，将RSV F蛋白肽连接到能够自身三聚化的蛋白质或肽允许重组蛋白聚集，从而模拟病毒包膜上的RSV F蛋白肽的天然同三聚体结构。

[0048] 在一些实施方式中，将RSV F蛋白肽连接到胶原蛋白C端前肽产生了自身三聚化的重组多肽。在一些实施方式中，本文提供的蛋白质包含多个自身三聚化的RSV F蛋白肽和胶原蛋白重组多肽的前肽，任选地其中所述多个重组蛋白形成了例如莲座状(参见例如图2B PCT/CN2021/099286该PCT专利申请出于所有目的以引用的方式整体并入本文)的结构。在一些实施方式中，重组蛋白的三聚体特性有助于蛋白质的稳定性。在一些实施方式中，多个自身三聚化重组蛋白的宏观结构(例如莲座状)有助于蛋白质的稳定性。在一些实施方式中，重组蛋白的三聚体特性和多个自身三聚化重组蛋白的宏观结构(例如莲座状)有助于蛋白质的稳定性。在一些实施方式中，重组蛋白的三聚体特性有助于蛋白质产生免疫应答的能力。在一些实施方式中，多个自身三聚化重组蛋白的宏观结构(例如莲座状)有助于蛋白质产生免疫应答的能力。在一些实施方式中，重组蛋白的三聚体特性和多个自身三聚化重组蛋白的宏观结构有助于蛋白质产生免疫应答的能力。

[0049] 本文还提供了包含本文所提供的蛋白质的免疫原性组合物，产生本文所提供的蛋白质的方法，用本文所提供的蛋白质和组合物治疗受试者的方法，以及试剂盒。

[0050] 本申请所提及的所有出版物，包括专利文件、科学论文和数据库，都出于所有目的以引用的方式整体并入，其程度与各个别出版物以引用的方式单独并入相同。如果本文所述的定义与以引用的方式并入本文的专利、申请、公开申请和

其它出版物所述的定义相反或不一致，则本文所述的定义优先于以引用的方式并入本文的定义。

[0051] 本文所用的章节标题仅用于组织目的，而不应被视为限制所述主题。

[0052] 1.病毒抗原和免疫原

[0053] 呼吸道合胞病毒(RSV)是婴幼儿急性下呼吸道感染的最常见原因，也是老年人的主要疾病负荷。尽管在半个世纪前就表征了RSV病毒，但目前还只有有限的针对RSV的疫苗，而且20世纪60年代给药福尔马林灭活RSV的儿童中疫苗介导的疾病增强阻碍了开发工作。在RSV候选疫苗的抗原生产、纯度、稳定性和效力方面的挑战也一直是开发的障碍。

[0054] 在一些实施方式中，本文所提供的蛋白质包含RSV病毒抗原和/或免疫原。在一些实施方式中，RSV病毒抗原和/或免疫原能够促进或刺激细胞介导应答和/或体液应答。在一些实施方式中，应答(例如细胞介导应答或体液应答)包括产生抗体，例如中和抗体。在一些实施方式中，针对病毒抗原和/或免疫原的中和抗体(NAb)通过阻断易感细胞的感染提供了针对RSV暴露的适应性免疫防御。在一些实施方式中，疫苗针对若干种病毒的功效归因于和/或与其诱导NAb的能力相关。在一些实施方式中，RSV病毒抗原或免疫原是本文所公开的RSV F蛋白肽。

[0055] RSV F蛋白肽是呼吸道合胞病毒(RSV)的包膜糖蛋白。RSV F蛋白肽翻译为单一前体多肽(命名为F0)。RSV F蛋白介导病毒进入细胞中和细胞与细胞融合，是中和抗体的靶标，并且在RSV A和B毒株间高度保守。F0可以在Arg109和Arg136处被细胞弗林蛋白酶切割为三个片段，较短的F2多肽在N端通过两个二硫键共价连接到较长的F1多肽，后者具有在N端的18个氨基酸的融合结构域和在C端附近的疏水性跨膜区；并释放中间的27个氨基酸的片段。中和单克隆抗体帕利珠单抗和莫他珠单抗(motavizumab)结合到RSV F抗原位点II(Asn258-Val278)，并且已经被证明对高风险和足月婴儿的下呼吸道和上呼吸道RSV疾病具有保护作用。结合这些中和抗体的RSV F表位多肽的结构比线性肽大，帕利珠单抗以纳摩尔亲和力而莫他珠单抗以皮摩尔亲和力与RSV F结合。建模预测完全程度的帕利珠单抗和莫他珠单抗结合分别需要来自一个或两个RSV F原聚体的氨基酸。因此，保留

RSV F三级和四级结构在开发保留该重要中和区域的天然构象的RSV F疫苗中可能非常重要。

[0056] 在一些实施方式中，所述F0前体多肽的长度为574个氨基酸，如SEQ ID NO:31所示。

```

      10      20      30      40      50      60
MELLILKANAIITITLTAVTFCFASQONITEEFYQSTCSAVSRGYLSALRTGWYTSVITIE
      70      80      90     100     110     120
LSNIKENKCNCTEARVELIKQSLDEYKNAVTQLQLMQSTFPPTNRRAPSELPRFMNYTLN
     130     140     150     160     170     180
NAKSTNVTLSKKKKRRFLGLGYSALASGVAVSKVLHLGEVYNKIKSALLSTRKAVVS
     190     200     210     220     230     240
LSNGVSVLT9KVLDLKNYIDEQILFIVNMQSCSISNIETVLEFQQKNNRLLLEITREFSVN
     250     260     270     280     290     300
AGVITFPVSTYMLINSELLSLINDMPITNDQERLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEERVLAYV
     310     320     330     340     350     360
VQLPLYGVIDTFCWKLSTSPLCITNTKEG3NICLTRTRGWNWYCDNAGSVSFFPQAETCKV
     370     380     390     400     410     420
QSNRVFCDTMNSLTLPSEINLCNVDFINPFIYDCKIMTSKTDV3SSSVITSLGAIY9CYGKT
     430     440     450     460     470     480
KCTASNNKRGELIKTFSEGCDFVSNKGMQDTVSVGNTLYYVNNQEQKSLYVKGEPIINFYDP
     490     500     510     520     530     540
LVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDPELLRNVNAGKSTTRIMITITIIIVLIVILLS
     550     560     570
LIAVGLLLVCKARSTFVTLSEDKLSGGINNIAPSN
```

[0057] 在一些实施方式中，所述F0前体多肽的长度为574个氨基酸，如SEQ ID NO:32所示。

```

      10      20      30      40      50      60
MELLILKANAIITITLTAVTFCFASQONITEEFYQSTCSAVSRGYLSALRTGWYTSVITIE
      70      80      90     100     110     120
LSNIKENKCNCTDAKVKLIKQSLDKYKNAVTQLQLMQSTFPATNRRAPRELPRFMNYTLN
     130     140     150     160     170     180
NAKSTNVTLSKKRRRRFLGLGYSALASGVAVSKVLHLGEVYNKIKSALLSTRKAVVS
     190     200     210     220     230     240
LSNGVSVLTSEVLDLKNYIDEQILFIVNMQSCSISNIATVLEFQQKNNRLLLEITREFSVN
     250     260     270     280     290     300
AGVITFPVSTYMLINSELLSLINDMPITNDQERLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEERVLAYV
     310     320     330     340     350     360
VQLPLYGVISTPCWKLSTSPLCITNTKEG3NICLTRTRGWNWYCDNAGSVSFFPQAETCKV
     370     380     390     400     410     420
QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDFINPKYDCKIMTSKTDV3SSSVITSLGAIY9CYGKT
     430     440     450     460     470     480
KCTASNNKRGELIKTFSEGCDFVSNKGMQDTVSVGNTLYYVNNQEQKSLYVKGEPIINFYDP
     490     500     510     520     530     540
LVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDPELLRNVNAGKSTTRIMITITIIIVLIVILLS
     550     560     570
LIAVGLLLVCKARSTFVTLSEDKLSGGINNIAPSN
```

[0058] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基102处的脯氨酸或丙氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基102处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含

SEQ ID NO:31的残基102处被替换成了A。一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基218处的谷氨酸或丙氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基218处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基523处是由I替换成T。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基379处的缬氨酸或异亮氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基379处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基447处的缬氨酸或甲硫氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基447处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基102处的脯氨酸或丙氨酸、残基218处的谷氨酸或丙氨酸、残基379处的缬氨酸或异亮氨酸和残基447处的缬氨酸或甲硫氨酸中的任一个或多个处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基102、218、379和447中任一个或多个处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的其它残基中任一个或多个处和/或附近的替换、缺失和/或插入。

- [0059] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基106、107、108和/或109处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基108和/或109处的谷氨酰胺或天冬酰胺。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基108和109处的谷氨酰胺。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含残基108和109处的天冬酰胺。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基131、132、133、134、135和/或136处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基131、132、133、134、135和/或136处和/或附近的甘氨酸、精氨酸、谷氨酰胺或天冬酰胺。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的

残基131、132、133、134、135和/或136处的谷氨酰胺。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基133、135和136处的谷氨酰胺。

[0060] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、107、108，109，133，135,136一处或多处的替换，替换的氨基酸自由选自半胱氨酸,丙氨酸,苏氨酸,缬氨酸,甘氨酸，或丝氨酸或其任意的组合。

[0061] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、107、108，109，133，135,136一处或多处的替换。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、108，109，133，135,136一处或多处的进行了替换。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、108，109，133,135,136一处或多处的替换成了半胱氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、108，109，133,135,136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108，109，133,135,136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基109，133，135,136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基133、135、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基135和136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基136替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133、135、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、135、136全部

替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133、135全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、135全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、135全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、133全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、133全部替换成了半胱氨酸。

- [0062] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基109、136、161和/或215处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基109、136、161和/或215中任一个或多个处的丙氨酸或脯氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基109处的丙氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基136处的丙氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基109和136处的丙氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基161处的脯氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基215处的脯氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或

32的残基161和215处的脯氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基109和136处的丙氨酸以及残基161和215处的脯氨酸。

[0063] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基131-154中任一个或多个处和/或附近的替换、缺失和/或插入。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基131-154中的2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个或更多个的缺失。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基137-154中任一个或多个的缺失。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基137-146中任一个或多个的缺失。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:31或32的残基133、135和136处的谷氨酰胺和残基137-146的缺失。

[0064] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含F0前体的氨基酸1-25，其是信号肽MELLILKANAITTILTAVTFCFASG(SEQ ID NO:33)。在一些实施方式中，所述前体多肽F0形成了前体三聚体。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽被一个或多个细胞蛋白酶水解切割，例如在保守弗林蛋白酶一致切割位点处，以产生Pep 27多肽(也称为p27)、F1多肽和F2多肽。在一些实施方式中，Pep 27多肽(例如，F0前体的氨基酸110-136)被切除，在一些方面，没有成为成熟RSV F三聚体的一部分。在一些实施方式中，F2多肽(本文可以替代地称为“F2”或“F2亚单位肽”)包含F0前体的氨基酸残基26-109。在一些实施方式中，F1多肽(本文可以替代地称为“F1”或“F1亚单位肽”)包含F0前体的氨基酸残基137-574，并可包含细胞外区(例如残基137-524)、跨膜结构域(例如残基525-550)和胞质结构域(例如残基551-574)。

[0065] 在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含F1和F2多肽，二者通过二硫键连接以形成异二聚体，称为RSV F“原聚体”。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含形成RSV F三聚体的三个原聚体，因此它是所述三个原聚体的同三聚体。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽是成熟RSV F三聚体。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽是膜结合型。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽不是膜结合型。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽是可溶性的并缺乏

跨膜区和胞质区或其片段。例如，可以通过在氨基酸513(通过去除514起的氨基酸)、514、515、516、517、518、519、520、521、522、523或524处截短RSV F蛋白来实现向可溶性形式转化。在自然界中，成熟RSV F三聚体介导病毒和细胞膜融合。成熟RSV F三聚体的融合前构象(本文可称为“pre-F”或融合前)高度不稳定(亚稳定)。然而，一旦RSV病毒与细胞膜对接后，RSV F蛋白三聚体就进行一系列构象变化并过渡到高度稳定的融合后(“post-F”)构象。

[0066] 在一些实施方式中，RSV病毒抗原或免疫原包含信号肽(SP)(例如SEQ ID NO:31或32的氨基酸1-22)或其片段和/或突变序列、七肽重复序列C(HRC)(例如F2，它可以是SEQ ID NO:31或32的氨基酸23-109)或其片段和/或突变序列、弗林蛋白酶切割位点(FCS)(例如在SEQ ID NO:31或32的氨基酸109/110之间的交界处)或其片段和/或突变序列、27聚体片段(pep27)(例如SEQ ID NO:31或32的氨基酸110-136)或其片段和/或突变序列、推定融合肽(FP)(例如SEQ ID NO:31或32的氨基酸137-155)或其片段和/或突变序列、七肽重复序列A(HRA)(例如SEQ ID NO:31或32的氨基酸156-214)或其片段和/或突变序列、结构域I和II(例如SEQ ID NO:31或32的氨基酸215-476)或其片段和/或突变序列、七肽重复序列B(HRB)(例如SEQ ID NO:31或32的氨基酸477-524)或其片段和/或突变序列、跨膜(TM)结构域(例如，SEQ ID NO:31或32的氨基酸525-550)或其片段和/或突变序列、和/或胞质(CP)结构域(例如，SEQ ID NO:31或32的氨基酸551-574)或其片段和/或突变序列的任何合适的组合。

[0067] 在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是RSV A亚型的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是RSV A2亚型的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是RSV B亚型的RSV F蛋白肽。在一些情况下，所述RSV F蛋白肽在RSV亚型间保守。

[0068] 在一些情况下，所述RSV病毒抗原或免疫原是RSV F蛋白肽的片段。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是RSV F蛋白肽的表位。在一些实施方式中，所述表位是线性表位。在一些实施方式中，所述表位是构象表位。在一些实施方式中，所述表位是中和表位位点，例如位点I、II或IV。在一些实施方式中，RSV F蛋白肽或其片段的所有中和表位都作为RSV病毒抗原或免疫原存在。

[0069] 在一些情况下，例如当所述RSV病毒抗原或免疫原是RSV F蛋白肽的片段时，仅存在所述RSV F蛋白肽的单个亚单位。

[0070] 在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是或包含F1亚单位肽。在一些实施方式中，所述F1亚单位肽是或包含野生型F蛋白的137-574的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是或包含F2亚单位肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有信号肽、七肽重复序列C(HRC)肽、pep27肽、融合肽(FP)、七肽重复序列A(HRA)肽、结构域I肽、结构域II肽或七肽重复序列B(HRB)肽或其任何组合的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有信号肽的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有pep27肽的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有融合肽(FP)(又称为融合结构域(FD))的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有信号肽、pep27肽和融合肽(FP)的RSV F蛋白肽。

[0071] 在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有F蛋白的F1亚单位和F2亚单位的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有F蛋白的F1亚单位肽和F2亚单位肽而不含pep 27肽的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有F蛋白的F1亚单位肽、F2亚单位肽和pep 27肽的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有F蛋白的F1亚单位肽、F2亚单位肽、pep 27肽和FP的RSV F蛋白肽。

[0072] 在一些情况下，例如当所述病毒抗原或免疫原包含RSV F蛋白肽的F1亚单位肽和F2亚单位肽二者时，F1和F2亚单位是连接的。在一些实施方式中，F1和F2亚单位通过二硫键连接。在一些实施方式中，F1和F2亚单位通过人工引入的连接物连接。在一些实施方式中，F1和F2亚单位通过pep27肽连接。例如，在一些实施方式中，从N端到C端的方向是或包含F2-pep27-F1。在一些实施方式中，从N端到C端的方向是或包含F2-pep27-FP-F1(F2-pep27-FD-F1)。在一些实施方式中，FP被视为F1亚单位肽的结构特征。

- [0073] 在一些情况下, RSV病毒抗原或免疫原是不含跨膜(TM)结构域肽的RSV F蛋白肽。在一些情况下, 所述RSV F蛋白不含胞质(CP)结构域肽。在一些情况下, 所述RSV F蛋白不含TM结构域肽或CP结构域肽。
- [0074] 在一些实施方式中, 所述RSV病毒抗原或免疫原包含含有蛋白酶切割位点的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中, 所述蛋白酶切割位点对蛋白酶弗林蛋白酶的切割特异。在一些实施方式中, 所述蛋白酶切割位点对蛋白酶胰蛋白酶的切割特异。在一些实施方式中, 所述蛋白酶切割位点对蛋白酶因子Xa的切割特异。在一些实施方式中, 所述蛋白酶切割位点对蛋白酶组织蛋白酶L的切割特异。
- [0075] 在一些情况下, 所述RSV病毒抗原或免疫原包含不含蛋白酶切割位点的RSV F蛋白肽。在一些情况下, 所述RSV病毒抗原或免疫原包含不含对蛋白酶弗林蛋白酶的切割特异的蛋白酶切割位点的RSV F蛋白肽。在一些情况下, 所述RSV病毒抗原或免疫原包含不含对蛋白酶胰蛋白酶的切割特异的蛋白酶切割位点的RSV F蛋白肽。在一些情况下, 所述RSV病毒抗原或免疫原包含不含对蛋白酶因子Xa的切割特异的蛋白酶切割位点的RSV F蛋白肽。在一些情况下, 所述RSV病毒抗原或免疫原包含不含对蛋白酶组织蛋白酶L的切割特异的蛋白酶切割位点的RSV F蛋白肽。
- [0076] 在一些实施方式中, 所述RSV病毒抗原或免疫原包含可溶性RSV F蛋白肽。在一些实施方式中, 所述可溶性RSV F蛋白肽缺乏TM结构域肽和CP结构域肽。在一些实施方式中, 所述可溶性RSV F蛋白肽不结合到脂质双分子层, 如膜或病毒包膜。
- [0077] 在一些实施方式中, 所述RSV F蛋白肽由经过密码子优化的核酸序列产生。在一些实施方式中, 所述RSV F蛋白肽由未经过密码子优化的核酸序列产生。
- [0078] 在一些实施方式中, 所述RSV F蛋白肽可以包含本领域已知的任何F蛋白序列, 如美国专利号10,017,543公开的那些序列, 该美国专利出于所有目的以引用的方式整体并入本文。
- [0079] 在一些实施方式中, 所述RSV病毒抗原或免疫原是或包含具有SEQ ID NO:31或32的1-520的氨基酸序列的RSV F蛋白肽。在一些实施方式中, 所述RSV病毒

抗原或免疫原是或包含具有SEQ ID NO:31或32的26-520的氨基酸序列的RSV F蛋白肽。

[0080] 在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是或包含F2的序列、pep27的序列和F1的序列(如F2-pep27-F1)。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含融合肽暴露并具有融合后构象。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含弗林蛋白酶切割位点突变。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含弗林蛋白酶位点I突变(例如R109A)和/或弗林蛋白酶位点II突变(例如R136A)，在这些实例中的一些中，所述RSV病毒抗原或免疫原具有融合后构象，而在其它实例中，所述RSV病毒抗原或免疫原具有融合前构象。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含弗林蛋白酶位点I突变和弗林蛋白酶位点II突变(例如R109A/R136A)，在这些实例中的一些中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含全长F0，无融合肽暴露并具有融合前构象。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含一个或多个突变，所述突变防止形成长螺旋和/或稳定 $\alpha 4-\alpha 5$ 铰链环。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含一个或多个突变，所述突变保留融合前构象。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含一个或多个突变，所述突变改善了表达。在一些实施方式中，位置161、182和215的替换(例如，用脯氨酸)引起更高表达水平，E161P和S215P还增加了蛋白质稳定性。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含E161P和/或S215P并具有融合前构象。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原包含R109A、R136A、E161P和/或S215P并具有融合前构象。

[0081] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:17所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:17的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0082] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:18所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:18的序列

具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0083] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:19所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:19的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0084] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:20所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:20的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0085] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:21所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:21的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0086] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:22所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:22的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

- [0087] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:23所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:23的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0088] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:24所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:24的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0089] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:25所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:25的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0090] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:26所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:26的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0091] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:27所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:27的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同

一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0092] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:28所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:28的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0093] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:29所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:29的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0094] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:30所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:30的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0095] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:31所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:31的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0096] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:32所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:32的序列

具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0097] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:32所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:32的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由A替换为E，同时，残基106、107、108，109，133，135,136一处或多处的替换。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由A替换为E，同时，残基106、108，109，133，135,136一处或多处的进行了替换。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、108，109，133,135,136一处或多处的替换成了半胱氨酸。在一些实施方式中，本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、108，109，133,135,136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108，109，133,135,136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基109，133,135,136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基133、135、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基135和136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基136替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基135替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基

218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133、135、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、135、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133、135全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、135全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、136全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、135全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基106、133全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、133全部替换成了半胱氨酸。本文的RSV F蛋白肽包含SEQ ID NO:32的残基218处可由丙氨酸替换为谷氨酸，同时，残基108、133全部替换成了半胱氨酸。

[0098] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:33所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:33的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0099] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:34所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:34的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、8

9%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0100] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:35所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:35的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0101] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:36所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:36的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0102] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:37所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:37的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0103] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:38所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:38的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

- [0104] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:39所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:39的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0105] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:40所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:40的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0106] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:41所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:41的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0107] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:42所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:42的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。
- [0108] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:43所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:43的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同

一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0109] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:44所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:44的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0110] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:45所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:45的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0111] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:46所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:46的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0112] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含SEQ ID NO:47所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:47的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0113] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含自由选自SEQ ID NO:72-79所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗

原或免疫原包含与自由选自SEQ ID NO:64-79的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0114] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含自由选自SEQ ID NO:76所示的序列。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原包含与SEQ ID NO:76的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置上包含替换、缺失和/或插入的序列。

[0115] 在一些实施方式中，本文的病毒抗原或免疫原可以包含RSV糖蛋白(G)或其片段、变体或突变体；RSV小疏水性蛋白(SH)或其片段、变体或突变体；RSV融合蛋白(F)或其片段、变体或突变体；RSV基质蛋白(M)或其片段、变体或突变体；RSV核蛋白(N)或其片段、变体或突变体；RSV磷蛋白(P)或其片段、变体或突变体；RSV“大”蛋白(L)或其片段、变体或突变体；M2-1蛋白或其片段、变体或突变体；RSV M2-2蛋白或其片段、变体或突变体；RSV NS-1蛋白或其片段、变体或突变体；或RSV Ns-2蛋白或其片段、变体或突变体；或其任何组合。

[0116] 在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原由经过密码子优化的核酸序列产生。在一些实施方式中，所述病毒抗原或免疫原由未经过密码子优化的核酸序列产生。

[0117] 在一些实施方式中，本文所提及的RSV病毒抗原或免疫原可以包括包含所述病毒抗原或免疫原的重组多肽或融合多肽。术语病毒抗原或免疫原可用于指包含RSV病毒抗原或免疫原的蛋白质。在某些情况下，所述RSV病毒抗原或免疫原是如本文所提供的RSV蛋白肽。

[0118] II. 重组肽和蛋白质

[0119] 设想了本文提供的RSV病毒抗原和免疫原，例如RSV F蛋白肽(参见第I节)可以与其它蛋白质或肽组合，例如连接，以形成重组多肽，包括融合肽。在一些实

施方式中，本文提供的个体重组多肽(例如单体)缔合形成重组多肽的多聚体，例如三聚体。在一些实施方式中，个体重组多肽单体的缔合通过共价相互作用发生。在一些实施方式中，个体重组多肽单体的缔合通过非共价相互作用发生。在一些实施方式中，相互作用(例如共价或非共价)受RSV病毒抗原或免疫原(例如RSV F蛋白肽)所连接的蛋白质或肽影响。在一些实施方式中，例如当RSV病毒抗原或免疫原是如本文所述的RSV F蛋白肽时，可以选择其将要连接的蛋白质或肽，以便保留糖蛋白的天然同三聚体结构。这可能有利于激起对RSV F蛋白肽的强烈且有效的免疫原性应答。例如，保留和/或保持RSV病毒抗原或免疫原(例如RSV F蛋白肽)的天然构象可以改善或允许接近能够产生免疫应答的抗原位点。在一些情况下，包含本文所述的RSV F蛋白肽(例如参见第I节)的重组多肽在本文中替代地称为重组RSV F抗原、重组RSV F免疫原或重组RSV F蛋白。

[0120] 还设想了在一些情况下，所述重组多肽或其多聚化重组多肽聚集或可以聚集以形成包含多个RSV病毒抗原和/或免疫原重组多肽的蛋白质。此类蛋白质的形成可能有利于对RSV病毒抗原和/或免疫原产生强烈且有效的免疫原性应答。例如，包含多个重组多肽的蛋白质的形成以及因此多个RSV病毒抗原(例如RSV F蛋白肽)的形成可以保留病毒抗原的三级和/或四级结构，从而允许加强针对天然结构的免疫应答。在一些情况下，聚集可以赋予RSV病毒抗原或免疫原结构稳定性，进而可以接近能够促进免疫应答的潜在抗原位点。

[0121] 1.融合肽和重组多肽

[0122] 在一些实施方式中，RSV病毒抗原或免疫原可以在其C端连接(C端连接)到三聚化结构域，以促进单体三聚化。在一些实施方式中，三聚化稳定了呈三聚体构象的RSV病毒抗原或免疫原(例如RSV F蛋白肽)的膜近端状况。

[0123] 促进可溶性重组蛋白稳定三聚体的外源多聚化结构域的非限制性实例包括：GCN4亮氨酸拉链(Harbury等人,1993 Science 262:1401-1407)、来自肺表面活性蛋白的三聚化基序(Hoppe等人,1994 FEBS Lett 344:191-195)、胶原蛋白(McAlinden等人,2003 J Biol Chem 278:42200-42207)和噬菌体T4次要纤维蛋白折叠子(Miroshnikov等人,1998 Protein Eng 11:329-414)，其中任一种都可以连接到本文所述的重组RSV病毒抗原或免疫原(例如，通过连接到RSV F肽的C端)，以促进

重组病毒抗原或免疫原的三聚化。另参见美国专利号7,268,116、7,666,837、7,691,815、10,618,949、10,906,944和10,960,070，以及US 2020/0009244，这些专利出于所有目的以引用的方式整体并入本文。

- [0124] 在一些实施方式中，可以使用一个或多个肽连接物(如gly-ser连接物，例如10个氨基酸的甘氨酸-丝氨酸肽连接物)连接重组病毒抗原或免疫原与多聚化结构域。所述三聚体可以包括本文所述的任何稳定化突变(或其组合)，只要重组病毒抗原或免疫原三聚体保留所需特性(例如，融合前构象)即可。
- [0125] 为了在治疗上可行，用于生物药物设计的所需的三聚化蛋白部分应当满足以下标准。理想地，它应当是天然分泌蛋白质的一部分，如免疫球蛋白Fc，在循环中也很丰富(无毒)，来源于人类(缺少免疫原性)，相对稳定(半衰期长)，并能够有效地自身三聚化(通过链间共价二硫键加强)，因此三聚化RSV病毒抗原或免疫原结构稳定。
- [0126] 胶原蛋白属于纤维蛋白家族，是细胞外基质的主要组分。它是哺乳动物中最丰富的蛋白质，占体内总蛋白质的近25%。胶原蛋白在骨骼、肌腱、皮肤、角膜、软骨、血管和牙齿形成中起主要结构作用。胶原蛋白I、II、III、IV、V和XI的纤维类型都合成为较大的三聚体前体，称为前胶原蛋白，其中由数百个“G-X-Y”重复序列(或甘氨酸重复序列)组成的中心不间断三螺旋结构域侧接有非胶原结构域(NC)、N前肽和C前肽。C端和N端延伸在前胶原蛋白分泌后都受到蛋白水解处理，这一事件触发了成熟蛋白组装成胶原蛋白原纤维，由此形成不溶性细胞基质。BMP-1是一种蛋白酶，它识别甘氨酸重复序列与胶原蛋白C前结构域之间的交界附近的前胶原蛋白的特定肽序列，并负责除去前肽。发现I型胶原蛋白的脱落三聚体C前肽在正常成年人类血清中的浓度在50-300ng/mL的范围内，儿童的水平高得多，表明骨形成活跃。在具有家族性高血清I型胶原蛋白C前肽浓度的人中，所述水平可以高达1-6 μg/mL，无明显异常，表明C前肽无毒。对胶原蛋白三聚体C前肽的结构研究表明，它是一种三叶结构，其中所有三个亚单位在其N端附近的联结区中聚在一起，连接到前胶原蛋白分子的其余部分。这种待融合的蛋白质在一个方向上伸出的几何形状类似于Fc二聚体的几何形状。

[0127] I型、IV型、V型和XI型胶原蛋白主要组装成由两个 $\alpha-1$ 链和一个 $\alpha-2$ 链(对于I型、IV型、V型)或三个不同的序列上高度同源的链(对于XI型)组成的异源三聚体形式。II型和III型胶原蛋白都是 $\alpha-1$ 链的同三聚体。对于I型胶原蛋白这种最丰富的胶原蛋白形式,也形成稳定的 $\alpha(I)$ 同三聚体,并以可变水平存在于不同的组织中。这些胶原蛋白C前肽链中大部分当单独在细胞中过度表达时可以自身组装成同三聚体。虽然首先合成N前肽结构域,但分子组装成三聚体胶原蛋白始于C前肽的相互配准缔合。认为C前肽复合物通过形成链间二硫键来稳定化,但二硫键形成对于适合的链配准的必要性还不清楚。重复甘氨酸三螺旋,然后以拉链样方式从缔合的C端传播到N端。这一认识已经通过使用重组DNA技术交换不同胶原蛋白链的C前肽而产生了非天然类型的胶原蛋白基质。非胶原蛋白如细胞因子和生长因子也被融合到原胶原蛋白或成熟胶原蛋白的N端以形成新的胶原蛋白基质,此举旨在允许非胶原蛋白从细胞基质缓慢释放。然而,在这两种情况下,都需要在重组胶原蛋白原纤维组装成不溶性细胞基质之前切割C前肽。

[0128] 尽管以前已描述其他蛋白质三聚化结构域例如来自于酵母的GCN4、噬菌体T4的次要纤维蛋白和大肠杆菌(*Escherichia coli*)的天冬氨酸转氨甲酰酶的三聚化结构域允许异源蛋白的三聚化,但这些三聚化蛋白质均不是天然的人类蛋白,它们也不是天然分泌的蛋白质。因此,任何三聚体融合蛋白都必须在细胞内产生,这不仅可能导致天然分泌蛋白(如可溶性受体)折叠不正确,而且还使得难以从数以千计的其它细胞内蛋白中纯化这种融合蛋白。此外,使用这种非人类蛋白质三聚化结构域(例如来自酵母、噬菌体和细菌)进行三聚体生物药物设计的致命缺点是它们在人体中的假定免疫原性,使得这种融合蛋白在它们注射到人体中后不久就变得无效。

[0129] 因此,如本文所述在重组多肽中使用胶原蛋白具有许多优点,包括:(1)胶原蛋白是哺乳动物体内分泌的最丰富的蛋白质,占体内总蛋白质的近25%;(2)胶原蛋白的主要形式自然作为三聚体螺旋存在,它们的球状C前肽负责引发三聚化;(3)发现成熟胶原蛋白水解释放的胶原蛋白三聚体C前肽自然以亚微克/毫升水平存在于哺乳动物血液中,并且已知对身体无毒性;(4)胶原蛋白的线性三螺旋区域可以作为连接物包括在内,预测每个残基的间距为2.9 Å,或者可以被排除在所

述融合蛋白的部分之外，因此可以精确调节要三聚化的蛋白质与胶原蛋白C前肽之间的距离，以实现最佳生物活性；(5)从前胶原蛋白切掉C前肽的BMP1识别位点可以被突变或缺失，以防止破坏三聚体融合蛋白；(6)C前肽结构域通过二硫键自身三聚化，它提供了通用亲和力标签，可用于纯化所产生的任何分泌的融合蛋白。在一些实施方式中，RSV病毒抗原和免疫原(例如RSV F蛋白肽)连接到的胶原蛋白C前肽使得能够重组产生可溶性共价连接的同三聚体融合蛋白。

[0130] 在一些实施方式中，RSV病毒抗原或免疫原连接到胶原蛋白C端前肽以形成重组多肽。在一些实施方式中，所述重组多肽的C端前肽形成了多肽间二硫键。在一些实施方式中，所述重组蛋白质形成了三聚体。在一些实施方式中，所述RSV病毒抗原或免疫原是如第I节所述的RSV F蛋白肽。

[0131] 在一些实施方式中，所述C端前肽属于人类胶原蛋白。在一些实施方式中，所述C端前肽包含pro α 1(I)、pro α 1(II)、pro α 1(III)、pro α 1(V)、pro α 1(XI)、pro α 2(I)、pro α 2(V)、pro α 2(XI)或pro α 3(XI)的C端多肽或其片段。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含pro α 1(I)的C端多肽。

[0132] 在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:48所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:48的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:49的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽呈现与SEQ ID NO:50的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:51的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:52的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，

所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:53的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。

[0133] 在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:54的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:55的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:56所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:56的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:57的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:58的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:59的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。

[0134] 在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:60的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:61的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:62的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性

的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，所述C端前肽是与SEQ ID NO:63的序列具有至少或约85%、90%、92%、95%或97%序列同一性的氨基酸序列。

[0135] 在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含胶原蛋白三聚化结构域(例如，人 $\alpha 1(I)$ 胶原蛋白的C前肽)的氨基酸序列，其中BMP-1位点中天冬氨酸(D)替换为天冬酰胺(N)，例如其中RAD突变为RAN。在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含胶原蛋白三聚化结构域(例如，人 $\alpha 1(I)$ 胶原蛋白的C前肽)的氨基酸序列，其中BMP-1位点中丙氨酸(A)替换为天冬酰胺(N)，例如其中RAD突变为RND。在一些实施方式中，本文的C端前肽可以包含突变的BMP-1位点，例如RSAN替代DDAN。在一些实施方式中，本文的C端前肽可以包含BMP-1位点，例如包含RAD(例如RADDAN)序列而不是RAN(例如RANDAN)或RND(例如RNDDAN)的序列可用于本文公开的融合多肽中。

[0136] 在一些实施方式中，所述C端前肽是或包含作为SEQ ID NO:48-63中任一个的片段的氨基酸序列。

[0137] 在一些实施方式中，所述C端前肽可以包含含有甘氨酸-X-Y重复序列的序列，其中X和Y独立地为任何氨基酸，或与其具有至少85%、90%、92%、95%或97%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。在一些实施方式中，X和Y独立地为脯氨酸或羟脯氨酸。

[0138] 在其中RSV F肽蛋白(例如RSV病毒抗原或免疫原，例如参见第I节)连接到C端前肽以形成重组多肽的一些情况下，所述重组多肽形成了三聚体，从而产生RSV F蛋白肽的同三聚体。在一些实施方式中，三聚化重组多肽含有拐杖形棒状的F蛋白肽三聚体。在一些实施方式中，三聚化重组多肽的RSV F蛋白肽呈融合前构象。在一些实施方式中，三聚化重组多肽的RSV F蛋白肽呈融合后构象。在一些实施方式中，所述构象状态允许接近F蛋白肽上的不同抗原位点。在一些实施方式中，所述抗原位点是表位，如线性表位或构象表位。具有所述三聚化重组多肽的一个优点是可以加强针对各种潜在不同抗原位点的免疫应答。

[0139] 在一些实施方式中，三聚化重组多肽包括含有相同病毒抗原或免疫原的个体重组多肽。在一些实施方式中，三聚化重组多肽包括各自包含与其他重组多肽不

同的病毒抗原或免疫原的个体重组多肽。在一些实施方式中，三聚化重组多肽包括个体重组多肽，其中所述个体重组多肽之一包含不同于其它重组多肽的病毒抗原或免疫原。在一些实施方式中，三聚化重组多肽包括个体重组多肽，其中所述个体重组多肽中的两个包含相同病毒抗原或免疫原，并且所述病毒抗原或免疫原不同于其余重组多肽所包含的病毒抗原或免疫原。

[0140] 在一些实施方式中，所述重组多肽包含第I节所述的任何RSV病毒抗原或免疫原。在一些实施方式中，所述重组多肽包括第I节所述的任何RSV病毒抗原或免疫原，其如本文所述那样连接到如本文所述的胶原蛋白C端前肽。

[0141] 在一些实施方式中，所述重组多肽或所述融合蛋白包含连接到SEQ ID NO:48-63中任一个所示的第二序列的SEQ ID NO:17-47，和72-79中任一个所示的第一序列，其中所述第一序列的C端直接连接到所述第二序列的N端。

[0142] 在一些实施方式中，所述重组多肽或所述融合蛋白包含连接到SEQ ID NO:48-63中任一个所示的第二序列的SEQ ID NO:17-47，和72-79中任一个所示的第一序列，其中所述第一序列的C端间接地连接到所述第二序列的N端，例如通过连接物。在一些实施方式中，所述连接物包含含有甘氨酸-X-Y重复序列的序列。

[0143] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:1所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:1的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:1的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

- [0144] 在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:2所示的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:2的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列,包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:2的变体,所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。
- [0145] 在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:3所示的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:3的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列,包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:3的变体,所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。
- [0146] 在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:4所示的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:4的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨

基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:4的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0147] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:5所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:5的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:5的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0148] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:6所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:6的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包

含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:6的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0149] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:7所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:7的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:7的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0150] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:8所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:8的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:8的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0151] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:9所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:9的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:9的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0152] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:10所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:10的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:10的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0153] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:11所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:11的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性

的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:11的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0154] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:12所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:12的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:12的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0155] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:13所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:13的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何

组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:13的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0156] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:14所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:14的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:14的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

[0157] 在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:15所示的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:15的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列，包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中，所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:15的变体，所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

- [0158] 在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:16所示的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:16的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列,包括在一个或多个氨基酸位置如102、106、107、108、109、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:16的变体,所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。
- [0159] 在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含自由选自SEQ ID NO:64-71所示的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含与自由选自SEQ ID NO:64-71的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列。
- [0160] 在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:64所示的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含与SEQ ID NO:64的序列具有至少或约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列,包括在一个或多个氨基酸位置如102、107、109、131、132、134、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、161、215、218、379或447(相对于SEQ ID NO:31或32的氨基酸位置)或其任何组合上包含替换、缺失和/或插入的序列。在一些实施方式中,所述重组多肽是或包含SEQ ID NO:64的变体,所述变体包括选自P102A、R109A、R136A、E161P、E218A、S215P、I379A和M447V的任一个、两个、三个、四个、五个或更多个突变或其任何组合。

- [0161] 如上文所指出，在一些实施方式中，本文提供的重组多肽不仅缔合形成三聚体，而且还可以聚集或被聚集以产生包含多个重组多肽的蛋白质。在一些实施方式中，所形成的蛋白质具有宏观结构。在一些情况下，宏观结构可以赋予RSV病毒抗原或免疫原重组多肽结构稳定性，进而可以接近能够促进免疫应答的潜在抗原位点。
- [0162] 在一些实施方式中，三聚化重组多肽聚集以形成含有多个三聚化重组多肽的蛋白质。在一些实施方式中，所述多个三聚化重组多肽形成了具有宏观结构的蛋白质。在一些实施方式中，所述蛋白质包括包含拐杖形棒状F蛋白肽三聚体的莲座样寡聚物。
- [0163] 在一些实施方式中，本文提供了一种复合物，所述复合物包含选自SEQ ID NO:1-16和64-71的重组多肽或其片段、变体或突变体的任何合适的组合。在一些实施方式中，本文提供了一种复合物，所述复合物包含选自SEQ ID NO:1-16和64-71的重组多肽或其片段、变体或突变体的三聚体，其中所述重组多肽通过多肽间二硫键三聚化以形成所述三聚体。
- [0164] 在一些实施方式中，本文所述的包含多个重组多肽的蛋白质是免疫原。在一些实施方式中，本文所述的包含多个重组多肽的蛋白质包含在纳米粒子中。例如，在一些实施方式中，所述蛋白质直接连接到纳米粒子，例如蛋白质纳米粒子。在一些实施方式中，所述蛋白质间接地连接到纳米粒子。在一些实施方式中，本文所述的包含多个重组多肽的蛋白质包含在病毒样粒子(VLP)中。
- [0165] 2.多核苷酸和载体
- [0166] 还提供了编码本文所提供的RSV抗原或免疫原和重组多肽的多核苷酸(核酸分子)，以及用于基因工程改造细胞以表达此类RSV抗原或免疫原和重组多肽的载体。
- [0167] 在一些实施方式中，提供了编码本文所提供的重组多肽的多核苷酸。在一些方面，所述多核苷酸含有单个核酸序列，如编码重组多肽的核酸序列。在其它情况下，所述多核苷酸含有编码包含特定RSV病毒抗原或免疫原的重组多肽的第一核酸序列和编码包含不同的RSV病毒抗原或免疫原的重组多肽的第二核酸序列。

- [0168] 在一些实施方式中，编码重组多肽的多核苷酸含有至少一个启动子，所述启动子可操作地连接以控制所述重组多肽的表达。在一些实施方式中，所述多核苷酸含有两个、三个或更多个启动子，所述启动子可操作地连接以控制所述重组多肽的表达。
- [0169] 在一些实施方式中，例如，当所述多核苷酸含有两个或更多个核酸编码序列，如编码包含不同RSV病毒抗原或免疫原的重组多肽的序列时，至少一个启动子可操作地连接以控制所述两个或更多个核酸序列的表达。在一些实施方式中，所述多核苷酸含有两个、三个或更多个启动子，所述启动子可操作地连接以控制所述重组多肽的表达。
- [0170] 在一些实施方式中，所述重组多肽的表达是诱导性的或条件性的。因此，在一些方面，编码重组多肽的多核苷酸含有条件性启动子、增强子或反式激活子。在一些这种方面，所述条件性启动子、增强子或反式激活子是诱导性启动子、增强子或反式激活子，或者抑制性启动子、增强子或反式激活子。例如，在一些实施方式中，可以使用诱导性或条件性启动子使重组多肽的表达局限于具体的微环境。在一些实施方式中，通过暴露于外源因子如热、辐射或药物来调控由诱导性或条件性启动子驱动的表达。
- [0171] 在多核苷酸含有多于一个编码重组多肽的核酸序列的情况下，所述多核苷酸还可以在一个或多个核酸序列之间包括编码肽的核酸序列。在一些情况下，位于核酸序列之间的核酸编码的肽在翻译过程中或翻译后隔开了核酸序列的翻译产物。在一些实施方式中，所述肽含有内部核糖体进入位点(IRES)、自切割肽或导致核糖体跳跃的肽，如T2A肽。
- [0172] 在一些实施方式中，将编码重组多肽的多核苷酸引入含有培养细胞(例如宿主细胞)的组合物中，如通过逆转录病毒转导、转染或转化。在一些实施方式中，这可以允许表达(例如，产生)重组多肽。在一些实施方式中，所表达的重组多肽被纯化。
- [0173] 在一些实施方式中，本文提供的多核苷酸(核酸分子)编码如本文所述的RSV病毒抗原或免疫原。在一些实施方式中，本文提供的多核苷酸(核酸分子)编码包含RSV病毒抗原或免疫原的重组多肽，例如本文所述的RSV F肽蛋白。

- [0174] 还提供了含有如本文所述的核酸分子的载体或构建体。在一些实施方式中，所述载体或构建体含有一个或多个启动子，所述启动子可操作地连接到编码重组多肽的核酸分子以驱动其表达。在一些实施方式中，所述启动子可操作地连接到一个或多于一个核酸分子，例如编码含有不同RSV病毒抗原或免疫原的重组多肽的核酸分子。
- [0175] 在一些实施方式中，所述载体是病毒载体。在一些实施方式中，所述病毒载体是逆转录病毒载体。在一些实施方式中，所述逆转录病毒载体是慢病毒载体。在一些实施方式中，所述逆转录病毒载体是 γ 逆转录病毒载体。
- [0176] 在一些实施方式中，所述载体或构建体包括单个启动子，所述启动子驱动多核苷酸的一个或多个核酸分子的表达。在一些实施方式中，此类启动子可以是多顺反子(双顺反子或三顺反子，参见例如美国专利号6,060,273)。例如，在一些实施方式中，转录单元可以工程改造为含有IRES(内部核糖体进入位点)的双顺反子单元，由此允许通过来自单个启动子的信号共表达基因产物(例如，编码不同的重组多肽)。在一些实施方式中，本文提供的载体是双顺反子的，从而允许所述载体含有和表达两个核酸序列。在一些实施方式中，本文提供的载体是三顺反子的，从而允许所述载体含有和表达三个核酸序列。
- [0177] 在一些实施方式中，单个启动子指导RNA表达，所述RNA在单个开放阅读框(ORF)中含有两个或三个基因(例如编码嵌合信号传导受体和编码重组受体)，所述基因通过编码自切割肽(例如2A序列)或蛋白酶识别位点(例如弗林蛋白酶)的序列彼此隔开。所述ORF因此编码单个多肽，所述多肽在翻译过程中(在2A的情况下)或翻译后被加工成个体蛋白质。在一些情况下，所述肽如T2A可能导致核糖体跳过(核糖体跳跃)合成2A元件C端的肽键，导致2A序列末端与下一个下游肽分开(参见例如de Felipe. *Genetic Vaccines and Ther.* 2:13(2004)；以及deFelipe等人, *Traffic* 5:616-626(2004))。许多2A元件是本领域已知的。可用于本文公开的方法和核酸的2A序列的实例包括但不限于美国专利公开号20070116690所述的来自口蹄疫病毒(F2A)、马甲型鼻炎病毒(E2A)、明脉扁刺蛾病毒(*Thosesa asigna*)(T2A)和猪捷申病毒-1(P2A)的2A序列。

[0178] 在一些实施方式中,所述载体包含在病毒中。在一些实施方式中,所述病毒是假病毒。在一些实施方式中,所述病毒是病毒样粒子。在一些实施方式中,所述载体包含在细胞中。在一些实施方式中,包含载体的病毒或细胞含有重组基因组。

[0179] III.免疫原性组合物和制剂

[0180] 在一些实施方式中,本文提供了一种免疫原性组合物,所述免疫原性组合物包含重组多肽的三聚体或所述三聚体中任两种或更多种的组合,所述重组多肽包含选自SEQ ID NO:1-16和64-71的序列。在一些实施方式中,所述免疫原性组合物的单位剂量可以包括约10 μ g至约100 μ g所述RSV F抗原,优选约25 μ g至约75 μ g所述RSV F抗原,优选约40 μ g至约60 μ g所述RSV F抗原或约50 μ g所述RSV F抗原。在一些实施方式中,所述剂量含有3 μ g所述RSV F抗原。在其它实施方式中,所述剂量含有9 μ g所述RSV F抗原。在其它实施方式中,所述剂量含有30 μ g所述RSV F抗原。

[0181] 在一些情况下,可能需要组合所公开的免疫原与诱导对其它因子的保护性应答的其它药品(例如疫苗)。例如,包括本文所述的重组RSV F抗原(例如三聚体或蛋白质)的组合物可以与美国免疫接种咨询委员会(Advisory Committee on Immunization Practices, ACIP; cdc.gov/vaccines/acip/index.html)针对目标年龄组(例如大约1至6个月大的婴儿)建议的其它疫苗如流感疫苗或水痘带状疱疹疫苗同时(通常分开)或依次给药。因此,所公开的包括本文所述的重组RSV F抗原的免疫原可以与例如针对乙肝(HepB)、白喉、破伤风和百日咳(DTaP)、肺炎球菌(PCV)、b型流感嗜血杆菌(Hib)、脊髓灰质炎、流感和轮状病毒的疫苗同时或依次给药。

[0182] 多价或联合疫苗针对多种病原体提供保护。在某些情况下,多价疫苗可以针对同一病原体的多种毒株或菌株提供保护。在某些情况下,多价疫苗针对多种病原体提供保护,例如联合疫苗Tdap,其针对破伤风、百日咳和白喉的菌株提供保护。多价疫苗对于最小化提供针对多种病原体或病原毒株或菌株的保护所需的免疫接种次数、降低给药成本和提高覆盖率是非常理想的。例如,这在给婴儿或儿童接种时可能特别有用。

- [0183] 在一些实施方式中，例如包含本文所述的免疫原性组合物的疫苗是多价疫苗。在一些实施方式中，用于并入本发明的多价疫苗组合物的抗原材料来源于A型或B型RSV或其组合。用于并入本发明的多价疫苗组合物的抗原可以来源于一株RSV或者多个毒株，例如，两个至五个毒株，以便提供更广泛的保护范围。在一个实施方式中，用于并入本发明的多价疫苗组合物的抗原来源于多株RSV病毒。其它可用的抗原包括活病毒、减毒病毒和灭活病毒，如灭活脊髓灰质炎病毒(Jiang等人J.Biol.Stand.,(1986)14:103-9)、甲型肝炎病毒减毒株(Bradley等人J.Med.Virol.,(1984)14:373-86)、减毒麻疹病毒(James等人,N.Engl.J.Med.,(1995)332:1262-6)，以及百日咳病毒表位(例如ACEL-IMUNErM无细胞DTP，Wyeth-Lederle疫苗和儿童用药)。
- [0184] 在一些方面，本文提供的疫苗是通用疫苗。在一些实施方式中，通用疫苗是针对同一病毒的多个毒株，如多个RSV毒株提供保护的疫苗。开发一种有效的通用RSV疫苗将降低例如季节性疫苗配制的成本和劳动力，并允许更鲁棒的大流行防范。
- [0185] 在一些方面，通用疫苗是包含来源于不同病毒株的多个表位的疫苗。在一些方面，通用疫苗包含在不同病毒株间保守的单个表位。例如，通用疫苗可以基于RSV F蛋白的相对保守结构域。
- [0186] 还提供了包含所公开的免疫原(例如，所公开的重组RSV F抗原或者编码所公开的重组RSV F抗原的原聚体的核酸分子)和药学上可接受的载剂的免疫原性组合。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物包含本文提供的三聚化重组多肽和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物包含含有本文提供的多个三聚化重组多肽的蛋白质和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物包含本文提供的蛋白质纳米粒子和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物包含本文提供的VLP和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物包含本文提供的分离的核酸和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物包含本文提供的载体和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物包含本文提供的病毒和任选的药学上可接受的载剂。

学上可接受的载剂。在一些实施方式中,所述免疫原性组合物包含本文提供的假病毒和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中,所述免疫原性组合物包含本文提供的细胞和任选的药学上可接受的载剂。在一些实施方式中,所述免疫原性组合物如本文所述的免疫原性组合物是疫苗。在一些实施方式中,所述疫苗是预防性疫苗。在一些实施方式中,所述疫苗是治疗性疫苗。在一些实施方式中,所述疫苗是预防性疫苗和治疗性疫苗。此类药物组合物可以通过普通技术人员已知的各种给药模式给药到受试者,例如肌肉内、皮内、皮下、静脉内、动脉内、关节内、腹膜内、鼻内、舌下、扁桃体、口咽或其它肠胃外和粘膜途径。在若干个实施方式中,包括一种或多种所公开的免疫原的药物组合物是免疫原性组合物。制备可给药组合物的实际方法将是本领域技术人员已知或显而易见的,并且更详细描述于如《Remington制药学》(Remingtons Pharmaceutical Sciences)第19版, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1995的出版物中。

[0187] 因此,免疫原,例如重组RSV F抗原,例如本文所述的三聚体、蛋白质,可以与药学上可接受的载剂一起配制,以帮助保留生物活性,同时还有助于增加在可接受的温度范围内储存期间的稳定性。可能的载剂包括但不限于生理平衡培养基、磷酸盐缓冲盐水溶液、水、乳液(例如油/水或水/油乳液)、各种类型的润湿剂、低温保护添加剂或稳定剂如蛋白质、肽或水解物(例如白蛋白、明胶)、糖(例如蔗糖、乳糖、山梨醇)、氨基酸(例如谷氨酸钠)或其它保护剂。所得水溶液可以被原样或冻干包装使用。冻干制剂在给药前与无菌溶液组合以供单次或多次给药。

[0188] 配制的组合物,尤其是液体制剂,可以含有抑菌剂以防止或最小化储存期间的降解,包括但不限于有效浓度(通常为1% w/v)的苯甲醇、苯酚、间甲酚、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯和/或对羟基苯甲酸丙酯。一些患者可能忌用抑菌剂;因此,冻干制剂可以在含有或不含此类成分的溶液中重构。

[0189] 本公开的免疫原性组合物可以根据需要含有药学上可接受的媒剂物质以接近生理条件,如pH调节和缓冲剂、渗透度调节剂、润湿剂等,例如乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、脱水山梨醇单月桂酸酯和油酸三乙醇胺。

所述免疫原性组合物可以任选地包括佐剂来增强宿主的免疫应答。合适的佐剂有例如toll样受体激动剂、铝剂、 AlPO_4 、铝水凝胶、脂质A及其衍生物或变体、油乳液、皂苷、中性脂质体、含有疫苗和细胞因子的脂质体、非离子嵌段共聚物和趋化因子。含聚氧乙烯(POE)和聚氧丙烯(POP)的非离子嵌段聚合物如POE-POP-POE嵌段共聚物、MPLTM(3-O-脱酰基化单磷酸脂质A; Corixa, Hamilton, Ind.)和IL-12(Genetics Institute, Cambridge, Mass.)以及本领域众所周知的许多其它合适的佐剂可以用作佐剂(Newman等人, 1998, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 15:89-142)。这些佐剂的优点在于它们有助于以非特异性方式刺激免疫系统, 由此增强对药品的免疫应答。在一些实施方式中, 本公开的免疫原性组合物可以包括多于一种佐剂或与多于一种佐剂一起给药。在一些实施方式中, 本公开的免疫原性组合物可以包括两种佐剂或与两种佐剂一起给药。在一些实施方式中, 本公开的免疫原性组合物可以包括多种佐剂或与多种佐剂一起给药。例如, 在一些情况下, 例如包含本文所提供的免疫原性组合物的疫苗可以包括多种佐剂或与多种佐剂组合给药。

[0190] 对于疫苗组合物, 合适的佐剂的实例包括例如氢氧化铝、卵磷脂、弗氏佐剂、MPLTM和IL-12。在一些实施方式中, 本文公开的疫苗组合物或纳米粒子免疫原(例如, RSV疫苗组合物)可以配制为控制释放或定时释放制剂。这可以在含有缓释聚合物的组合物或通过微包封递送系统或生物粘附凝胶来实现。可以根据本领域中众所周知的标准程序制备各种药物组合物。

[0191] 在一些实施方式中, 本发明的免疫原性组合物可以含有佐剂制剂, 包括水包油乳液形式的可代谢油(例如角鲨烯)和 α 生育酚, 以及聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(吐温-80)。在一些实施方式中, 所述佐剂制剂可以包含约2%至约10%角鲨烯、约2至约10% α 生育酚(例如, D- α 生育酚)和约0.3至约3%聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯。在一些实施方式中, 所述佐剂制剂可以包含约5%角鲨烯、约5%生育酚和约0.4%聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯。在一些实施方式中, 本公开的免疫原性组合物可以含有3-O-脱酰基化单磷酸脂质A(3D-MPL)和水包油乳液形式的佐剂, 该佐剂含有可代谢油、 α 生育酚和聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯。在一些实施方式中, 本公开的免疫原性组合物可以含有QS21(皂树(Quillaja

saponaria Molina)提取物：级分21)、3D-MPL和水包油乳液，其中所述水包油乳液包含可代谢油、 α 生育酚和聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯。在一些实施方式中，本公开的免疫原性组合物可以含有QS21、3D-MPL和水包油乳液，其中所述水包油乳液具有以下组成：可代谢油如角鲨烯、 α 生育酚和吐温-80。在一些实施方式中，本公开的免疫原性组合物可以含有脂质体组合物形式的佐剂。

[0192] 在一些实施方式中，本公开的免疫原性组合物可以含有佐剂制剂，所述佐剂制剂包含可代谢油(例如角鲨烯)、聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(吐温-80)和Span 85。在一些实施方式中，所述佐剂制剂可以包含约5% (w/v)角鲨烯、约0.5% (w/v)聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯和约0.5% (w/v)Span 85。

[0193] 在一些实施方式中，本公开的免疫原性组合物可以含有例如呈纳米粒子组合物形式的佐剂制剂，所述佐剂制剂包含皂树皂苷、胆固醇和磷脂。在一些实施方式中，本公开的免疫原性组合物可以含有分开纯化的皂树级分的混合物，随后与胆固醇和磷脂一起配制。

[0194] 在一些实施方式中，本公开的免疫原性组合物可以含有选自MF59TM、Matrix-ATM、Matrix-CTM、Matrix-MTM、AS01、AS02、AS03和AS04的佐剂。

[0195] 在一些实施方式中，本公开的免疫原性组合物可以含有toll样受体9(TLR9)激动剂，其中所述TLR9激动剂是长度为8至35个核苷酸且包含未甲基化胞苷-磷酸-鸟苷(也称为CpG或胞嘧啶-磷酸-鸟苷)基序的寡核苷酸，所述RSV抗原和所述寡核苷酸在所述免疫原性组合物中的存在量能有效刺激有需要的哺乳动物受试者如人类受试者对RSV抗原的免疫应答。TLR9(CD289)识别微生物DNA中发现的未甲基化胞苷-磷酸-鸟苷(CpG)基序，后者可以使用合成的含CpG寡脱氧核苷酸(CpG-ODN)进行模拟。已知CpG-ODN增强抗体产生并刺激T辅助1(Th1)细胞应答(Coffman等人,Immunity,33:492-503,2010)。最佳寡核苷酸TLR9激动剂通常含有遵循以下通式的回文序列：5'-嘌呤-嘌呤-CG-嘧啶-嘧啶-3'，或5'-嘌呤-嘌呤-CG-嘧啶-嘧啶-CG-3'。美国专利号6,589,940，该美国专利以引用的方式整体并入本文。在一些实施方式中，所述CpG寡核苷酸是线性的。在其它实施方式中，所述CpG寡核苷酸是环形的或包括发夹环。所述CpG寡核苷酸可以是单链或双链的。在一些实施方式中，所述CpG寡核苷酸可以含有修饰。

修饰包括但不限于3'OH或5'OH基团的修饰、核苷酸碱基的修饰、糖组分的修饰和磷酸基团的修饰。修饰的碱基可以包括在所述CpG寡核苷酸的回文序列中，只要修饰的碱基通过沃森-克里克碱基配对来保持对其自然补体的相同特异性(例如，所述回文部分仍是自身互补的)即可。在一些实施方式中，所述CpG寡核苷酸包含非典型碱基。在一些实施方式中，所述CpG寡核苷酸包含修饰的核苷。在一些实施方式中，修饰的核苷选自2'-脱氧-7-脱氮鸟苷、2'-脱氧-6-硫代鸟苷、阿拉伯糖基鸟苷、2'-脱氧-2'取代-阿拉伯糖基鸟苷和2'-O-取代-阿拉伯糖基鸟苷。所述CpG寡核苷酸可以含有磷酸基团的修饰。例如，除了磷酸二酯键以外，磷酸修饰还包括但不限于磷酸甲酯、硫代磷酸酯、磷酰胺(桥接或非桥接)、磷酸三酯和二硫代磷酸酯，并且可以以任何组合使用。还可以使用其它非磷酸酯键。在一些实施方式中，所述寡核苷酸仅包含硫代磷酸酯骨架。在一些实施方式中，所述寡核苷酸仅包含磷酸二酯骨架。在一些实施方式中，所述寡核苷酸在磷酸酯骨架中包含磷酸酯键的组合，如磷酸二酯键和硫代磷酸酯键的组合。具有硫代磷酸酯骨架的寡核苷酸可能比具有磷酸二酯骨架的寡核苷酸更具免疫原性，注射到宿主体内后似乎更抗降解(Braun等人, *J Immunol*, 141:2084-2089, 1988; 以及Latimer等人, *Mol Immunol*, 32:1057-1064, 1995)。本公开的CpG寡核苷酸包括至少一个、两个或三个核苷酸间硫代磷酸酯键。在一些实施方式中，当多个CpG寡核苷酸分子存在于包含至少一种赋形剂的药物组合物中时，硫代磷酸酯键的两种立体异构体都存在于多个CpG寡核苷酸分子中。在一些实施方式中，所述CpG寡核苷酸的所有核苷酸间键都是硫代磷酸酯键，或换言之，所述CpG寡核苷酸具有硫代磷酸酯骨架。

- [0196] 任何适合的CpG寡脱氧核苷酸(ODN)或其组合可以在本公开中用作佐剂。例如，K型ODN(也被称为B型)编码硫代磷酸酯骨架上的多个CpG基序。K型ODN可以基于下述序列：TCCATGGACGTTCTGAGCGTT。与天然的磷酸二酯核苷酸相比，硫代磷酸酯核苷酸的使用增强了对核酸酶消化的抗性，导致实质上更长的体内半衰期。K型ODN引发pDC分化和产生TNF- α ，并引发B细胞增殖和分泌IgM。D型ODN(也被称为A型)由混合的磷酸二酯/硫代磷酸酯骨架构建而成，含有两侧带有回文序列的单个CpG基序，并在3'和5'末端处具有聚G尾部

(一种便于形成多联体的结构基序)。D型ODN可以基于下述序列：GGTGCATCGATGCAGGGGGG。D型ODN引发pDC成熟和分泌IFN- α ，但对B细胞没有作用。C型ODN与K型的相似之处在于完全由硫代磷酸酯核苷酸组成，但在含有回文CpG基序方面与D型相似。C型ODN可以基于下述序列：TCGTCGTTCCGAACGACGTTGAT。这类ODN刺激B细胞分泌IL-6并刺激pDC产生IFN- α 。P型ODN含有两个回文序列，使它们能够形成更高度有序的结构。P型ODN可以基于下述序列：TCGTCGACGATCGGCGCGCGCCG。P型ODN激活B细胞和pDC，并且与C型ODN相比诱导实质上更高的IFN- α 生产。在这一段中，ODN序列中的粗体字母指示自身互补的回文序列，并且CpG基序用下划线标识。

[0197] 示例性CpG ODN例如CpG 7909(5' -TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT-3')和CpG 1018(5' -TGACTGTGAACGTTTCGAGATGA-3')是已知的，并公开在美国专利号7,255,868、7,491,706、7,479,285、7,745,598、7,785,610、8,003,115、8,133,874、8,114,418、8,222,398、8,333,980、8,597,665、8,669,237、9,028,845和10,052,378，申请公布US 2020/0002704，和Bode等，“作为疫苗佐剂的CpG DNA”(CpG DNA as a vaccine adjuvant)，Expert Rev Vaccines(2011),10(4):499-511中，所有这些文献为所有目的整体通过参考并入本文。

[0198] 一种或多种佐剂可以组合使用，并且可以包括但不限于氢氧化铝(铝盐)、水包油乳液、油包水乳液、脂质体和微粒，如聚(丙交酯-共-乙交酯)微粒(Shah等人,Methods Mol,1494:1-14,2017)。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物还包含吸附RSV抗原的铝盐佐剂。在一些实施方式中，所述铝盐佐剂包含非晶态羟基磷酸硫酸铝、氢氧化铝、磷酸铝和硫酸铝钾中的一种或多种。在一些实施方式中，所述铝盐佐剂包含氢氧化铝和磷酸铝中的一种或两种。在一些实施方式中，所述铝盐佐剂包含氢氧化铝。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物的单位剂量包含约0.25至约0.50mg Al³⁺或约0.35mg Al³⁺。在一些实施方式中，所述免疫原性组合物还包含其它佐剂。其它合适的佐剂包括但不限于水包角鲨烯乳液(例如MF59或AS03)、TLR3激动剂(例如聚IC或聚ICLC)、TLR4激动剂(例如细菌脂多糖衍生物如单磷酰脂质A(MPL)和/或皂苷如Quil A或QS-21，如AS01或AS02中)、TLR5激动剂(细菌鞭毛蛋白)以及TLR7、TLR8和/或TLR9激动剂

(咪唑并喹啉衍生物如咪喹莫德(imiquimod)和瑞喹莫德(resiquimod))(Coffman等人, Immunity, 33:492-503, 2010)。在一些实施方式中, 其它佐剂包含MPL和铝剂(例如AS04)。对于兽医用途以及对于在非人动物中产生抗体, 可以使用弗氏佐剂(完全和不完全)的促有丝分裂组分。

- [0199] 在一些实施方式中, 所述免疫原性组合物包含药学上可接受的赋形剂, 包括例如溶剂、增量剂、缓冲剂、渗透压调节剂和防腐剂(Pramanick等人, Pharma Times, 45:65-77, 2013)。在一些实施方式中, 所述免疫原性组合物可以包含发挥溶剂、增量剂、缓冲剂和渗透压调节剂中一种或多种的功能的赋形剂(例如, 盐水中的氯化钠可以同时作为水性媒剂和渗透压调节剂)。
- [0200] 在一些实施方式中, 所述免疫原性组合物包含水性媒剂作为溶剂。合适的媒剂包括例如无菌水、盐水溶液、磷酸盐缓冲盐水和林格氏液。在一些实施方式中, 所述组合物是等渗的。
- [0201] 所述免疫原性组合物可以包含缓冲剂。缓冲剂控制pH以抑制活性剂在加工、储存和任选的重构过程中的降解。合适的缓冲剂包括例如盐, 包括乙酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐或硫酸盐。其它合适的缓冲剂包括例如氨基酸如精氨酸、甘氨酸、组氨酸和赖氨酸。所述缓冲剂还可以包含盐酸或氢氧化钠。在一些实施方式中, 所述缓冲剂保持所述组合物的pH在6至9的范围内。在一些实施方式中, 所述pH大于(下限)6、7或8。在一些实施方式中, 所述pH小于(上限)9、8或7。即, 所述pH在约6至9的范围内, 其中下限小于上限。
- [0202] 所述免疫原性组合物可以包含渗透压调节剂。合适的渗透压调节剂包括例如右旋糖、甘油、氯化钠、丙三醇和甘露糖醇。
- [0203] 所述免疫原性组合物可以包含增量剂。当所述药物组合物在给药前冻干时, 增量剂特别有用。在一些实施方式中, 所述增量剂是一种保护剂, 有助于在冷冻或喷雾干燥期间和/或储存期间稳定和防止活性剂降解。合适的增量剂是糖(单糖、二糖和多糖), 如蔗糖、乳糖、海藻糖、甘露糖醇、山梨糖醇、葡萄糖和棉子糖。

[0204] 所述免疫原性组合物可以包含防腐剂。合适的防腐剂包括例如抗氧化剂和抗微生物剂。然而，在优选实施方式中，所述免疫原性组合物是在无菌条件下制备并且在单次使用容器中，因此不需要包括防腐剂。

[0205] 在一些实施方式中，所述组合物可以提供为无菌组合物。所述药物组合物通常含有有效量的所公开的免疫原，并且可以通过常规方法制备。通常，每一剂免疫原性组合物中免疫原的量选择为诱导免疫应答而无显著不良副作用的量。在一些实施方式中，所述组合物可以以单位剂型提供以用于在受试者中诱导免疫应答。单位剂型含有合适的单次预选剂量以供给药到受试者，或者两个或更多个预选单位剂量的合适的标记或测量的多份，和/或用于给药单位剂量或多份单位剂量的计量机制。在其它实施方式中，所述组合物还包括佐剂。

[0206] IV.诱导免疫应答的方法

[0207] 在一些实施方式中，本文提供了一种在受试者中对RSV表面抗原产生免疫应答的方法，所述方法包括向所述受试者给药有效量的包含选自SEQ ID NO:1-16, 64-71的重组多肽的复合物。在一些实施方式中，本文提供了一种在受试者中对RSV表面抗原产生免疫应答的方法，其中所述表面抗原包含F蛋白或其抗原片段，所述方法包括向所述受试者给药有效量的包含选自SEQ ID NO:1-16, 64-71的重组多肽的复合物。在一些实施方式中，本文提供了一种在受试者中对RSV表面抗原产生免疫应答的方法，其中所述表面抗原包含选自SEQ ID NO:17-47和72-79的序列，所述方法包括向所述受试者给药有效量的包含选自SEQ ID NO:1-16和64-71的重组多肽的复合物。在一些实施方式中，本文提供了一种在受试者中对RSV表面抗原产生免疫应答的方法，其中所述表面抗原包括RSV的F蛋白或其抗原片段，任选地，所述表面抗原包含SEQ ID NO:17-47和72-79中任一个或多个的序列或其抗原片段，所述方法包括向所述受试者给药有效量的包含含有SEQ ID NO:1-16和64-71中任一个所示的序列的重组多肽的复合物。

[0208] 在一些实施方式中，本文提供了一种在受试者中对RSV表面抗原产生免疫应答的方法，其中所述表面抗原包含F蛋白或其抗原片段，所述方法包括向所述受试

者给药有效量的包含含有选自SEQ ID NO:1-16的序列的重组多肽的复合物或任两种或更多种复合物的组合。

- [0209] 所公开的免疫原(例如重组RSV F抗原, 例如本文所述的三聚体、蛋白质、编码所公开的重组RSV F抗原的原聚体的核酸分子(如RNA分子)或载体, 或包含所公开的重组RSV F抗原的蛋白质纳米粒子或病毒样粒子)可以给药到受试者, 以在所述受试者中诱导对相应RSV F抗原的免疫应答。在一个特定实例中, 所述受试者是人。所述免疫应答可以是保护性免疫应答, 例如抑制后续感染相应RSV的应答。诱导免疫应答还可以用于治疗或抑制与相应RSV相关的感染和疾病。
- [0210] 在一些实施方式中, 可以选择已经或有感染RSV风险(例如由于暴露或可能暴露于RSV)的受试者进行治疗。在给药所公开的免疫原后, 可以监测所述受试者的感染情况或与RSV相关的症状或二者。
- [0211] 旨在用本公开的治疗剂和方法治疗的典型受试者包括人类, 以及非人灵长类动物和其它动物。为了鉴定根据本公开的方法预防或治疗的受试者, 采用公认的筛查方法来确定与目标或疑似疾病或疾患相关的风险因素, 或确定受试者的现有疾病或疾患的状况。这些筛查方法包括例如确定可能与目标或疑似疾病或疾患相关的环境、家庭、职业和其它此类风险因素的常规检查, 以及检测和/或表征RSV感染的诊断方法, 如各种ELISA和其它免疫测定方法。这些和其它常规方法允许临床医生使用本公开的方法和药物组合物选择需要治疗的患者。根据这些方法和原则, 组合物可以根据本文的教导或其它常规方法给药, 作为独立的预防或治疗方案, 或作为其它治疗的后续、辅助或协调治疗方案。
- [0212] 所公开的免疫原, 例如RSV F抗原, 例如三聚体、蛋白质的给药可用于预防性或治疗性目的。当预防性地提供时, 所公开的治疗剂是在任何症状之前, 例如在感染之前提供。所公开的治疗剂的预防性给药用于预防或改善任何继发感染。在治疗性地提供时, 所公开的治疗剂是在疾病或感染症状发作时或之后, 例如在出现与RSV F抗原对应的RSV感染症状之后, 或在诊断为RSV感染之后提供。所述治疗剂因此可以在预期暴露于RSV之前提供, 以便在暴露或疑似暴露到所述病毒后或在感染实际开始后减弱感染和/或相关疾病症状的预计的严重性、持续时间或程度。

- [0213] 本文所述的免疫原及其免疫原性组合物以有效诱导或增强受试者(优选为人类)对RSV F抗原的免疫应答的量提供给所述受试者。所公开的免疫原的实际剂量将根据诸多因素而变化,如受试者的疾病指征和特定状态(例如,受试者的年龄、体型、健康状况、症状程度、易感因素等)、给药时间和途径、并行给药的其它药物或治疗,以及用于在受试者中引发所需的活性或生物应答的复合物的特定药理学。可以调整剂量方案,以提供最佳的预防性或治疗性应答。
- [0214] 包括一种或多种所公开的免疫原的免疫原性组合物可用于协调(或初免-加强)疫苗接种方案或组合制剂。在某些实施方式中,新的组合免疫原性组合物和协调免疫接种方案采用单独的免疫原或制剂,各自针对引发抗病毒免疫应答,如对RSV F抗原的免疫应答。引发抗病毒免疫应答的单独免疫原性组合物可以组合在于单个免疫接种步骤中给药到受试者的多价免疫原性组合物中,或者它们可以在协调(或初免-加强)免疫接种方案中分开(在单价免疫原性组合物中)给药。
- [0215] 可以进行几次加强,并且每次加强可以是不同的所公开的免疫原。在某些实例中,加强可以是与另一次加强或初免相同的免疫原。所述初免和加强可以作为单剂或多剂给药,例如可以在数天、数周或数月内向受试者给药两剂、三剂、四剂、五剂、六剂或更多剂。也可以进行多次加强,例如1至5次(例如1、2、3、4或5次加强)或更多次。在一系列顺序免疫接种中可以使用不同剂量。例如,在第一次免疫接种中相对大的剂量,然后在加强中使用相对较小的剂量。
- [0216] 在某些实施方式中,所述加强可以在初免后约2周、约3至8周或约4周,或在初免后约几个月给药。在某些实施方式中,所述加强可以在初免后约5、约6、约7、约8、约10、约12、约18、约24个月或初免后更多或更少的时间给药。也可以在适合的时间点使用定期额外加强,以增强受试者的“免疫记忆”。选择的疫苗接种参数例如制剂、剂量、方案等的充分性,可以通过在免疫计划过程中从所述受试者获取血清的等分试样并测定抗体滴度来确定。此外,可以监测所述受试者的临床状况以发现所需的效果,例如感染的预防或疾病状态的改善(例如病毒载量的降低)。如果此类监测表明疫苗接种是次优的,则可以用额外的免疫原性组合物剂量加强所述受试者,并且可以以预期增强免疫应答的方式修改疫苗接种参数。

- [0217] 在某些实施方式中，所述初免-加强方法可以包括向受试者提供DNA初免和蛋白质加强疫苗接种方案。所述方法可以包括核酸分子或蛋白质的两次或更多次给药。
- [0218] 对于蛋白质治疗剂，通常，每剂人类剂量包含1-1000 μ g蛋白质，如约1 μ g至约100 μ g，例如约1 μ g至约50 μ g，如约1 μ g、约2 μ g、约5 μ g、约10 μ g、约15 μ g、约20 μ g、约25 μ g、约30 μ g、约40 μ g或约50 μ g。
- [0219] 免疫原性组合物中所利用的量基于受试者群体(如婴儿或老年人)进行选择。通过标准研究，包括观察受试者的抗体滴度和其它应答，可以确定特定组合物的最佳剂量。据了解，免疫原性组合物中的所公开的免疫原，如所公开的重组RSV F抗原(例如三聚体、蛋白质)、病毒载体或核酸分子的治疗有效量可以包括给药单剂在引发免疫应答方面无效但给药多剂后有效的量，例如在初免-加强给药方案中。
- [0220] 在给药本公开所公开的免疫原后，受试者的免疫系统通常通过产生对所述免疫原中包括的RSV F蛋白肽特异的抗体来响应所述免疫原性组合物。此类应答表明向所述受试者递送了免疫有效剂量。
- [0221] 在一些实施方式中，在评估有效剂量/免疫接种方案的背景下确定受试者的抗体应答。在大部分情况下，评估从所述受试者获得的血清或血浆中的抗体滴度就足够了。关于是否给药加强接种和/或改变给药到个体的治疗剂的量的决定可能至少部分基于抗体滴度水平。抗体滴度水平可以基于例如免疫结合测定法，所述免疫结合测定法测量血清中与抗原(包括例如重组RSV F抗原，例如三聚体、蛋白质)结合的抗体浓度。
- [0222] 无需完全消除或减少或预防RSV感染，所述方法才算有效。例如，与不存在免疫原时的RSV感染相比，用一种或多种所公开的免疫原引发对RSV的免疫应答可以使RSV感染减少或抑制所需的量，例如至少10%、至少20%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%乃至至少100%(消除或预防可检测的感染细胞)。在其它实施例，可以通过所公开的方法减少或抑制RSV复制。无需完全消除RSV复制，所述方法才算有效。例如，与不存在免疫原时的RSV复制相比，使用一种或多种所公开的免疫原引发的免疫应答可以

使相应RSV的复制减少所需的量，例如至少10%、至少20%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少98%乃至至少100%(消除或预防可检测的RSV复制)。

[0223] 在一些实施方式中，在给药佐剂的同时向受试者给药所公开的免疫原。在其它实施方式中，在给药佐剂之后并足以诱导免疫应答的时间量内向受试者给药所公开的免疫原。

[0224] 一种给药核酸的方法是用质粒DNA，如用哺乳动物表达质粒直接免疫接种。通过核酸构建体免疫接种是本领域中众所周知的，并教导于例如在美国专利号5,643,578(描述了通过引入编码所需抗原的DNA来引发细胞介导的应答或体液应答使脊椎动物免疫的方法)以及美国专利号5,593,972和5,817,637(描述了可操作地连接编码抗原的核酸序列与使其能够表达的调控序列)。美国专利号5,880,103描述了将编码免疫原性肽或其它抗原的核酸递送到生物体的若干种方法。所述方法包括脂质体递送核酸(或合成肽本身)和免疫刺激构建体或ISCOMS™，即在混合胆固醇和Quil A™(皂苷)后自发形成的30–40纳米大小的带负电笼状结构。在各种感染实验模型，包括弓形虫病和Epstein–Barr病毒诱导的肿瘤中，已经使用ISCOMS™作为抗原递送媒剂产生了保护性免疫(Mowat和Donachie, Immunol.Today 12:383,1991)。已经发现低至1 μg的包封在ISCOMS™中的抗原剂量产生了I类介导的CTL应答(Takahashi等人,Nature 344:873,1990)。

[0225] 在一些实施方式中，使用质粒DNA疫苗在受试者中表达所公开的免疫原。例如，编码所公开的免疫原的核酸分子可以给药到受试者，以诱导对RSV F抗原的免疫应答。在一些实施方式中，所述核酸分子可以包括在用于DNA免疫接种的质粒载体如pVRC8400载体上(描述于Barouch等人,J.Virol,79,8828–8834,2005，该文献以引用的方式并入本文)。

[0226] 在另一种使用核酸进行免疫接种的方法中，所公开的重组RSV F抗原，例如三聚体、蛋白质，可以通过减毒病毒宿主或载体或细菌载体进行表达。重组痘苗病毒、腺相关病毒(AAV)、疱疹病毒、逆转录病毒、巨细胞病毒或其它病毒载体可用于表达所述肽或蛋白质，从而诱导CTL应答。例如，美国专利号4,722,848描

述了可用于免疫接种方案的痘苗病毒载体和方法。BCG(卡介苗)提供了另一种用于表达肽的载体(参见Stover,Nature 351:456-460,1991)。

[0227] 在一个实施方式中,将编码所公开的重组RSV F抗原的核酸直接引入到细胞中。例如,可以通过标准方法将核酸负载到金微球体上,并通过诸如Bio-Rad的HELIOS™基因枪等设备引入到皮肤中。核酸可以是“裸露的”,由强启动子控制下的质粒组成。通常,DNA注射到肌肉中,但它也可以直接注射到其它部位。注射剂量通常为约0.5 μg/kg至约50mg/kg,通常为约0.005mg/kg至约5mg/kg(参见例如美国专利号5,589,466)。

[0228] 例如,可以通过标准方法将核酸负载到金微球体上,并通过诸如Bio-Rad的HELIOS™基因枪等设备引入到皮肤中。核酸可以是“裸露的”,由强启动子控制下的质粒组成。通常,DNA注射到肌肉中,但它也可以直接注射到其它部位。注射剂量通常为约0.5 μg/kg至约50mg/kg,通常为约0.005mg/kg至约5mg/kg(参见例如美国专利号5,589,466)。

[0229] 在另一个实施方式中,基于mRNA的免疫接种方案可用于将编码所公开的重组RSV F抗原的核酸直接递送到细胞中。在一些实施方式中,基于mRNA的基于核酸的疫苗可以提供对前述方法的有效替代方案。mRNA疫苗排除了关于DNA整合到宿主基因组中的安全性问题,并且可以直接在宿主细胞质中翻译。此外,RNA的简单无细胞体外合成避免了与病毒载体相关的制造复杂性。可用于递送编码所公开的重组RSV F抗原的核酸的基于RNA的疫苗接种的两种示例性形式包括常规非扩增mRNA免疫接种(参见例如Petsch等人,“体外合成的特异性mRNA疫苗针对HIV病毒感染的保护性功效”(Protective efficacy of in vitro synthesized,specific mRNA vaccines against influenza A virus infection),Nature biotechnology,30(12):1210-6,2012)和自扩增mRNA免疫接种(参见例如Geall等人,“自扩增型RNA疫苗的非病毒递送”(Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines),PNAS,109(36):14604-14609,2012; Magini等人,“表达多种保守流感抗原的自扩增型mRNA疫苗针对同源和异亚型病毒激惹提供保护”(Self-Amplifying mRNA Vaccines Expressing Multiple Conserved Influenza Antigens Confer Protection against Homologous and Hete

rosubtypic Viral Challenge), PLoS One, 11(8):e0161193, 2016; 以及 Brito 等人, “自扩增型 mRNA 疫苗” (Self-amplifying mRNA vaccines), Adv Genet., 89:179–233, 2015)。

[0230] 在一些实施方式中, 向受试者给药治疗有效剂量的一种或多种所公开的免疫原在所述受试者中诱导了中和免疫应答。为了评估中和活性, 在受试者免疫接种后, 可以在适当的时间点从所述受试者收集血清, 冷冻并储存以进行中和试验。测定中和活性的方法对本领域普通技术人员是已知的, 并在本文中进一步描述, 包括但不限于噬斑减少中和 (PRNT) 测定法、微量中和测定法、基于流式细胞术的测定法、单周期感染测定法。在一些实施方式中, 可以使用一组 RSV 假病毒来测定血清中和活性。

[0231] 在一些实施方式中, 向受试者给药治疗有效剂量的一种或多种所公开的免疫原在所述受试者中诱导了中和免疫应答。为了评估中和活性, 在受试者免疫接种后, 可以在适当的时间点从所述受试者收集血清, 冷冻并储存以进行中和试验。测定中和活性的方法对本领域普通技术人员是已知的, 并在本文中进一步描述, 包括但不限于噬斑减少中和 (PRNT) 测定法、微量中和测定法、基于流式细胞术的测定法、单周期感染测定法。在一些实施方式中, 可以使用一组 RSV 假病毒来测定血清中和活性。

[0232] 在一些实施方式中, 通过本文所公开的免疫原诱导的中和免疫应答产生了针对 RSV 的中和抗体。在一些实施方式中, 本文的中和抗体结合到 RSV 或其组分的细胞受体或辅助受体。核仁素是 RSV 的进入辅助受体, 而且还介导流感病毒、副流感病毒、一些肠道病毒和引起土拉菌血症的细菌的细胞进入。融合前 RSV-F 糖蛋白与胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF1R) 的结合还可能触发蛋白激酶 C ζ (PKC ζ) 的激活, 从而从细胞核招募核仁素到胞质膜以结合病毒体上的 RSV-F。在一些实施方式中, 所述病毒受体或辅助受体是副粘病毒受体或辅助受体, 优选肺炎病毒受体或辅助受体, 更优选人 RSV 受体或辅助受体。例如, CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5 和/或 CCR8 受体可能涉及人类 RSV 感染。RhoA 是宿主细胞 RSV 受体或辅助受体的另一个实例。在一些实施方式中, 本文的中和抗体在体外、在原位和/或在体内调节、减少、拮抗、减轻、阻断、

抑制、消除和/或干扰至少一种RSV活性或结合或者RSV受体活性或结合，如RSV释放、RSV受体信号传导、膜RSV切割、RSV活性、RSV产生和/或合成。在一些实施方式中，本文公开的免疫原诱导针对RSV的中和抗体，所述中和抗体调节、减少、拮抗、减轻、阻断、抑制、消除和/或干扰RSV与RSV受体或辅助受体如核仁素、IGF1R、CCR1、CCR2、CCR3、CCR4、CCR5、CCR8和/或RhoA的结合。

[0233] V.制品或试剂盒

[0234] 还提供了含有所提供的重组多肽、蛋白质和免疫原性组合物的制品或试剂盒。所述制品可以包括容器和处于所述容器上或与所述容器相伴的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、试管、IV输液袋等。所述容器可以由多种材料如玻璃或塑料形成。在一些实施方式中，所述容器具有无菌接入端口。示例性容器包括静脉内输液袋、小瓶，包括具有可通过注射用针头刺穿的塞子的那些。所述制品或试剂盒还可以包括指示所述组合物可用于治疗特定疾患，如本文所述的疾患(例如，RSV感染)的包装插页。替代地，或另外地，所述制品或试剂盒还可以包括包含药学上可接受的缓冲剂的另一个或相同容器。它还可以包括其它材料，如其它缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头和/或注射器。

[0235] 所述标签或包装插页可以指示所述组合物用于治疗个体的RSV感染。在所述容器上或与所述容器相伴的标签或包装插页可以指示关于制剂重构和/或使用的指导。所述标签或包装插页还可以指示所述制剂可用于或旨在用于皮下、静脉内或其它给药模式，以用于治疗或预防个体的RSV感染。

[0236] 在一些实施方式中，所述容器容纳有组合物本身或与可有效治疗、预防和/或诊断所述疾患的另一种组合物的组合。所述制品或试剂盒可以包括(a)第一容器，其中含有组合物(即，第一药物)，其中所述组合物包括所述免疫原性组合物或其蛋白质或重组多肽；以及(b)第二容器，其中含有组合物(即，第二药物)，其中所述组合物包括其他药剂，如佐剂或其它治疗剂，所述制品或试剂盒还包括所述标签或包装插页上关于用所述第二药物以有效量治疗所述受试者的说明。

[0237] 术语

- [0238] 除非另有定义，否则本文所用的所有专用术语、符号以及其它技术和科学术语的含义旨在与要求保护的主体所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同。在一些情况下，为了清楚和/或便于参考，本文定义了具有通常理解的含义的术语，并且本文包括此类定义不必被视为表示与本领域的通常理解有实质性差异。
- [0239] 术语“多肽”和“蛋白质”可互换用于指代氨基酸残基聚合物，并且不限制最小长度。多肽(包括所提供的受体和其它多肽，例如连接物或肽)可以包括氨基酸残基，包括天然和/或非天然氨基酸残基。所述术语还包括多肽的表达后修饰，例如糖基化、唾液酸化、乙酰化和磷酸化。在一些方面，多肽可以含有关于本来源或天然序列的修饰，只要蛋白质保持所需的活性即可。这些修饰可以是故意的，如通过定点诱变，也可以是偶然的，如通过产生蛋白质的宿主的突变或由于PCR扩增带来的错误。
- [0240] 如本文所用，“受试者”是哺乳动物，如人类或其它动物，通常是人类。在一些实施方式中，给药一种或多种药剂、细胞、细胞群或组合物的受试者(例如患者)是哺乳动物，通常是灵长类动物，如人类。在一些实施方式中，灵长类动物是猴或猿。受试者可以是男性或女性，并且可以是任何合适的年龄，包括婴儿、少年、青少年、成年和老年受试者。在一些实施方式中，受试者是非灵长类哺乳动物，如啮齿动物。
- [0241] 如本文所用，“治疗”(及其语法变化形式)是指完全或部分改善或减轻疾病或疾患或病症，或与之相关的症状、不良反应或结果、或表型。治疗的理想效果包括但不限于预防疾病发生或复发、缓解症状、减轻疾病的任何直接或间接病理后果、预防转移、降低疾病进展速率、改善或缓解疾病状态以及缓解或改善预后。所述术语并不意味着完全治愈疾病或完全消除任何症状或者对所有症状或后果有效。
- [0242] 如本文所用，“延缓疾病发展”意指延迟、阻碍、减缓、迟滞、稳定、抑制和/或推迟疾病(如癌症)的发展。取决于疾病史和/或所治疗的个体，该延缓的时间长度可能不同。在一些实施方式中，充分或显著的延缓实际上可以涵盖预防，因为个体不会罹患疾病。例如，可以延缓晚期癌症，如转移的发展。

- [0243] 如本文所用,“预防”包括针对可能易患疾病但尚未被诊断患有疾病的受试者的疾病发生或复发提供预防。在一些实施方式中,所提供的细胞和组合物用于延缓疾病的发展或减缓疾病的进展。
- [0244] 如本文所用,“抑制”功能或活性是指当与除目标条件或参数以外在其它方面相同的条件相比或者与另一条件相比时,降低功能或活性。例如,抑制肿瘤生长的细胞使肿瘤生长速率与不存在所述细胞时的肿瘤生长速率相比有所降低。
- [0245] 在给药的背景下,药剂例如药物制剂、细胞或组合物的“有效量”是指有效实现所需的结果如治疗性或预防性结果所必需的剂量/量和时间段的量。
- [0246] 药剂例如药物制剂、细胞或组合物的“治疗有效量”是指有效实现所需的治疗结果如治疗疾病、疾患或病症和/或治疗的药代动力学或药效学效果所必需的剂量和时间段的量。治疗有效量可以根据诸多因素如受试者的疾病状态、年龄、性别和体重以及给药的细胞群而变化。在一些实施方式中,所提供的方法包括以有效量(例如,治疗有效量)给药所述细胞和/或组合物。
- [0247] “预防有效量”是指有效实现所需的预防结果所必需的剂量和时间段的量。通常但不是必需的,因为预防剂量在疾病前或疾病早期阶段用于受试者,因此预防有效量小于治疗有效量。在肿瘤负担较低的情况下,一些方面的预防有效量会高于治疗有效量。
- [0248] 如本文所用,术语“约”是指本技术领域的技术人员容易知道的各个值的通常误差范围。本文提及“约”某个值或参数包括(并描述)了针对该值或参数本身的实施方式。
- [0249] 如本文所用,除非上下文另外清楚指明,否则单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数指代物。例如,“一个”或“一种”意指“至少一个(种)”或“一个(种)或多(种)”。
- [0250] 贯穿本公开内容,所要求保护的主题的各个方面以范围形式呈现。应当理解,范围形式的描述仅仅为了方便和简洁,不应当被视为对所要求保护的主题的范围的刚性限制。因此,范围的描述应当被视为已经明确公开了所有可能的子范围以及该范围内的个别数值。例如,在提供值的范围的情况下,应当理解,在该范围的上限和下限之间的各居间值以及该所述范围内的任何其它所述或居间

值都涵盖在所要求保护的主题内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在较小范围内，并且也涵盖在所要求保护的主题内，仅受所述范围内任何明确排除的限制。在所述范围包括一个或多个限值时，排除那些被包括的限值中的任一个或两个的范围也包括在所要求保护的主题内。这适用于任何范围宽度。

[0251] 如本文所用，组合物是指两种或更多种包括细胞在内的产品、物质或化合物的任何混合物。它可以是溶液、悬浮液、液体、粉末、糊状物、水溶液、非水溶液或其任何组合。

[0252] 如本文所用，术语“载体”是指能够繁殖与它连接的另一个核酸的核酸分子。该术语包括作为自身复制核酸结构的载体以及并入到已经引入它的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够指导与它们可操作地连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0253] 示例性实施方式

[0254] 实施方式1.一种包含多个重组多肽的蛋白质，各重组多肽包含连接到胶原蛋白C端前肽的呼吸道合胞病毒(RSV)F蛋白肽或其片段或表位，其中所述重组多肽的C端前肽形成了多肽间二硫键。

[0255] 实施方式2.根据实施方式1所述的蛋白质，其中所述RSV属于A亚型或B亚型。

[0256] 实施方式3.根据实施方式1或2所述的蛋白质，其中所述表位是线性表位或构象表位。

[0257] 实施方式4.根据实施方式1至3中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽包括F1亚单位肽、F2亚单位肽或其任何组合，所述蛋白质包含三个重组多肽。

[0258] 实施方式5.根据实施方式1至4中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽包含信号肽、七肽重复序列C(HRC)肽、pep27肽、融合肽(FP)、七肽重复序列A(HRA)肽、结构域I肽、结构域II肽或七肽重复序列B(HRB)肽或其任何组合。

[0259] 实施方式6.根据实施方式1至5中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽包含所述F蛋白的F1亚单位但不包含F2亚单位，或相反。

[0260] 实施方式7.根据实施方式1至6中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽包含所述F蛋白的F1亚单位和F2亚单位，任选地不存在pep27，任选地其中所述F1亚单位和所述F2亚单位通过二硫键或人工引入的连接物连接。

- [0261] 实施方式8.根据实施方式1至7中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽不包含跨膜(TM)结构域肽和/或胞质(CP)结构域肽。
- [0262] 实施方式9.根据实施方式1至8中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽包含蛋白酶切割位点，其中所述蛋白酶任选地为弗林蛋白酶、胰蛋白酶、因子Xa或组织蛋白酶L。
- [0263] 实施方式10.根据实施方式1至8中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽不包含蛋白酶切割位点，其中所述蛋白酶任选地为弗林蛋白酶、胰蛋白酶、因子Xa或组织蛋白酶L。
- [0264] 实施方式11.根据实施方式1至10中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽是可溶性的或不直接结合到脂质双分子层，例如膜或病毒包膜。
- [0265] 实施方式12.根据实施方式1至11中任一项所述的蛋白质，其中在所述蛋白质的重组多肽间所述F蛋白肽是相同或不同的。
- [0266] 实施方式13.根据实施方式1至12中任一项所述的蛋白质，其中所述F蛋白肽直接与所述C端前肽融合，或通过连接物如包含甘氨酸-X-Y重复序列的连接物与所述C端前肽连接，其中X和Y独立地为任何氨基酸，任选地为脯氨酸或羟脯氨酸。
- [0267] 实施方式14.根据实施方式1至13中任一项所述的蛋白质，所述蛋白质是可溶性的或不直接结合到脂质双分子层，例如膜或病毒包膜。
- [0268] 实施方式15.根据实施方式1至14中任一项所述的蛋白质，其中所述蛋白质能够形成包含F蛋白肽三聚体的莲座样寡聚物。
- [0269] 实施方式16.根据实施方式1至15中任一项所述的蛋白质，其中所述蛋白质能够结合到受试者的细胞表面附着因子或受体，任选地其中所述受试者是哺乳动物，如灵长类动物，例如人类。
- [0270] 实施方式17.根据实施方式1至16中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽属于人类胶原蛋白。
- [0271] 实施方式18.根据实施方式1至17中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含pro α 1(I)、pro α 1(II)、pro α 1(III)、pro α 1(V)、pro α 1(XI)、pro α 2(I)、pro α 2(V)、pro α 2(XI)或pro α 3(XI)的C端多肽或其片段。

- [0272] 实施方式19.根据实施方式1至18中任一项所述的蛋白质，其中在所述重组多肽间所述C端前肽是相同或不同的。
- [0273] 实施方式20.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:48或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0274] 实施方式21.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:49或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0275] 实施方式22.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:50或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0276] 实施方式23.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:51或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0277] 实施方式24.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:52或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0278] 实施方式25.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:53或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0279] 实施方式26.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:54或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0280] 实施方式27.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:55-59中的任一个或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。

- [0281] 实施方式28.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:60或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0282] 实施方式29.根据实施方式1至19中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含SEQ ID NO:61-63中的任一个或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0283] 实施方式30.根据实施方式1至29中任一项所述的蛋白质，其中所述C端前肽包含含有连接到SEQ ID NO:48-63中任一个的N端的甘氨酸-X-Y重复序列的氨基酸序列，其中X和Y独立地为任何氨基酸， 任选地为脯氨酸或羟脯氨酸，或与其具有至少90%同一性，能够形成多肽间二硫键并使所述重组多肽三聚化的氨基酸序列。
- [0284] 实施方式31.根据实施方式1至30中任一项所述的蛋白质，其中各重组多肽中的所述F蛋白肽呈融合前构象或融合后构象，任选地其中所述蛋白质包括包含拐杖形棒状F蛋白肽三聚体的莲座样寡聚物。
- [0285] 实施方式32.根据实施方式1至31中任一项所述的蛋白质，其中各重组多肽中的所述F蛋白肽包含SEQ ID NO:72-79的任一个或与其具有至少80%同一性的氨基酸序列。
- [0286] 实施方式33.根据实施方式1至31中任一项所述的蛋白质，其中所述重组多肽包含SEQ ID NO:76-79中的任一个或与其具有至少80%同一性的氨基酸序列。
- [0287] 实施方式34.一种免疫原，所述免疫原包含根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质。
- [0288] 实施方式35.一种蛋白质纳米粒子，所述蛋白质纳米粒子包含直接或间接地与纳米粒子连接的根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质。
- [0289] 实施方式36.一种病毒样粒子(VLP)，所述病毒样粒子包含根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质。
- [0290] 实施方式37.一种分离的核酸，所述分离的核酸编码根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质的1、2、3个或更多个重组多肽。

- [0291] 实施方式38.根据实施方式37所述的分离的核酸，其中编码所述F蛋白肽的多肽与编码所述胶原蛋白C端前肽的多肽框内融合。
- [0292] 实施方式39.根据实施方式37或38所述的分离的核酸，所述分离的核酸与启动子可操作地连接。
- [0293] 实施方式40.根据实施方式37至39中任一项所述的分离的核酸，所述分离的核酸是DNA分子。
- [0294] 实施方式41.根据实施方式37至39中任一项所述的分离的核酸，所述分离的核酸是RNA分子，任选地为mRNA分子如核苷修饰mRNA、非扩增mRNA、自扩增mRNA或反式扩增mRNA。
- [0295] 实施方式42.一种载体，所述载体包含根据实施方式37至41中任一项所述的分离的核酸。
- [0296] 实施方式43.根据实施方式42所述的载体，所述载体是病毒载体。
- [0297] 实施方式44.一种包含根据实施方式42或43所述的载体的病毒、假病毒或细胞，任选地其中所述病毒或细胞具有重组基因组。
- [0298] 实施方式45.一种免疫原性组合物，所述免疫原性组合物包含根据实施方式1至44中任一项所述的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒或细胞，以及药学上可接受的载剂。
- [0299] 实施方式46.一种疫苗，所述疫苗包含根据实施方式45所述的免疫原性组合物和任选的佐剂，其中所述疫苗任选地为亚单位疫苗，和/或任选地其中所述疫苗是预防性和/或治疗性疫苗。
- [0300] 实施方式47.根据实施方式46所述的疫苗，其中所述疫苗包含多种不同的佐剂。
- [0301] 实施方式48.一种产生蛋白质的方法，所述方法包括：在宿主细胞中表达根据实施方式37至43中任一项所述的分离的核酸或载体以产生根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质；以及纯化所述蛋白质。
- [0302] 实施方式49.根据实施方式48所述的方法产生的蛋白质。
- [0303] 实施方式50.一种在受试者中对RSV的F蛋白肽或其片段或表位产生免疫应答的方法，所述方法包括向所述受试者给药有效量的根据实施方式1至47和49中任一

项所述的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗以产生所述免疫应答。

- [0304] 实施方式51.根据实施方式50所述的方法,所述方法用于治疗或预防RSV感染。
- [0305] 实施方式52.根据实施方式50或51所述的方法,其中产生所述免疫应答抑制或减少了所述受试者中RSV的复制。
- [0306] 实施方式53.根据实施方式50至52中任一项所述的方法,其中所述免疫应答包括细胞介导应答和/或体液应答,任选地包括产生一种或多种中和抗体,如多克隆抗体或单克隆抗体。
- [0307] 实施方式54.根据实施方式50至53中任一项所述的方法,其中所述免疫应答针对所述RSV的F蛋白肽或其片段或表位,但不针对所述C端前肽。
- [0308] 实施方式55.根据实施方式50至54中任一项所述的方法,其中所述给药不会由于所述受试者先前暴露于一种或多种RSV而引起抗体依赖性增强(ADE)。
- [0309] 实施方式56.根据实施方式50至55中任一项所述的方法,其中所述给药不会在所述受试者随后暴露于一种或多种RSV时引起抗体依赖性增强(ADE)。
- [0310] 实施方式57.根据实施方式50至56中任一项所述的方法,所述方法还包括初免步骤和/或加强步骤。
- [0311] 实施方式58.根据实施方式50至57中任一项所述的方法,其中所述给药步骤通过局部、经皮、皮下、皮内、口服、鼻内(例如鼻内喷雾)、气管内、舌下、颊、直肠、阴道、吸入、静脉内(例如静脉内注射)、动脉内、肌肉内(例如肌肉内注射)、心内、骨内、腹膜内、经粘膜、玻璃体内、视网膜下、关节内、关节周、局部或经表皮给药来进行。
- [0312] 实施方式59.根据实施方式50至58中任一项所述的方法,其中所述有效量以单剂或以一个或多个间期隔开的一系列剂量给药。
- [0313] 实施方式60.根据实施方式50至59中任一项所述的方法,其中所述有效量在无佐剂的情况下给药。
- [0314] 实施方式61.根据实施方式50至59中任一项所述的方法,其中所述有效量与佐剂一起给药。

- [0315] 实施方式62.一种方法,所述方法包括向受试者给药有效量的根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质,以在所述受试者中产生针对RSV的中和抗体或中和抗血清。
- [0316] 实施方式63.根据实施方式62所述的方法,其中所述受试者是哺乳动物,任选地为人类或非人灵长类动物。
- [0317] 实施方式64.根据实施方式62或63所述的方法,所述方法还包括从所述受试者分离所述中和抗体或中和抗血清。
- [0318] 实施方式65.根据实施方式64所述的方法,所述方法还包括通过被动免疫向人类受试者给药有效量的所分离的中和抗体或中和抗血清以预防或治疗RSV感染。
- [0319] 实施方式66.根据实施方式62至65中任一项所述的方法,其中针对所述RSV的所述中和抗体或中和抗血清包含针对所述RSV F蛋白肽或其片段或表位的多克隆抗体,任选地其中所述中和抗体或中和抗血清不含或基本上不含针对所述胶原蛋白C端前肽的抗体。
- [0320] 实施方式67.根据实施方式62至65中任一项所述的方法,其中所述中和抗体包含针对所述RSV F蛋白肽或其片段或表位的单克隆抗体,任选地其中所述中和抗体不含或基本上不含针对所述胶原蛋白C端前肽的抗体。
- [0321] 实施方式68.根据实施方式1至47和49中任一项所述的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗,用于在受试者中诱导对RSV的免疫应答,和/或用于治疗或预防RSV感染。
- [0322] 实施方式69.根据实施方式1至47和49中任一项所述的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗的用途,用于在受试者中诱导对RSV的免疫应答,和/或用于治疗或预防RSV感染。
- [0323] 实施方式70.根据实施方式1至47和49中任一项所述的蛋白质、免疫原、蛋白质纳米粒子、VLP、分离的核酸、载体、病毒、假病毒、细胞、免疫原性组合物或疫苗的用途,用于制造药物或预防剂,所述药物或预防剂用于在受试者中诱导对RSV的免疫应答,和/或用于治疗或预防RSV感染。

- [0324] 实施方式71.一种分析样品的方法,所述方法包括:将样品与根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质接触,以及检测所述蛋白质与能够特异性结合到所述RSV的所述F蛋白肽或其片段或表位的分析物之间的结合。
- [0325] 实施方式72.根据实施方式71所述的方法,其中所述分析物是识别所述F蛋白肽或其片段或表位的抗体、受体或细胞。
- [0326] 实施方式73.根据实施方式71或72所述的方法,其中所述结合表明所述样品中存在所述分析物,和/或所述样品所来源的受试者感染了所述RSV。
- [0327] 实施方式74.一种试剂盒,所述试剂盒包含根据实施方式1至33中任一项所述的蛋白质以及容纳或固定所述蛋白质的基材、衬垫或小瓶,任选地其中所述试剂盒是ELISA或测流测定试剂盒。
- [0328] 实施例
- [0329] 包括以下实施例仅用于说明目的,而非旨在限制本发明的范围。
- [0330] 实施例1: 包含RSV F蛋白肽的重组多肽
- [0331] RSV F糖蛋白构建体来源于RSV A2株(登录号AAC55970)。将F蛋白肽1-520位残基的编码序列进行密码子优化、合成并亚克隆到哺乳动物表达载体pTPRIMER-T0D中,该载体编码人 α 1胶原C-前肽的Hind III和Bgl II位点。图1显示示例性重组多肽的示意图。A: SCB-N25融合蛋白; B: SCB-N25C; C: SCB-N25A; D: SCB-N25T; E: SCB-N25Y; F: SCB-N25G; G: SCB-N25S; H: RSV-WT-F。其中:
- [0332] SCB-N25:SEQ ID NO:8
- [0333] SCB-N20:SEQ ID NO:12
- [0334] SCB-N25C:SEQ ID NO:64
- [0335] SCB-N25A:SEQ ID NO:80
- [0336] SCB-N25T:SEQ ID NO:81
- [0337] SCB-N25Y:SEQ ID NO:82
- [0338] SCB-N25G:SEQ ID NO:83
- [0339] SCB-N25S:SEQ ID NO:84
- [0340] RSV-WT-F:SEQ ID NO:2

[0341] 实施例2：包含RSV F蛋白肽的重组多肽的融合前F蛋白表达

[0342] 第3天，HEK-293T细胞上清液中融合前F蛋白的表达水平通过使用ELISA试剂盒测量光密度来确定(图2)。用携带水平轴上所列变体的质粒瞬时转染HEK-293T细胞，三天后，收获培养物上清液并离心以去除细胞和细胞碎片。

[0343] 将DMEM(10% FBS)稳定传代的293T细胞稀释至0.75million/mL，取0.5mL细胞和1.5mL DMEM铺入六孔板中，37℃CO₂孵箱培养过夜；取300 μL DMEM(-FBS)于1.5mL离心管中，加入9 μL FuGene 6，混匀后室温静置5min；各取100 μL DMEM-FuGene6混合液于3个1.5mL离心管中，并分别加入1 μg重组质粒，混匀后室温静置20min；移除293T培养六孔板每孔1mL培养基，然后分别将上述的质粒-FuGene 6混合液全部加入各孔中，摇匀后放置培养箱中培养，三天后取细胞上清检测蛋白表达。随后使用思那吉斯单抗(Synagis)和AM22抗体在OD₂₈₀处分析离心处理的上清液以确定OD值。A：显示变体的高光密度(OD)值之间的比较；B：显示变体的中间OD值之间的比较。N25C显示出比其它变体的融合前F蛋白表达水平高。SCB-N20公开US10,899,800B2以E161P/S215P突变作为对照。

[0344] 在第3天CHO细胞上清液中，融合前F蛋白的表达水平使用ELISA试剂盒通过测量光密度来确定(图3)。A：显示变异体的高光密度(OD)值之间的比较；B：显示变异体的中间OD值之间的比较。N25C显示变体中融合前F蛋白的高表达水平。

[0345] 在第7天CHO细胞上清液中，融合前F蛋白的表达水平通过使用ELISA试剂盒测量光密度来确定(图4)。A：显示变体间的高OD值之间的比较；B：显示变体间的中间OD值之间的比较。N25C在变体中显示了融合前F蛋白的高表达水平。

[0346] 实施例3：包含RSV F蛋白肽的重组多肽的产生

[0347] 本文提供了包含RSV F蛋白肽的重组多肽的分泌形式作为候选疫苗。

[0348] RSV F糖蛋白构建体来源于RSV A2毒株(登录号AAC55970)。对编码F蛋白肽的残基1至520的序列进行了密码子优化，合成并亚克隆到编码人α1胶原蛋白C前肽的哺乳动物表达载体中的Hind III和Bgl II位点。图1示出了示例性重组多肽的示意图。

- [0349] 将重组质粒转染到GH-CHO(dfhr-)细胞中,选择无次黄嘌呤胸腺嘧啶(HT)(Invitrogen),随MTX(Sigma)浓度增加逐步扩增基因以便在使用CD007-4TM1培养基(Jianshun Biosciences)的无血清培养下高滴度表达融合蛋白。示例性重组多肽通过与Endo180亲和结合,使用盐梯度洗脱进行初步纯化,然后在Superdex 200凝胶过滤柱(GE Healthcare)上进一步纯化。通过尺寸排阻色谱法(SEC-HPLC),根据制造商的说明书(Sepax Technologies)测定包含RSV F肽的示例重组多肽的纯度(图6)。SCB-N25融合蛋白质的主峰面积是92.8%,SCB-N25C的蛋白质的主峰面积为81.7%。
- [0350] 在无血清补料分批培养过程中,发现二硫键连接的融合肽(例如三聚体)的生产滴度高达约0.15g/L(图1B)。含有三聚化重组多肽的条件培养基首先通过与蛋白A色谱柱预捕获的Fc标记的胶原蛋白受体uPARAP/Endo180(甘露糖受体家族的成员)亲和结合(Thomas等人,(2005)J.Biol.Chem.280,22596-22605),然后进行凝胶过滤色谱来进行纯化。SEC-HPLC分析表明示例性重组多肽三聚体的纯度是约95%(图6)。
- [0351] 图5示出使用来自无血清补料分批细胞培养物的示例性融合肽表达的肽8% SDS-PAGE分析的表达水平。SCB-N25C:在非还原和还原条件下分离第1天到第13天的无细胞条件培养基,然后进行考马斯蓝染色,上样量是26 μ l; SCB-N25:在非还原和还原条件下分离从第1天到第13天的无细胞条件培养基,然后进行考马斯蓝染色,上样量是26 μ l。融合蛋白的理论分子量单体是91KD,三聚体是273KD。
- [0352] 图7为亲和动力学试验。图7的A和B通过对思那吉斯单抗和包含RSV F蛋白肽的示例性融合肽的生物层干涉法进行的结合研究。
- [0353] 通该实验亲和性分析检测仪器采用ForteBio Octet分子相互作用仪,探针选用5根Protein A探针,用之前需先浸泡在PBS中。
- [0354] 试剂配制:再生液(0.01M甘氨酸溶液):准确称取0.03g甘氨酸,加水溶解至40mL,混匀,并用6M盐酸调pH至1.5左右,室温保存。
- [0355] 加样顺序:取一干净的96孔测试版,按以下顺序进行加样,200 μ L/孔。

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	L1	B	S1		B	L2	B	S1		R	N
B	L1	B	S2		B	L2	B	S2		R	N
B	L1	B	S3		B	L2	B	S3		R	N
B	L1	B	S4		B	L2	B	S4		R	N
B	L1	B	S5		B	L2	B	S5		R	N

[0356] 备注：B：PBS；L1：10 μ g/mL思那吉斯单抗(Synagis)；L2：10 μ g/mL D25；S1=40 μ g/mL待测蛋白样品；S2=20 μ g/mL待测蛋白样品；S3=10 μ g/mL待测蛋白样品；S4=5 μ g/mL待测蛋白样品；S5=PBS；R：再生液(0.01M甘氨酸溶液)；N：PBS。

[0357] 以上试剂和样品加好后，打开数据采集软件，将样品及所用试剂信息填写完毕后运行程序，该实验分两组进行，第一组可以先测待测蛋白样品与思那吉斯单抗抗体之间的亲和性；第二组测待测蛋白样品与D25抗体之间的亲和性。运行完毕后，采用Octet数据分析软件分析得到Kon、Kdis及KD结果。

[0358] 思那吉斯单抗与纯化的示例性SCB-N25和SCB-N25C重组多肽的结合亲和力表现见图7和图7中的标签中。图7的C和D显示通过D25与包含RSV F蛋白肽的示例性融合肽之间的结合进行的亲和动力学研究。来自抗体D25亲和实验的相应KD、Kon、Kdis显示在图7的标签中。SCB-N25C对帕利珠单抗和抗体D25均表现出高亲和力。

[0359] 实施例4：包含RSV F蛋白肽的重组多肽的功能表征

[0360] 为了评估如实施例1所述产生的示例性重组多肽的免疫原性和保护功效，随机分组的BALB/c小鼠在第0天和第21天用三种剂量(1、6和30 μ g)之一的含有不同佐剂的示例性融合多肽经肌肉内免疫接种两次。用PBS免疫接种的另一组充当对照组。

[0361] 图8A-8D示出了用包含RSV F蛋白肽的示例性融合肽进行免疫接种的试验结果。

[0362] 图8A示出了免疫接种实验方法的示意图：第0天和第21天免疫接种小鼠，在第0天第35天分别收集血清。将6~8周龄SPF级BALB/c雌性小鼠随机分成16组，每

组10只；各组小鼠经肌肉注射免疫PBS或抗原50 μ L，3周后加强免疫一次；2次免疫后第2周通过眼眶静脉采血，并离心分离获得血清，同时每组4只取脾用于Elispot实验。

[0363] 图8B示出针对纯化的示例性融合肽的血清抗-F IgG ELISA滴度值，所述融合肽包含RSV F蛋白肽和佐剂Alum、Alum+CpG 1018或CAS-1。经hRSV候选疫苗免疫的动物血清与hRSV A2真病毒混合，向血清病毒混合物中加入Hep2细胞进行孵育。RSV A2病毒可以感染Hep2细胞，孵育3~4天后(视Cytopathic Effect(CPE)情况来定，病毒对照孔内CPE达到60%及以上)新增殖的病毒可被Biotin标记的思那吉斯单抗(Synagis)抗体捕获，通过SA-HRP二抗进行显色，通过OD450nm处的吸光值大小可以间接反映病毒增殖多少。如果加入的待测血清样本中含有可中和hRSV病毒的中和性抗体，那么中和后的病毒就不能再感染细胞，进而会影响吸光值。OD450nm值越低，血清中的中和抗体滴度越高。以Alum+CpG 1018为佐剂的融合蛋白显示出比以Alum或CAS-1为佐剂的相应融合蛋白更高的滴度值。SCB-N25C显示出比其他抗原更高的滴度值。

[0364] 图8C示出了通过血清样品稀释液测定的对D25和帕利珠单抗与热灭活RSV(HI-RSV)粒子结合提供50%抑制的D25和帕利珠单抗竞争性IgG滴度。值表示为log2和平均值 $\pm$ SEM。DCA：将D25作为包被抗体加入高吸附ELISA 96孔板中，在2-8℃条件下包被过夜，再加入梯度稀释血清样品和SCB-N20-biotin(N20-biotin)抗原标记混合物(1: 1)，免疫血清中的DCA将与D25竞争结合N20-biotin抗原标记物F蛋白上的Site zero位点，后续加入二抗(SA-HRP)识别N20-biotin，每一步骤均通过洗脱除去未结合部分。最后加入TMB显色，H2SO4终止反应。OD450nm值越低，血清中竞争抗体DCA滴度越高。PCA：将那吉斯单抗(Synagis)作为包被抗体加入高吸附ELISA 96孔板中，在2-8℃条件下包被过夜，再加入梯度稀释血清样品和SCB-N20-biotin(N20-biotin)抗原标记混合物(1: 1)，免疫血清中的PCA将与那吉斯单抗竞争结合N20-biotin抗原标记物F蛋白上的Site II 位点，后续加入二抗(SA-HRP)识别N20-biotin，每一步骤均通过洗脱除去未结合部分。最后加入TMB显色，H2SO4终止反应。OD450nm值越低，血清中竞争抗体PCA滴度越高。与Alum结合的所有抗原显示出比其他两种佐剂低的

抗体(DCA和PCA)反应。与Alum+CpG1018佐剂联合使用时, DS-CAV1-Trimer和N20的DCA效价和PCA滴度均较高, 且两者无显著差异。表现最差的是N25。与CAS-1佐剂联合使用的4种候选抗原均无有效的DCA滴度。N20和N25的PCA滴度较高, DS-CAV1-Trimer最低。

[0365] 图8D示出了Elispot试验的结果。疫苗免疫小鼠后的脾脏细胞受到刺激后局部分泌细胞因子, 此细胞因子被特异单克隆抗体捕获。被捕获的细胞因子与生物素标记的二抗抗体结合, 其后再与碱性磷酸酶标记的亲合素结合。经BCIP/NBT底物孵育后, PVDF孔板出现蓝紫色的斑点表明细胞分泌了特定的细胞因子, 通过ELISpot酶联斑点分析系统对斑点进行分析后得出结果。N25C抗原联合Alum佐剂能产生较强的Th1类细胞免疫应答。抗原联合Alum+CpG1018佐剂, 均产生较低的Th2类细胞免疫应答。抗原联合CAS-1佐剂, 均产生较高的Th1类和Th2类细胞免疫应答。

[0366] 用酶联免疫吸附测定(ELISA)评价血清。简而言之, 96孔板在4℃下用2 μg/mL纯化的示例性融合肽(在PBS中)包覆过夜, 并用1mg/mL BSA阻断。将板用PBST洗涤, 随后与血清的连续2倍稀释液(1:64至1:262,144)一起室温孵育2小时。通过HRP缀合的山羊抗小鼠IgG(SouthernBiotech)室温检测结合的抗体1小时。用TMB(Thermo)开展酶促反应并通过加入2M HCl终止酶促反应并记录450nm下的吸光度。使用相同稀释度的PBS免疫接种小鼠血清作为阴性对照组, 抗体滴度定义为导致OD RSV F三聚体与OD PBS的比率为2.0的血清稀释度。

[0367] 使用HeLa细胞和RSV A2毒株进行RSV微量中和测定。血清在56℃下加热灭活30分钟, 并连续稀释在96孔细胞培养板中的无血清DMEM中(50 μL/孔)。向板中加入相等体积的病毒(1,000pfu/mL, 在无血清DMEM制备), 将血清/病毒混合物在37℃孵育1小时。向板中加入含大约 5×10^4 个HeLa细胞的100 μL补充有10% FBS的DMEM并在37℃孵育, 直到阳性对照(仅病毒)孔显示100% CPE。将板用PBST洗涤, 用含80%预冷丙酮的PBS固定10分钟。向孔中加入适当的帕利珠单抗, 用1mg/mL BSA阻断1小时后, 室温孵育2小时。三次洗涤后, 加入HRP缀合的山羊抗人IgG(SouthernBiotech), 进行酶促反应并记录450nm下的OD。对CPE形成造成50%抑制的稀释度确定为中和抗体滴度。

[0368] 由于抗原位点II在示例性重组多肽上是暴露的，因此进行了帕利珠和D25单抗竞争性ELISA，以确定示例性重组多肽诱导的抗体是否针对该位点。

[0369] 使用包覆 5×10^6 pfu/mL热灭活RSV(HI-RSV，在50mM碳酸盐-碳酸氢盐缓冲液中，pH 9.2)的96孔ELISA板进行帕利珠和D25单抗竞争性ELISA，在4°C孵育过夜。未包覆的表面用1mg/mL BSA阻断。将血清混合物的两倍稀释液(1:32至1:4,096)与适当量的帕利珠和D25单抗一起加入孔中，并室温孵育2小时。使用HRP缀合的山羊抗人IgG(SouthernBiotech)和TMB底物检测结合的帕利珠单抗。含有PBS免疫接种的小鼠血清的孔表示非竞争性阳性对照组，抑制百分比计算为 $((OD\text{ PBS}-OD\text{ RSV F三聚体})/OD\text{ PBS}) \times 100\%$ 。竞争性结合滴度表示为引起50%抑制的稀释度。

[0370] 本发明不希望在范围上局限于特定的所公开的实施方式，所公开的实施方式是为了例如说明本发明的各个方面而提供。所述组合物和方法的各种修改将从本文的描述和教导中显而易见。这些变化可以在不脱离本公开的真实范围和精神的情况下实施，并且希望落在本公开的范围之内。

[0371] 序列

SEQ ID NO.	序列	描述
1	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR FMNYTLNNAKKTNTLSKKRRRRLGFLGVSALASGVAVSK VLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPIVKNQSCSISNIATVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQSSYSIMS IIEEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNLCNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNLTLYYVKNQEGKS LYVKGEPINIFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGKRSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPP GPPSAGDFDFSLPQPPQEKAHGGRYYRANDANVVRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNP DKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKTIVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAP DQEFGFDVGPVCFL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，806 aa
2	MELLILKANAITTILTAVFTECFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKK RKRRLGFLGVSALASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIATV IEFQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMP ITNDQKKLMSNNVQIVRQSSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGV IDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFP QAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYV SNKGVDTVSVGNLTLYYVKNQEGKSLYVKGEPINIFYDPLVFPSE DFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKRSNGLPGPIGPP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGDFDFSLPQPPQEK AHGGRYYRANDANVVRDRDLEVDTTLKSLSQIENIRSPGSRK NPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAIKVFCNMET GETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDGFQFE YGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEAQNTITYHCKNSVAYMDQQT GNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWG KTIVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFDVGPVCFL	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，831 aa
3	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARAEPR FMNYTLNNAKKTNTLSKKRRRRLGFLGVSALASGVAVSK VLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPIVKNQSCSISNIATVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQSSYSIMS IIEEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNLCNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNLTLYYVKNQEGKS LYVKGEPINIFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGKRSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPP GPPSAGDFDFSLPQPPQEKAHGGRYYRANDANVVRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNP DKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKTIVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAP DQEFGFDVGPVCFL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，806 aa (R109A 突变体)
4	MELLILKANAITTILTAVFTECFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARAEPRFMNYTLNNAKKTNTLSKK	有信号肽的 RSV 融合糖蛋

SEQ ID NO.	序列	描述
	RKRRFLGFLGVSASIASGVA VSKVLHLEGEV NIKSALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVL DLK NYIDKQLLPV NKQSCSISNIATVI EFQQKNNRLL EITREFSVNAGV TTPVSTYMLTNSFLLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLA YVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFP SDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKR SNGLPGPPIGP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDFSFLPQPPQEKAH DGGRYR RANDANVVRDRDLEVDTTLSLSQQIENIR SPEGSRK NPARTCRDLKMCIISDWKSGEY WIDPNQGCNLDAIKVFCNMET GETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRIIVWFGESMTDGFQFE YGGQGS DPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYIICKNSVAYMDQQ TGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWG KTVIEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAPDQEF GFDVGPVCFL	白 F 三聚体融合多肽, 831 aa (R109A 突变体)
5	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENCN GTD AKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRAFLGFLGVSASIASGVA VSK VLHLEGEV NIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVL DLK NYID KQLLPV NKQSCSISNIATVIEFQQKNNRLL EITREFSVNAGV TTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLA YVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNL CNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFP SDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGKR SNGLPGPPIGP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPP GPPSAGFDFSFLPQPPQEK AHDGGRYR RANDANVVRDRDLEVD TTLSLSQQIENIR SPEGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNP DKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQGS DPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAP DQEF GFDVGPVCFL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽, 806 aa (R136A 突变体)
6	MELLILKANAITILTAVTFCFASGONITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENCN GTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRAFLGFLGVSASIASGVA VSKVLHLEGEV NIKSALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVL DLK NYIDKQLLPV NKQSCSISNIATVI EFQQKNNRLL EITREFSVNAGV TTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLA YVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFP SDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKR SNGLPGPPIGP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDFSFLPQPPQEKAH DGGRYR RANDANVVRDRDLEVDTTLSLSQQIENIR SPEGSRK NPARTCRDLKMCIISDWKSGEY WIDPNQGCNLDAIKVFCNMET GETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDGFQFE YGGQGS DPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHCKNSVAYMDQQ TGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWG KTVIEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAPDQEF GFDVGPVCFL	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽, 831 aa (R136A 突变体)
7	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENCN GTD AKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRAFLGFLGVSASIASGVA VSK VLHLEGEV NIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVL DLK NYID KQLLPV NKQSCSISNIATVIEFQQKNNRLL EITREFSVNAGV TTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLA YVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNL CNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFP SDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽, 806 aa (R109A/R136A 突变体)

SEQ ID NO.	序列	描述
	LHNVNAGKRSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGDFDFSLPQPPQEKAHDGGYYRANDANVVRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNP DKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAP DQEFGFDVGPVCFL	
8	MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARAELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKK RKRAFLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNK AVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIATVI EFQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYVVLPLYGVID TPCWKLHITSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGNCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVINKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKRSNGLPGPIGPP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGDFDFSLPQPPQEKAH DGGYYRANDANVVRDRDLEVDTTLSLSQIENIRSPGSRK NPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAIKVFCNMET GETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDGFQFE YGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEAQNITYHCKNSVAYMDQQT TGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWG KTVIEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAPDQEFGFDVGPVCFL	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，831 aa (R109A/R136A 突变体)， SCB-N25
9	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR FMNYTLNNAKKTNTLSKKRRRFLGFLGVGSAIASGVAVSK VLHLPGEVNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPVINKQSCSIPNIATVIEFQKNNRLLLEITREFSVNAGVTT VSTYMLTNSSELLSLINDMPIITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIM SIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHITSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNLCNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSGNCDYVSNGVDTVSVGNTLYYVINKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGKRSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPP GPPSAGDFDFSLPQPPQEKAHDGGYYRANDANVVRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNP DKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAP DQEFGFDVGPVCFL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，806 aa (E161P/S215P 突变体)
10	MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKK RKRRFLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLPGEVNIKSALLSTNK AVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIATVI EFQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYVVLPLYGVID TPCWKLHITSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGNCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVINKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKRSNGLPGPIGPP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGDFDFSLPQPPQEKAH DGGYYRANDANVVRDRDLEVDTTLSLSQIENIRSPGSRK NPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAIKVFCNMET GETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDGFQFE YGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEAQNITYHCKNSVAYMDQQT TGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWG KTVIEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAPDQEFGFDVGPVCFL	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，831 aa (E161P/S215P 突变体)

SEQ ID NO.	序列	描述
11	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARAELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRAFLGFLLGVGSAIASGVAVSK VLHLPGEVNIKISALLSTNKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPVINKQSCSIPNIATVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNL CNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LIHNVNAGKRSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPP GPPSAGFDFSLPQPPQEKAIIDGGRYRANDANVVRDRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPEGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNP DKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKTVEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAP DQEFGFDVGPVCFL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，806 aa (R109A/R136A/E161P/S2 15P 突变体)
12	MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARAELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRAFLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLPGEVNIKISALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIATVI EFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFQA AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYV NKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLIHNVNAGKRSNGLPGPIGPP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDFSLPQPPQEKAIH DGGRYRANDANVVRDRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPEGSRK NPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAIKVFCNMET GETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDGFQFEY YGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQT TGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWG KTVEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAPDQEFGFDVGPVCFL	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽，831 aa (R109A/R136A/E161P/S2 15P 突变体)，SCB-N20
13	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARAELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRAFLGFLLGVGSAIASGVAVSK VLHLPGEVNIKISALLSTNKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPVINKQSCSIPNIATVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNL CNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LIHNVNAGKRSANVVRDRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPEGSRK NPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAIKVFCNMETG ETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDGFQFEY GGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQT GNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWG KTVEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAPDQEFGFDVGPVCFL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽 F-CICP(无甘氨酸重复序列 和 BMP-1 位点)，741 aa (R109A/R136A/E161P/S2 15P 突变体)
14	MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARAELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRAFLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLPGEVNIKISALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIATVI EFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFQA AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYV NKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLIHNVNAGKRSNGLPGPIGPP GPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDFSLPQPPQEKAIH DGGRYRANDANVVRDRDRDLEVD TTLKSLSQIENIRSPEGSRK NPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAIKVFCNMETG ETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDGFQFEY GGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQT GNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWG KTVEYKTTKTSRLPHIDVAPLDVGAPDQEFGFDVGPVCFL	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽 F-CICP(无甘氨酸重复序列 和 BMP-1 位点)，766 aa (R109A/R136A/E161P/S2 15P 突变体)

SEQ ID NO.	序列	描述
	NKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLHNVNAGKRSANVVRDRDL EVDITLKSLSQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEY WIDPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISK NPKDKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMS TEASQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEG NSRFTYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLD VGAPDQFEFGFDVGPVCF	15P 突变体)
15	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDKAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPPTNNRARELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRRRFLGFLLGVSASIASGVAVSK VLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQKNNRLEITREFSVNAGVTTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSISIMS IIEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE INLCNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGMDTVSVGNTLYYVKNQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSD LHNVNAGKRSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPP GPPSAGDFDFSLPQPPQEKADGGRYRANDANVVRDRDLVD TTLKSLSQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISK NPKDKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAP DQFEFGFDVGPVCF	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽, 806 aa (P102, E218, I379, M447)
16	MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPPTNNRARELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRRLGFLLGVSASIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVI EFQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSISIMSIIEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEINLCNVDFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVS NKGMDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSD EFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLHNVNAGKRSNGLPGPIG PGRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGDFDFSLPQPPQEK ADGGRYRANDANVVRDRDLVD TTLKSLSQIENIRSPGSR KNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAIKVFCNME TGETCVYPTQPSVAQKNWYISK NPKDKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAW GKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQFEFGFDVGPVCF	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 三聚体融合多肽, 831 aa (P102, E218, I379, M447)
17	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDKAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRRRFLGFLLGVSASIASGVAVSK VLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPIVKNQSCSISNIATVIEFQKNNRLEITREFSVNAGVTTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSISIMS IIEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNLNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSD LHNVNAGK	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 胞外结构域
18	MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRRLGFLLGVSASIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIATVI EFQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 胞外结构域

SEQ ID NO.	序列	描述
	TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK	
19	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQLQLMQSTPATNNRARAELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRFLGFLGVSAGIASGVAVSK VLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPIVVKQSCSISNIATVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNL CNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSGNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGK	无信号肽的 RSV 融合糖蛋白 F 胞外结构域(R109A 突变体)
20	MELLILKANAITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNA VTEQLQLMQSTPATNNRARAELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRRFLGFLGVSAGIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSISNIATVI EFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK	有信号肽的 RSV 融合糖蛋白 F 胞外结构域(R109A 突变体)
21	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQLQLMQSTPATNNRARRELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRFLGFLGVSAGIASGVAVSK VLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYID KQLLPIVVKQSCSISNIATVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNL CNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSGNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGKRSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPP GPPSAGFDFSLPQPPEKAHDGGRYYRANDANVVRDRDRLEVD TTLKSLSQIENIRSPESRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWI DPNQGCNLDAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNP DKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQGS DPADVAIQLTFLRLMSTEA SQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRF TYSVTVDGCTSHTGAWGKT VIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAP DQEFGEFVGPVCFL	无信号肽的 RSV 融合糖蛋白 F 胞外结构域(R136A 突变体)
22	MELLILKANAITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNA VTEQLQLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRAFLGFLGVSAGIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNK AVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSISNIATVI EFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK	有信号肽的 RSV 融合糖蛋白 F 胞外结构域(R136A 突变体)
23	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEQLQLMQSTPATNNRARAELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRFLGFLGVSAGIASGVAVSK	无信号肽的 RSV 融合糖蛋白 F 胞外结构域

SEQ ID NO.	序列	描述
	VLHLEGEVNNIKSALLSTNKA VVSL SNGVSVLT SKVLDLKNYID KQLLPIVNNKQSCSISNIATVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGV TTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNLCNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNNKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGK	(R109A/R136A 突变体)
24	MELLILKANAITTILTA VTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARAELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRAFLGFLLGVGSAIASGVA VSKVLIHLEGEVNNIKSALLSTNK AVVSL SNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIVNNKQSCSISNIATVI EFQQKNNRLLLEITREFSVNAGV TTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYV NKGVDTVSVGNTLYYVNNKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 胞外结构域 (R109A/R136A 突变体)
25	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRRRFLGFLLGVGSAIASGVA VSK VLIHLPGEVNNIKSALLSTNKA VVSL SNGVSVLT SKVLDLKNYID KQLLPIVNNKQSCSIPNIATVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGV TTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNLCNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNNKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGK	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 胞外结构域 (E161P/S215P 突变体)
26	MELLILKANAITTILTA VTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRRFLGFLLGVGSAIASGVA VSKVLIHLPGEVNNIKSALLSTNK AVVSL SNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIVNNKQSCSIPNIATVI EFQQKNNRLLLEITREFSVNAGV TTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYV NKGVDTVSVGNTLYYVNNKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 胞外结构域 (E161P/S215P 突变体)
27	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARAELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRRRAFLGFLLGVGSAIASGVA VSK VLIHLPGEVNNIKSALLSTNKA VVSL SNGVSVLT SKVLDLKNYID KQLLPIVNNKQSCSIPNIATVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGV TTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLT RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE VNLCNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNNKQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGK	无信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 胞外结构域 (R109A/R136A/E161P/S2 15P 突变体)
28	MELLILKANAITTILTA VTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARAELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRAFLGFLLGVGSAIASGVA VSKVLIHLPGEVNNIKSALLSTNK AVVSL SNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIVNNKQSCSIPNIATVI EFQQKNNRLLLEITREFSVNAGV TTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVID	有信号肽的 RSV 融合糖蛋 白 F 胞外结构域 (R109A/R136A/E161P/S2 15P 突变体)

SEQ ID NO.	序列	描述
	TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK	
29	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPPTNNRARRRELPR FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRRRFLGFLLGVGSAIASGVAVSK VLHLEGEVKNIKSALLSTNKA VVSL SNGVSVLTSKVL DLKNYID KQLLPVKNQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTP VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICL TRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSE INLCNV DIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCT ASNKNRGIKTFSSNGCDYVS NKGMDTVSVGNTLYYVKNQEGKS LYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL LHNVNAGK	无信号肽的 RSV 融合糖蛋白 F 胞外结构域 (P102, E218, I379, M447)
30	MELLILKANAITTILTA VTF CFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPPTNNRARRRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRRFLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNK AVVSL SNGVSVLTSKVL DLKNYIDKQLLPVKNQSCSISNIETVI EFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSHKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEINLCNV DIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVS NKGMDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPD EFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK	有信号肽的 RSV 融合糖蛋白 F 胞外结构域 (P102, E218, I379, M447)
31	MELLILKANAITTILTA VTF CFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPPTNNRARRRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRRFLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNK AVVSL SNGVSVLTSKVL DLKNYIDKQLLPVKNQSCSISNIETVI EFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSHKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEINLCNV DIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVS NKGMDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPD EFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTNIMITTHIV IIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTL SKDQLSGINNIAFSN	RSV 融合糖蛋白 F0, 574 aa (P102, E218, I379, M447)
32	MELLILKANAITTILTA VTF CFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYL SALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNA VTELQLLMQSTPATNNRARRRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKK RKRRFLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNK AVVSL SNGVSVLTSKVL DLKNYIDKQLLPVKNQSCSISNIATVI EFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSHKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQ AETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNPKYDCKIMTS KTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVS NKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDE FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTNIMITTHIIV IIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTL SKDQLSGINNIAFSN	RSV 融合糖蛋白 F0, 574 aa (A102, A218, V379, V447)
33	MELLILKANAITTILTA VTF CFASG	RSV 融合糖蛋白 F 信号肽, 25 aa (SEQ ID NO: 31 或 32 的 1-25)
34	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPPTNNRARR	RSV 融合糖蛋白 F2 (SEQ ID NO: 31 的 26-109)

SEQ ID NO.	序列	描述
35	QNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARR	RSV 融合糖蛋白 F2 (SEQ ID NO: 32 的 26-109)
36	RARR	弗林蛋白酶位点 I (SEQ ID NO: 31 或 32 的 106-109)
37	RARA	弗林蛋白酶位点 I 突变体 (R109A)
38	ELPRFMNYTLNNAKKTNVTLSKKRKR	RSV 融合糖蛋白 F pep27 (SEQ ID NO: 31 或 32 的 110-136)
39	KKRKR	弗林蛋白酶位点 II (SEQ ID NO: 31 或 32 的 131-136)
40	KKRKRA	弗林蛋白酶位点 II 突变体 (R136A)
41	FLGFLLGVGSAIASGVAVS	RSV 融合糖蛋白 F FP (SEQ ID NO: 31 或 32 的 137-155)
42	FLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNKIKSALLSTNKAVVS LSNGVSVLTskVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQ KNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQ KKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIKKEVLAYVVQLPLYGVIDTPCW KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEINLCNVDFENPKYDCKIMTSKTDV SSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASKNRGIKTFSGNGCDYVSNKG MDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTN	RSV 融合糖蛋白 F1 (SEQ ID NO: 31 的 137-524)
43	FLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNKIKSALLSTNKAVVS LSNGVSVLTskVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQ KNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQ KKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIKKEVLAYVVQLPLYGVIDTPCW KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLNVDFENPKYDCKIMTSKTD VSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASKNRGIKTFSGNGCDYVSNKG VDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTTN	RSV 融合糖蛋白 F1 (SEQ ID NO: 32 的 137-524)
44	IMITTHIVHIVILLSLIAVGLLLYC	RSV 融合糖蛋白 F 跨膜结 构域 (SEQ ID NO: 31 或 32 的 525-550)
45	KARSTPVTLSKDQLSGINNIASFN	RSV 融合糖蛋白 F 胞质结 构域 (SEQ ID NO: 31 或 32 的 551-574)
46	KVLHLEGEVKNKIKSALLSTNKAVVSLNSGVSVLTskVLDLKNYI DKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTP PVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIM SIKKEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICL TRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLP SEINLCNVDFENPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKC	RSV 融合糖蛋白 F1 片段 (SEQ ID NO: 31 的 156-520)

SEQ ID NO.	序列	描述
	TASNKNRGIHKTFSGNGCDYVSNKGMMDTVSVGNTLYYVKNQEGK SLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDE LLHNVNAGK	
47	KVLHLEGEVNNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYI DKQLLPIVKNQSCSISNIATVIEFQKNNRLLLEITREFSVNAGVTT PVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIM SIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICL TRTDGRGWYCDNAGSVSFFPQAECKVQSNRVFCDTMNSLTLP EVNLCNVDFINPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKC TASNKNRGIHKTFSGNGCDYVSNKGMMDTVSVGNTLYYVKNQEGK SLYVKGEPIINFYDPLVFPSPDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDE LLHNVNAGK	RSV 融合糖蛋白 F1 片段 (SEQ ID NO: 32 的 156-520)
48	ANVVRDRDLEVDTTLSLQQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKM CHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIAKVFCNMETGETCVYPTQPSV AQKNWYISKPNPKDKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQGSADVA IQLTFLRLMSTEASQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLQG SNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEWKTTKTSR LPIIDVAPLDVGAPDQEFGEFVGPVCFL	三聚化肽 (I 型), QT 版本
49	RSANVVRDRDLEVDTTLSLQQIENIRSPGSRKNPARTCRDL KMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIAKVFCNMETGETCVYPTQ PSVAQKNWYISKPNPKDKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQGSADVA IQLTFLRLMSTEASQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLQG SNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEWKTTKTSR LPIIDVAPLDVGAPDQEFGEFVGPVCFL	三聚化肽 (I 型), QT 版本
50	NGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDFSE LPQPPQEK AHDGGRYYRANDANVVRDRDLEVDTTLSLQQIE NIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIA IKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKPNPKDKRHVWFGES MTDGFQFEYGGQGSADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHCKN SVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGC TSHTGAWGKTVIEWKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGEFVGP VCFL	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 D→N 突变, QT 版本
51	NGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDFSE LPQPPQEK AHDGGRYYRNDANVVRDRDLEVDTTLSLQQIE NIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIA IKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKPNPKDKRHVWFGES MTDGFQFEYGGQGSADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHCKN SVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGC TSHTGAWGKTVIEWKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGEFVGP VCFL	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 A→N 突变, QT 版本
52	RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDF SFLPQPPQEK AHDGGRYYRANDANVVRDRDLEVDTTLSLQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIA IKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKPNPKDKRHVWF GESMTDGFQFEYGGQGSADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEWKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGEF VGPVCFL	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 D→N 突变, QT 版本
53	GSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDF SFLPQPPQEK AHDGGRYYRANDANVVRDRDLEVDTTLSLQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIA IKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKPNPKDKRHVWF GESMTDGFQFEYGGQGSADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEWKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGEF VGPVCFL	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 D→N 突变, QT 版本
54	ANVVRDRDLEVDTTLSLQQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKM CHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIAKVFCNMETGETCVYPTQPSV AQKNWYISKPNPKDKRHVWFGESMTDGFQFEYGGQGSADVA IQLTFLRLMSTEASQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALLKG SNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEWKTTKSSR LPIIDVAPLDVGAPDQEFGEFVGPVCFL	三聚化肽 (I 型), KS 版本
55	RSANVVRDRDLEVDTTLSLQQIENIRSPGSRKNPARTCRDL KMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDIAKVFCNMETGETCVYPTQ	三聚化肽 (I 型), KS 版本

SEQ ID NO.	序列	描述
	PSVAQKNWYISKNPDKRHHVWFGESMTDGFQFEYGGQGSDDPA DVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHCKNSVAYMDQQTGNLKKALL LKGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEWYKTTK SSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFQFDFVGPVCF	
56	NGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDFSF LPQPPQEK AHDGGRYRANANVVRDRDLEVDTTLKSLSQQIE NIRSPFGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDA IKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHVWFGES MTDGFQFEYGGQGSDDPAVAILTFLRLMSTEASQNITYHCKN SVAYMDQQTGNLKKALLLKGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGC TSHTGAWGKTVIEWYKTTKSSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFQFDFV PVCFL	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 D→N 突变, KS 版本
57	NGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDFSF LPQPPQEK AHDGGRYRNDANVVRDRDLEVDTTLKSLSQQIE NIRSPFGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDA IKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHVWFGES MTDGFQFEYGGQGSDDPAVAILTFLRLMSTEASQNITYHCKN SVAYMDQQTGNLKKALLLKGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGC TSHTGAWGKTVIEWYKTTKSSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFQFDFV PVCFL	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 A→N 突变, KS 版本
58	RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDF SFLPQPPQEK AHDGGRYRANANVVRDRDLEVDTTLKSLSQQ IENIRSPFGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHVW GESMTDGFQFEYGGQGSDDPAVAILTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLKGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEWYKTTKSSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFQF VGPVCF	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 D→N 突变, KS 版本
59	GSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPSAGDF SFLPQPPQEK AHDGGRYRANANVVRDRDLEVDTTLKSLSQQ IENIRSPFGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHVW GESMTDGFQFEYGGQGSDDPAVAILTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLKGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEWYKTTKSSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFQF VGPVCF	三聚化肽 (I 型), 具有甘 氨酸-X-Y 重复序列和 BMP-1 位点的 D→N 突变, KS 版本
60	DEIMTSLKSVNGQIESLISPDGSRKNPARNCRDLKFCHPELKS GEYWVDPNQGCCKLDAIKVFCNMETGETCISANPLNVPRKHWW TSSAEKKHVWFGESMDGGFQFSYGNPELPELVLDVQLAFLRL LLSSRASQNITYHCKNSIAYMDQASGNVKKALKLMGSGNEGEF KAEGNSKFTYTVLEDGCTKHTGEWSKTVFEYRTRKAVRLPIV DIAPYDIGGPDQEFQFVDPVCF	三聚化肽 (III 型)
61	EPMDFKINTDEIMTSLKSVNGQIESLISPDGSRKNPARNCRDL KFCHPELKSGEYWVDPNQGCCKLDAIKVFCNMETGETCISANPL NVPRKHWWTSSAEKKHVWFGESMDGGFQFSYGNPELPELVLD VQLAFLRLLLSSRASQNITYHCKNSIAYMDQASGNVKKALKLMG SGNEGEFKAEGNSKFTYTVLEDGCTKHTGEWSKTVFEYRTRKA VRLPIVDIAPYDIGGPDQEFQFVDPVCF	三聚化肽 (III 型)
62	SEPMDFKINTDEIMTSLKSVNGQIESLISPDGSRKNPARNCRDL KFCHPELKSGEYWVDPNQGCCKLDAIKVFCNMETGETCISANPL NVPRKHWWTSSAEKKHVWFGESMDGGFQFSYGNPELPELVLD VQLAFLRLLLSSRASQNITYHCKNSIAYMDQASGNVKKALKLMG SGNEGEFKAEGNSKFTYTVLEDGCTKHTGEWSKTVFEYRTRKA VRLPIVDIAPYDIGGPDQEFQFVDPVCF	三聚化肽 (III 型)
63	RSEPMDFKINTDEIMTSLKSVNGQIESLISPDGSRKNPARNCRDL KFCHPELKSGEYWVDPNQGCCKLDAIKVFCNMETGETCISANPL NVPRKHWWTSSAEKKHVWFGESMDGGFQFSYGNPELPELVLD VQLAFLRLLLSSRASQNITYHCKNSIAYMDQASGNVKKALKLMG SGNEGEFKAEGNSKFTYTVLEDGCTKHTGEWSKTVFEYRTRKA VRLPIVDIAPYDIGGPDQEFQFVDPVCF	三聚化肽 (III 型)
64	MELLILKANA ITTILTAFT CFASQONITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNACRE LPRFMNYTLN NAKKTNTVLS KKCKCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL	有信号肽 hRSV-F 融合多肽 (SCB-N25C) (R106C)

SEQ ID NO.	序列	描述
	EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVNAGVTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IIKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPINFYDPL VFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGRYRANANVVRDRDLEVDTTLSLSQQ IENIRSPESGRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRIIWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	R108C, R133C, R135C, R136C)
65	MELLILKANA ITTILTAFT CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRACRE LPRFMNYTLNNAKKTNTLS KKCKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVNAGVTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IIKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPINFYDPL VFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGRYRANANVVRDRDLEVDTTLSLSQQ IENIRSPESGRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRIIWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	有信号肽 hRSV-F 融合多 肽 R108C, R133C, R135C, R136C
66	MELLILKANA ITTILTAFT CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRARRE LPRFMNYTLN NAKKTNTLS KKCKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVN AGVTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IIKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPINFYDP LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGRYRANANVVRDRDLEVDTTLSLSQQ IENIRSPESGRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRIIWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	有信号肽 hRSV-F 融合多肽 R133C, R135C, R136C
67	MELLILKANA ITTILTAFT CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRARRE LPRFMNYTLN NAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVN	有信号肽 hRSV-F 融合多 肽 R135C, R136C

SEQ ID NO.	序列	描述
	AGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IIKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDP LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHWF GESMTDGFQFEYGGQGS DPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKT VIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	
68	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNACRE LPRFMNYTLN NAKKTNTLS KKCKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVNAGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IIKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHWF GESMTDGFQFEYGGQGS DPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKT VIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	无信号肽 hRSV-F 融合多肽 (SCB-N25C) (R106C, R108C, R133C, R135C, R136C)
69	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRACRE LPRFMNYTLNNAKKTNTLS KKCKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVNAGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IIKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHWF GESMTDGFQFEYGGQGS DPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKT VIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	无信号肽 hRSV-F 融合多肽 R108C, R133C, R135C, R136C
70	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRARRE LPRFMNYTLNNAKKTNTLS KKCKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVNAGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG	无信号肽 hRSV-F 融合多肽 R133C, R135C, R136C

SEQ ID NO.	序列	描述
	WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGRYYRANDANVVRDRDLEVDTLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHWVF GESMTDGFQFEYGGQGSADVAIQLTFLRLMSTEASQNTIYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSIHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFQGD VGPVCFL	
71	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRARRE LPRFMNYTLNNAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNIKSA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNIYD KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVNAGVTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQSYSIMS IIEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEK AHDGGRYYRANDANVVRDRDLEVDTLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHWVF GESMTDGFQFEYGGQGSADVAIQLTFLRLMSTEASQNTIYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSIHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFQGD VGPVCFL	无信号肽 hRSV-F 融合多 肽 R135C, R136C
72	MELLILKANA ITTILTAFT CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNACRE LPRFMNYTLN NAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNIKSA LLSTNKAVVSLNSGVSVLTS KVLDLKNIYD KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVNAGVTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQSYSIMS IIEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	有信号肽 hRSV-F 抗原 R106C, R108C, R133C, R135C, R136C)
73	MELLILKANA ITTILTAFT CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNACRE LPRFMNYTLNNAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNIKSA LLSTNKAVVSLNSGVSVLTS KVLDLKNIYD KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVNAGVTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQSYSIMS IIEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDPLVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	有信号肽 hRSV-F 抗原 R108C, R133C, R135C, R136C
74	MELLILKANA ITTILTAFT CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRARRE LPRFMNYTLN NAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL	有信号肽 hRSV-F 抗原 R133C, R135C, R136C

SEQ ID NO.	序列	描述
	EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNSGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVN AGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLEYVK GEPIINFYDP LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	
75	MELLILKANA ITTILTAUTF CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRARRE LPRFMNYTLN NAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNSGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVN AGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLEYVK GEPIINFYDP LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	有信号肽 hRSV-F 抗原 R135C, R136C
76	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNACRE LPRFMNYTLN NAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNSGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVNAGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLEYVK GEPIINFYDPLV FPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	无信号肽 hRSV-F 抗原 R106C, R108C, R133C, R135C, R136C)
77	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIELSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRACRE LPRFMNYTLNNAKKTNTLS KKKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVSLNSGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVNAGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPTNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYVVQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKTKCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLEYVK GEPIINFYDPLV FPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	无信号肽 hRSV-F 抗原 R108C, R133C, R135C, R136C
78	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNRARRE LPRFMNYTLNNAKKTNTLS KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVKNQ SCSISNIETV IEFQKNNRL LEITREFSVNAGVTTTPVSTY MLTNSSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLEYVK GEPIINFYDPLV FPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	无信号肽 hRSV-F 抗原 R133C, R135C, R136C
79	QNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST	无信号肽 hRSV-F 抗原

SEQ ID NO.	序列	描述
	PATNNRARRE LPRFMNYTLNNAKKTNTVTL KKRKCCFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNKIKSA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPVINKQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVNAGVTTTPVSTY MLTNSSELLS INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKVQSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDPLVFPSEDFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL	R135C, R136C
80	MELLILKANA ITTILTAVTF CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNAAARE LPRFMNYTLN NAKKTNTVTL KAKAAFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNKKISA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPVINKQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVN AGVTTTPVSTY MLTNSSELLS INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDP LVFPSEDFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEKAHIDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKPNPKDKRHVWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	有信号肽 hRSV-F 融合多肽 (SCB-N25A) R106A, R108A, R133A, R135A, R136A
81	MELLILKANA ITTILTAVTF CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNTATRE LPRFMNYTLN NAKKTNTVTL KKTKTTLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNKKISA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPVINKQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVN AGVTTTPVSTY MLTNSSELLS INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDP LVFPSEDFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEKAIIDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKPNPKDKRHVWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	有信号肽 hRSV-F 融合多肽 (SCB-N25T) R106T, R108T, R133T, R135T, R136T
82	MELLILKANA ITTILTAVTF CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNYAYRE LPRFMNYTLN NAKKTNTVTL KKYKYFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNKKISA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPVINKQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVN AGVTTTPVSTY MLTNSSELLS INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLHTSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV	有信号肽 hRSV-F 融合多肽 (SCB-N25Y) R106Y, R108Y, R133Y, R135Y, R136Y

SEQ ID NO.	序列	描述
	QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDP LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEKAHDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSIHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	
83	MELLILKANA ITTILTAVTF CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNGAGRE LPRFMNYTLN NAKKTNTVLS KKGKGGFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVNKQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVN AGVTTVPSTY MLTNSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLIITSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDP LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEKAHDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSIHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	有信号肽 hRSV-F 融合多肽 (SCB-N25G) R106G, R108G, R133G, R135G, R136G
84	MELLILKANA ITTILTAVTF CFASGQNITE EFYQSTCSAV SKGYLSALRT GWYTSVITIE LSNIKENKCN GTDAKVKLIK QELDKYKNAV TELQLLMQST PATNNSASRE LPRFMNYTLN NAKKTNTVLS KKS KSSFLGF LLGVGSAIAS GVAVSKVLHL EGEVNLIKSA LLSTNKAVVS LSNGVSVLTS KVLDLKNYID KQLLPIVNKQ SCSISNIETV IEFQQKNNRL LEITREFSVN AGVTTVPSTY MLTNSELLSL INDMPITNDQ KKLMSNNVQI VRQQSYSIMS IIKEEVLAYV VQLPLYGVID TPCWKLIITSP LCTTNTKEGS NICLTRTRDRG WYCDNAGSVS FFPQAETCKV QSNRVFCDTM NSLTLPSEVN LCNVDIFNPK YDCKIMTSKT DVSSSVITSL GAIVSCYGKT KCTASNKNRG IKTFSNGCD YVSNKGVDTV SVGNTLYYVN KQEGKSLYVK GEPIINFYDP LVFPSDEFDA SISQVNEKIN QSLAFIRKSD ELL RSNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDF SFLPQPPQEKAHDGGYYRANDANVVRDRDLEVDITLKSLSQQ IENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNL DAIKVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHHWF GESMTDGFQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHC KNSVAYMDQQTGNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVD GCTSIHTGAWGKTVIEYKTTKTSRLPIIDVAPLDVGAPDQEFGFD VGPVCFL	有信号肽 hRSV-F 融合多肽 (SCB-N25S) R106S, R108S, R133S, R135S, R136S

权利要求书

- [权利要求 1] 一种重组亚单位疫苗在制备哺乳动物中预防呼吸道合胞病毒(RSV)感染的药物中的用途,所述重组亚单位疫苗包含可溶性RSV病毒表面抗原,所述可溶性RSV病毒表面抗原包含具有一个或多个突变位点的F1肽或其片段或表位,并且所述F1肽或其片段或表位一个或多个突变位点为含硫键的氨基酸或含硫键的氨基酸衍生物,所述可溶性RSV病毒表面抗原与胶原蛋白通过框内融合而联结以形成二硫键连接的三聚体融合蛋白。
- [权利要求 2] 根据权利要求1所述的用途,其中所述RSV属于A亚型或B亚型。
- [权利要求 3] 根据权利要求1或2中任一项所述的用途,其中所述RSV病毒表面抗原包含F2肽或其片段或表位。
- [权利要求 4] 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述RSV病毒表面抗原包含突变F2肽或其片段或表位。
- [权利要求 5] 根据权利要求1至4中任一项所述的用途,所述的F1肽或其片段或表位的一个或多个突变位点为R106C或/和R108C。
- [权利要求 6] 根据权利要求1至5中任一项所述的用途,其中所述RSV病毒表面抗原包含pep27肽或其片段或表位。
- [权利要求 7] 根据权利要求6所述的用途,所述的pep27肽或其片段或表位包含一个或多个突变位点。
- [权利要求 8] 根据权利要求6或7所述的用途,其中所述的pep27肽或其片段或表位所包含的一个或多个突变位点为含硫键的氨基酸。
- [权利要求 9] 根据权利要求6-8中任一项所述的用途,所述的pep27肽或其片段或表位的一个或多个突变位点自由选自R133C,R135C,R136C或其任意组合。
- [权利要求 10] 根据权利要求1至9中任一项所述的用途,其中所述融合蛋白包含自由选自SEQ ID NO:64-79所示的序列。

- [权利要求 11] 根据权利要求1至10中任一项所述的用途，其中所述融合蛋白包含自由选自SEQ ID NO:76-79所示的序列，可选为SEQ ID NO:64,68,72或76。
- [权利要求 12] 根据权利要求1至11中任一项所述的用途，其中所述重组亚单位疫苗通过肌肉内注射给药。
- [权利要求 13] 根据权利要求1至11中任一项所述的用途，其中所述重组亚单位疫苗通过鼻内喷雾给药。
- [权利要求 14] 根据权利要求1至12中任一项所述的用途，其中所述重组亚单位疫苗以单剂或以数周或数月的间期隔开的一系列剂量给药。
- [权利要求 15] 根据权利要求1至13中任一项所述的用途，其中所述重组亚单位疫苗在无佐剂的情况下给药。
- [权利要求 16] 根据权利要求1至13中任一项所述的用途，其中所述重组亚单位疫苗与一种或多种佐剂一起给药。
- [权利要求 17] 根据权利要求1至16中任一项所述的用途，其中，所述重组亚单位疫苗包括药学可接受的辅剂，所述的辅剂是选自缓冲剂，渗透压调节剂，稳定剂，和抑菌剂的一种或几种。
- [权利要求 18] 可溶性呼吸道合胞病毒(RSV)表面抗原用于制备在从哺乳动物血清检测针对RSV的抗体的方法中使用的试剂的用途，所述方法包括使所述血清与可溶性RSV表面抗原接触的步骤，所述可溶性RSV病毒表面抗原包含具有一个或多个突变位点的F1肽或其片段或表位，并且所述突变位点为含硫键的氨基酸，所述可溶性RSV表面抗原与胶原蛋白通过框内融合而联结以形成二硫键连接的三聚体融合蛋白。
- [权利要求 19] 包含来自呼吸道合胞病毒(RSV)的可溶性表面抗原的重组亚单位疫苗的在制备通过被动免疫治疗感染所述RSV病毒的患者中和抗体中的用途，该制备包括：免疫哺乳动物，纯化产生的中和抗体方法，所述可溶性RSV病毒表面抗原包含具有一个或多个突变位点的F1肽或其片段或表位，并且所述突变位点为含硫键的氨基酸，其中

所述可溶性表面抗原与胶原蛋白通过框内融合而联结以形成二硫键连接的三聚体融合蛋白。

[权利要求 20] 根据权利要求19所述的用途，其中所述中和抗体包括多克隆抗体和/或单克隆抗体，其中所述中和抗体是针对F蛋白或肽的单克隆抗体。

[权利要求 21] 一种或多种多核苷酸，其编码可溶性RSV病毒表面抗原，所述可溶性RSV病毒表面抗原包含自由选自SEQ ID NO:64-79所示的序列。

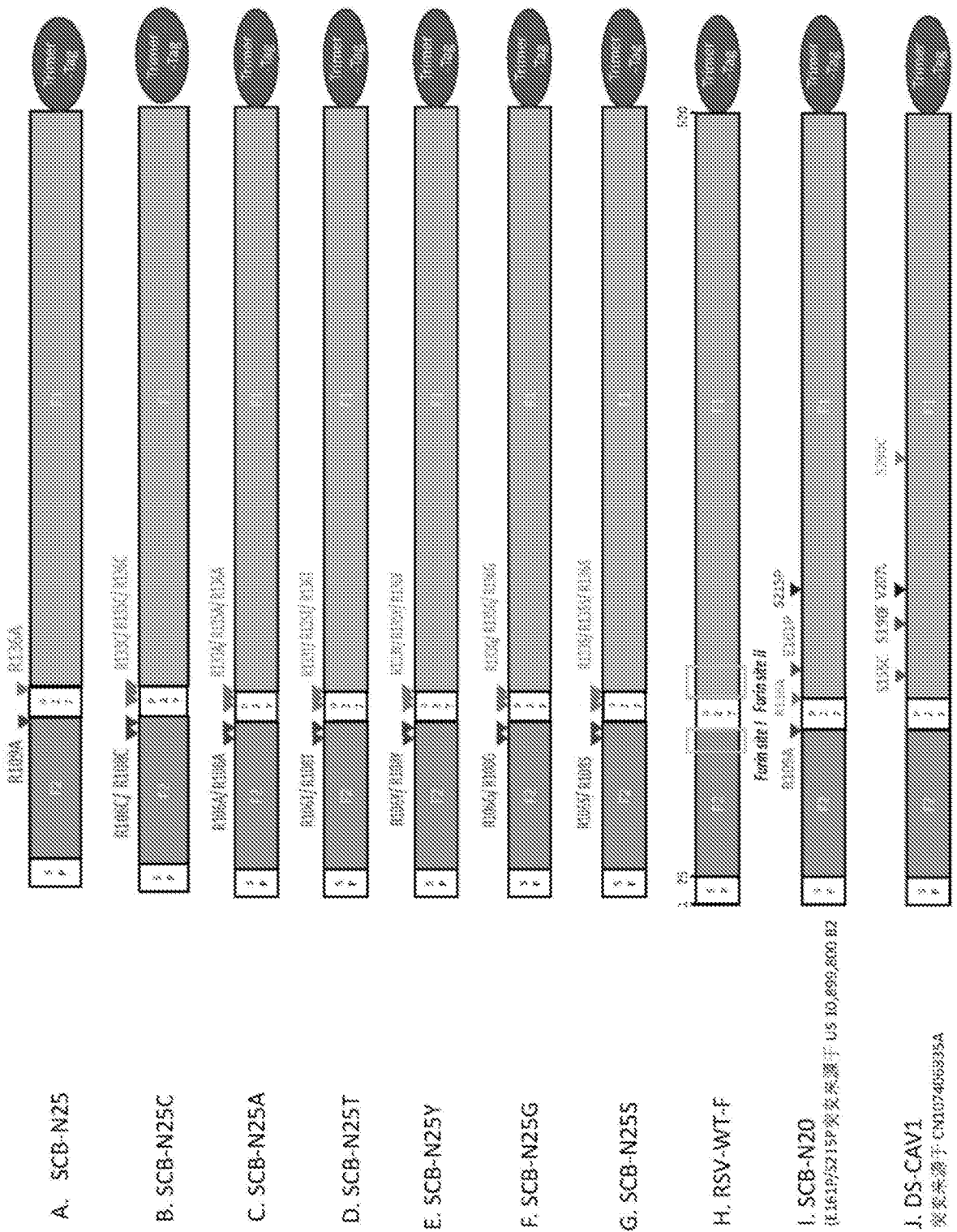
[权利要求 22] 一种或多种载体，其包含根据实施方案21所述的一种或多种多核苷酸。

[权利要求 23] 一种宿主细胞，其包含权要21所述的一种或多种多核苷酸、或权要22所述的一种或多种载体。

[权利要求 24] 根据权要23所述宿主细胞是GH-CHO。

[权利要求 25] 根据权要23所述的载体是pTPRIMER-TOD。

[图 1]

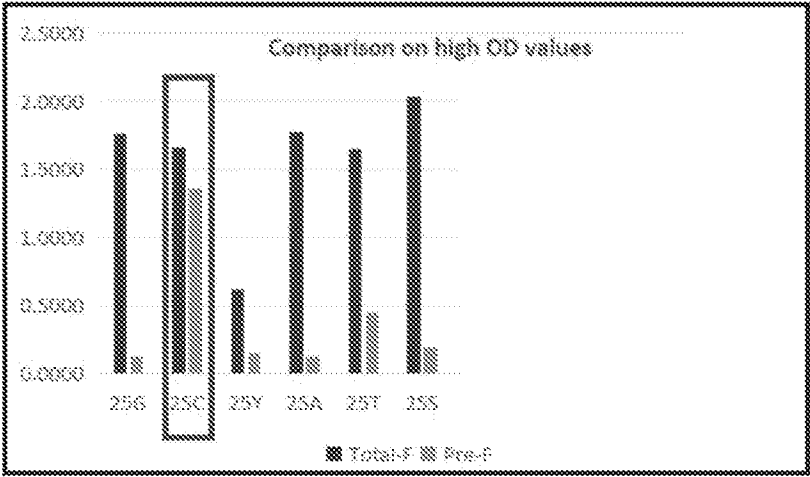


细则 26,
12.08.2024

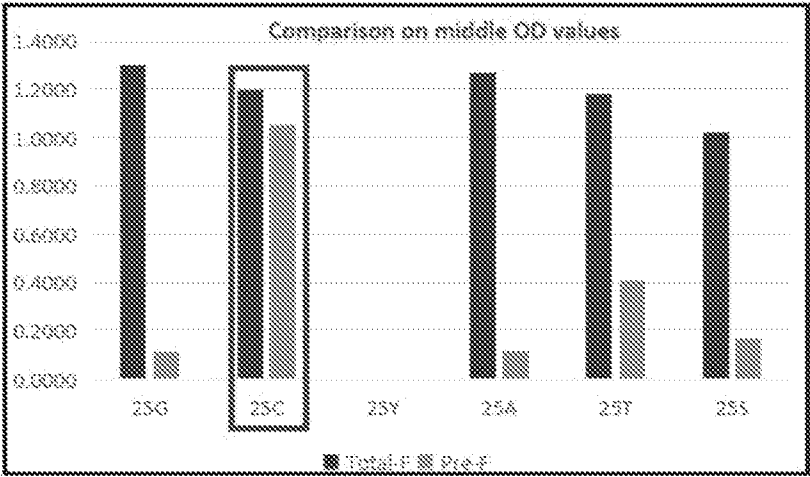
[图 2]

细则 26,
12.08.2024

A.



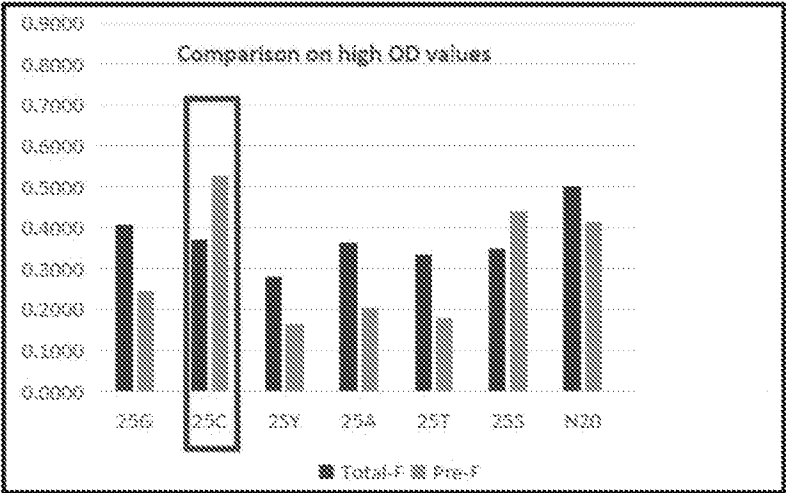
B.



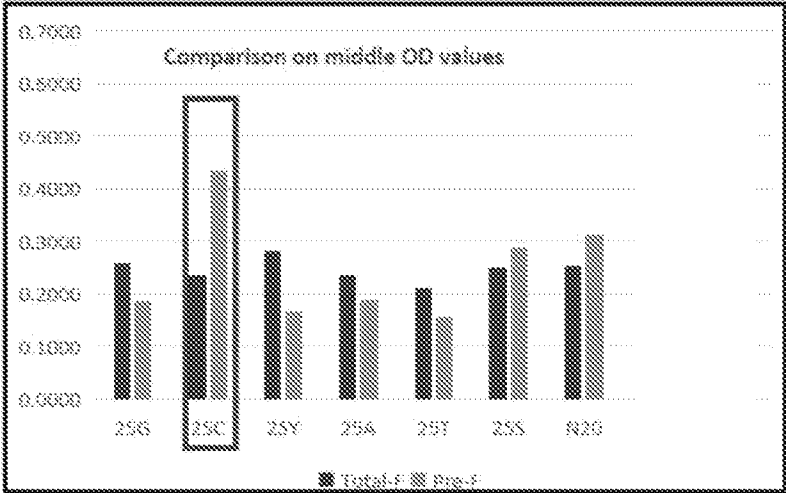
[图 3]

细则 26,
12.08.2024

A.

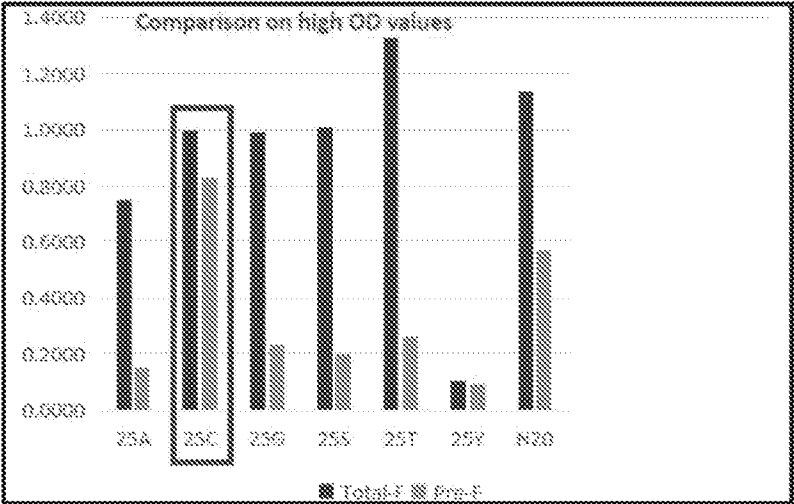


B.

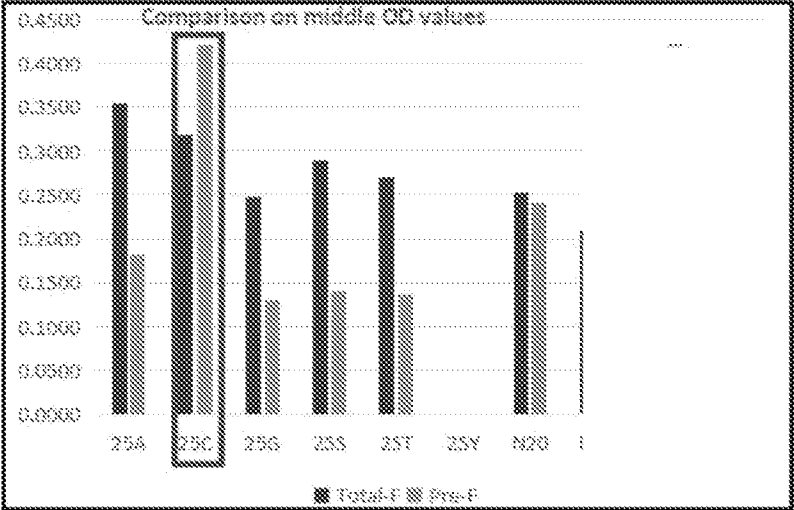


[图 4]

A.



B.



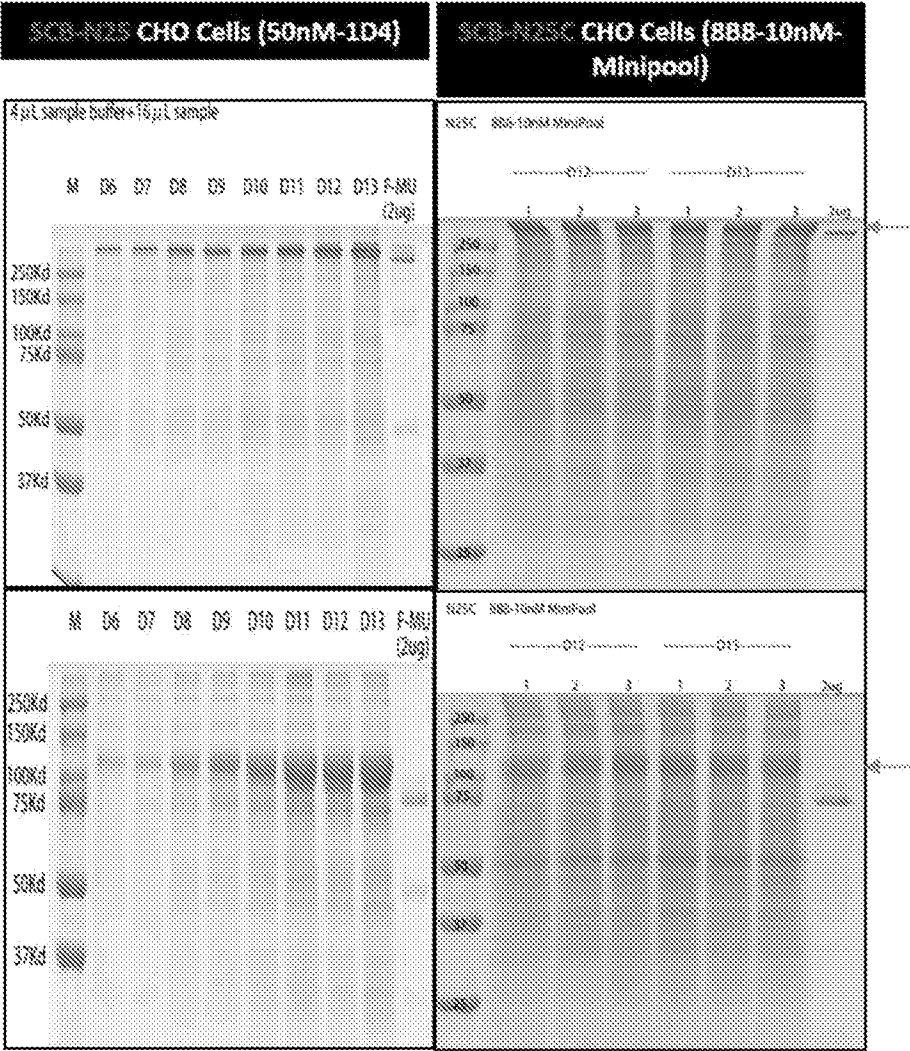
细则 26,
12.08.2024

[图 5]

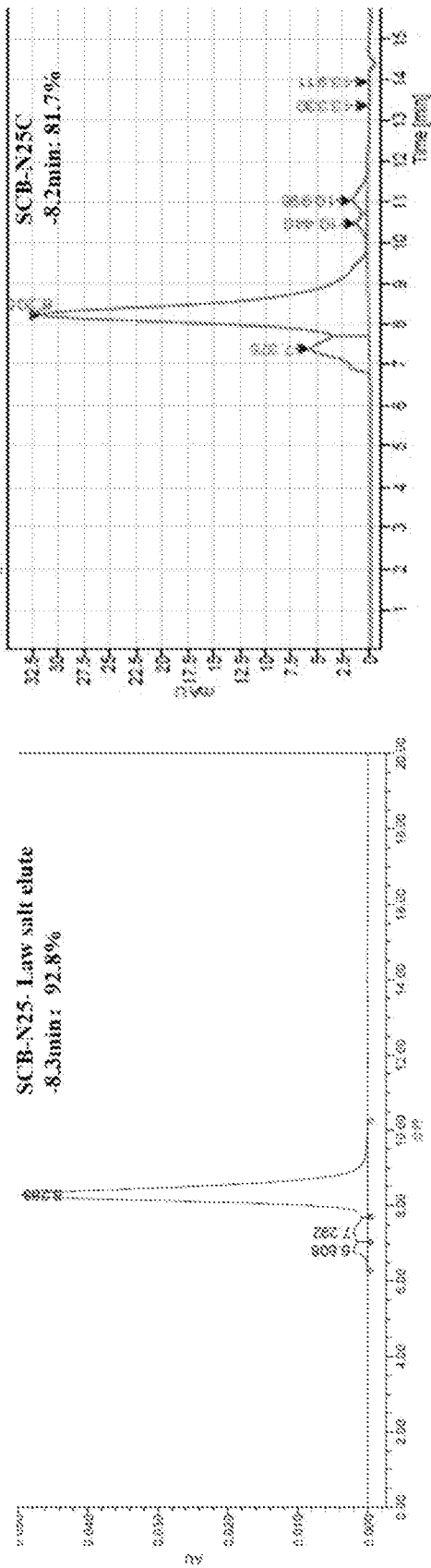
细则 26,
12.08.2024

非还原

还原

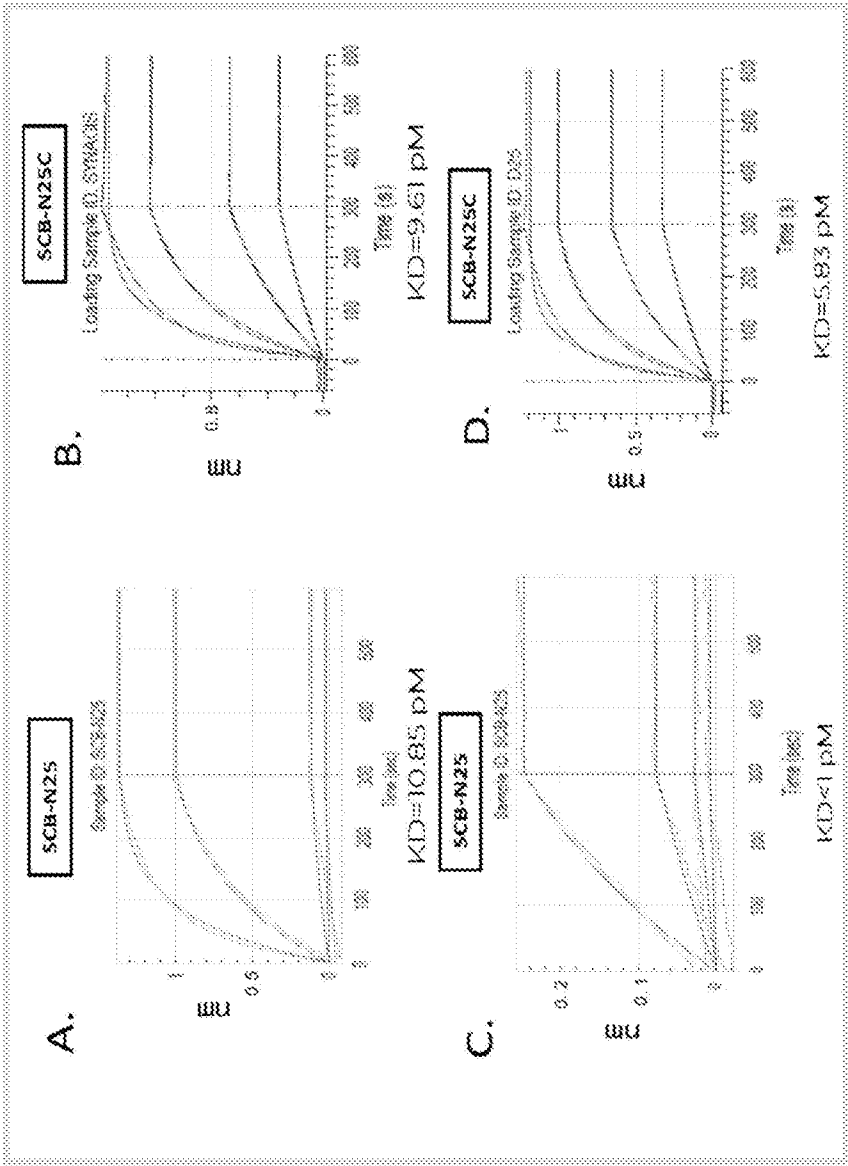


[图 6]



细则 26,
12.08.2024

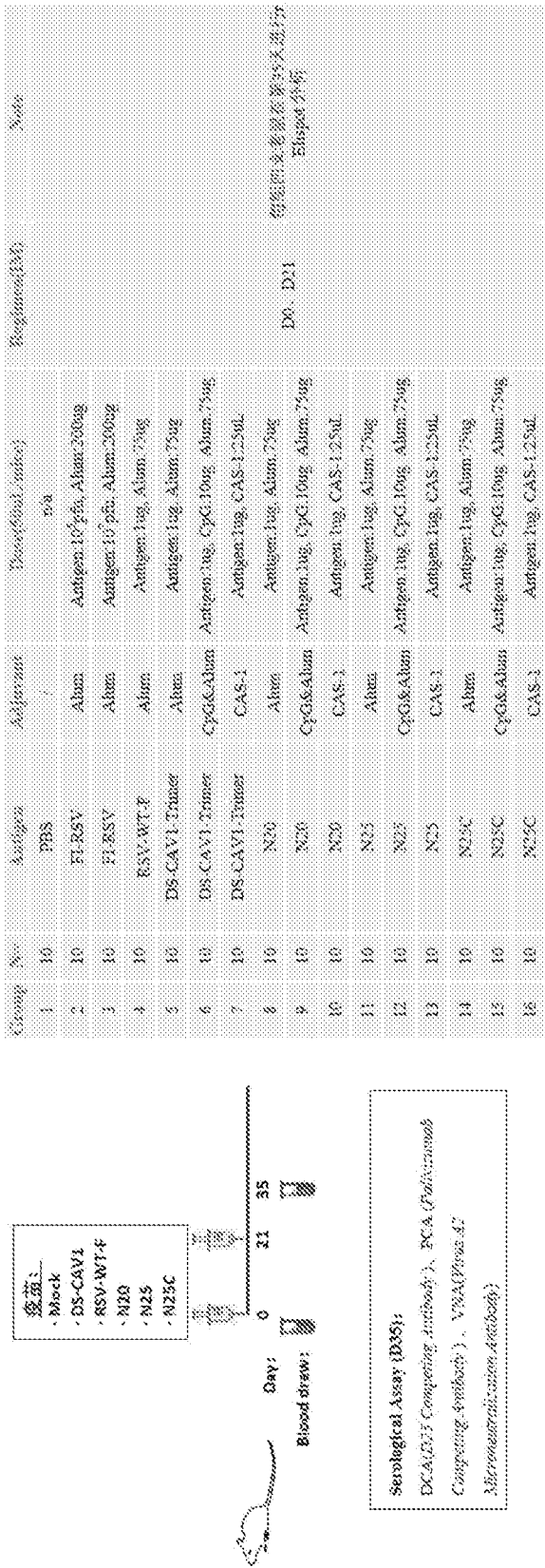
[图 7]



Sample	Load	KD (pM)	Kon (1/Ms)	Kdis (1/s)	R ²	Response (RU)
SCB-N25	Synagis	1.085E+11	3.414E+03	3.703E+07	0.9977	1.4025
SCB-N25	Synagis	9.606E+12	2.693E+04	3.547E+07	0.9972	1.5758
SCB-N25	D25	1.085E+11	3.414E+03	3.703E+07	0.9977	1.4025
SCB-N25C	D25	9.606E+12	3.693E+04	3.547E+07	0.9972	1.5756

[图 8A]

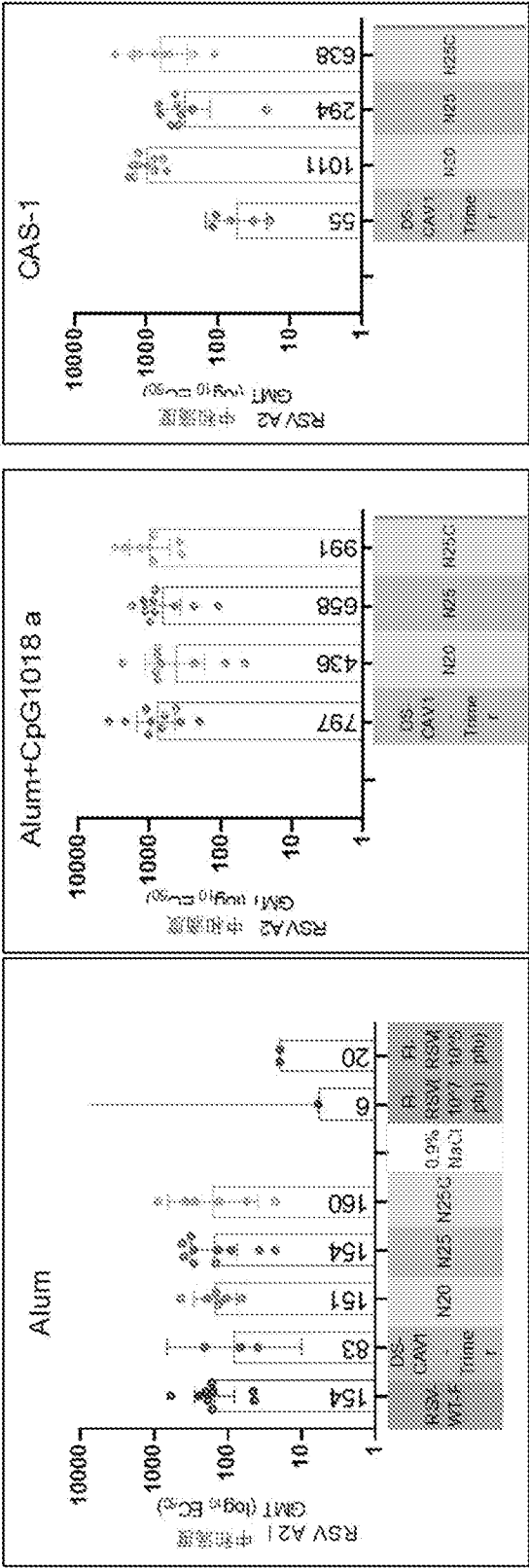
RSV 候选疫苗免疫原性对比实验



细则 26,
12.08.2024

[图 8B]

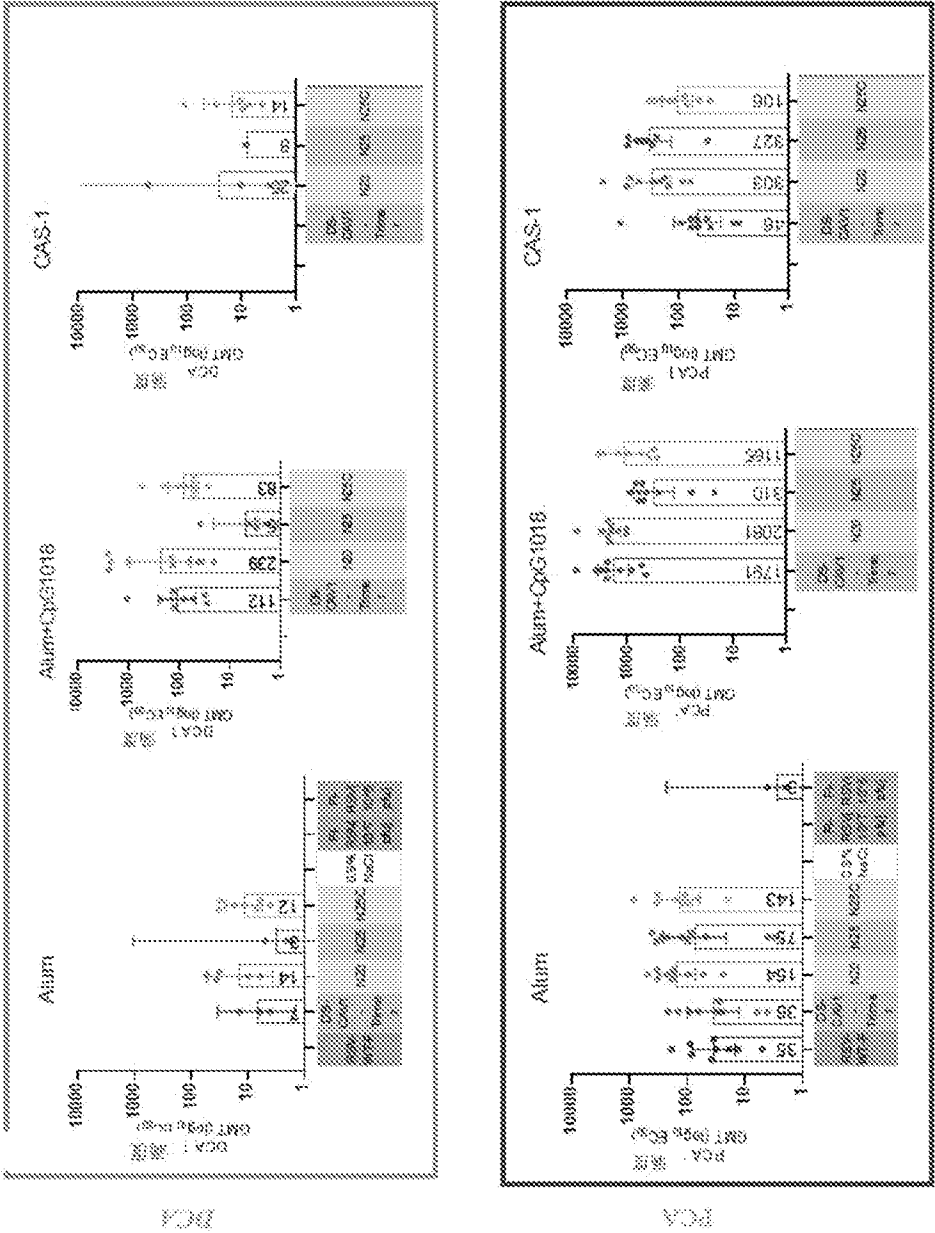
血清学实验 (D35) -RSV A2株型微量中和性抗体滴度



细则 26,
12.08.2024

[图 8C]

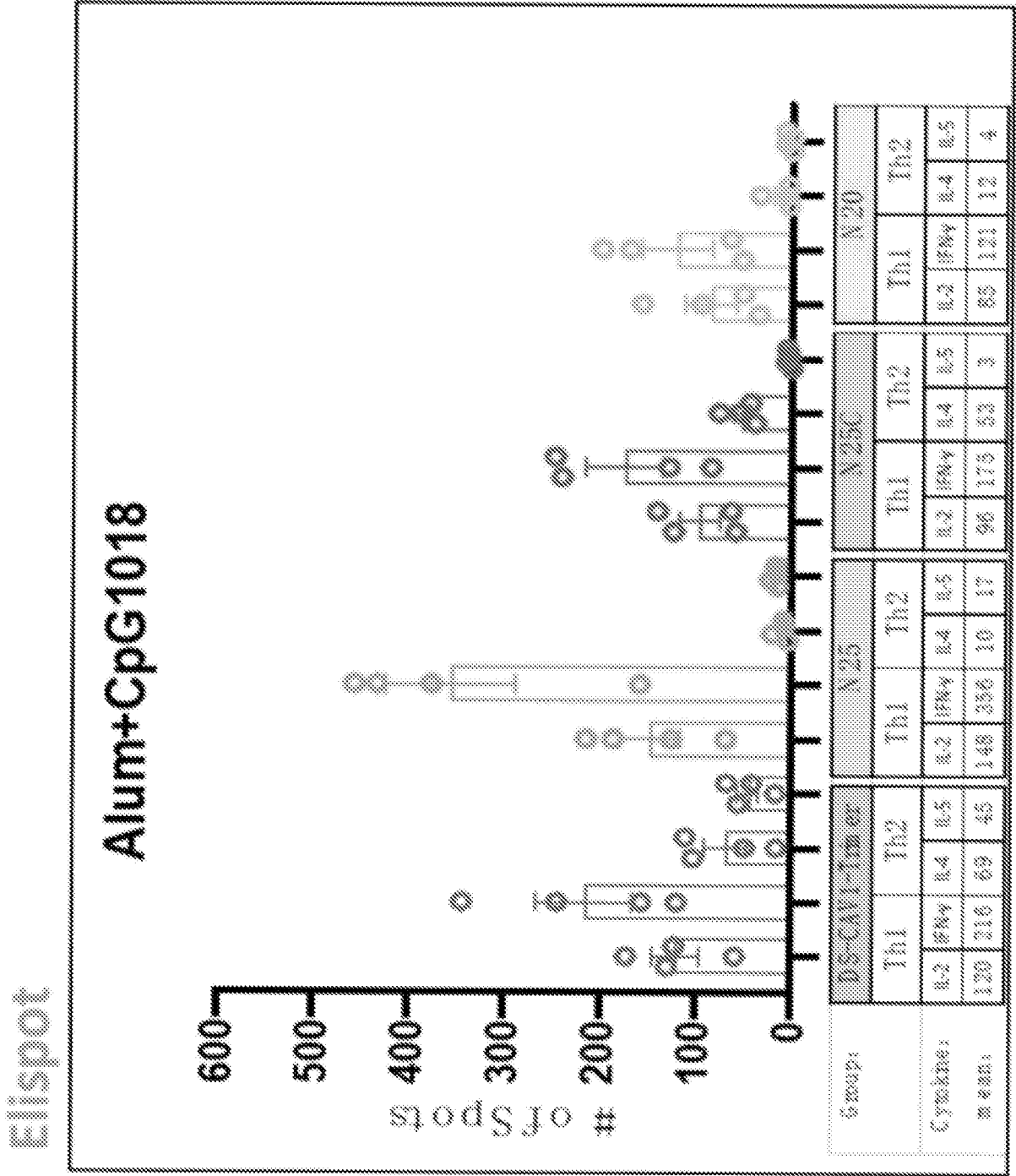
血清学实验 (D35) -D25竞争性抗体和帕利珠单抗竞争性抗体滴度



细则 26,
12.08.2024

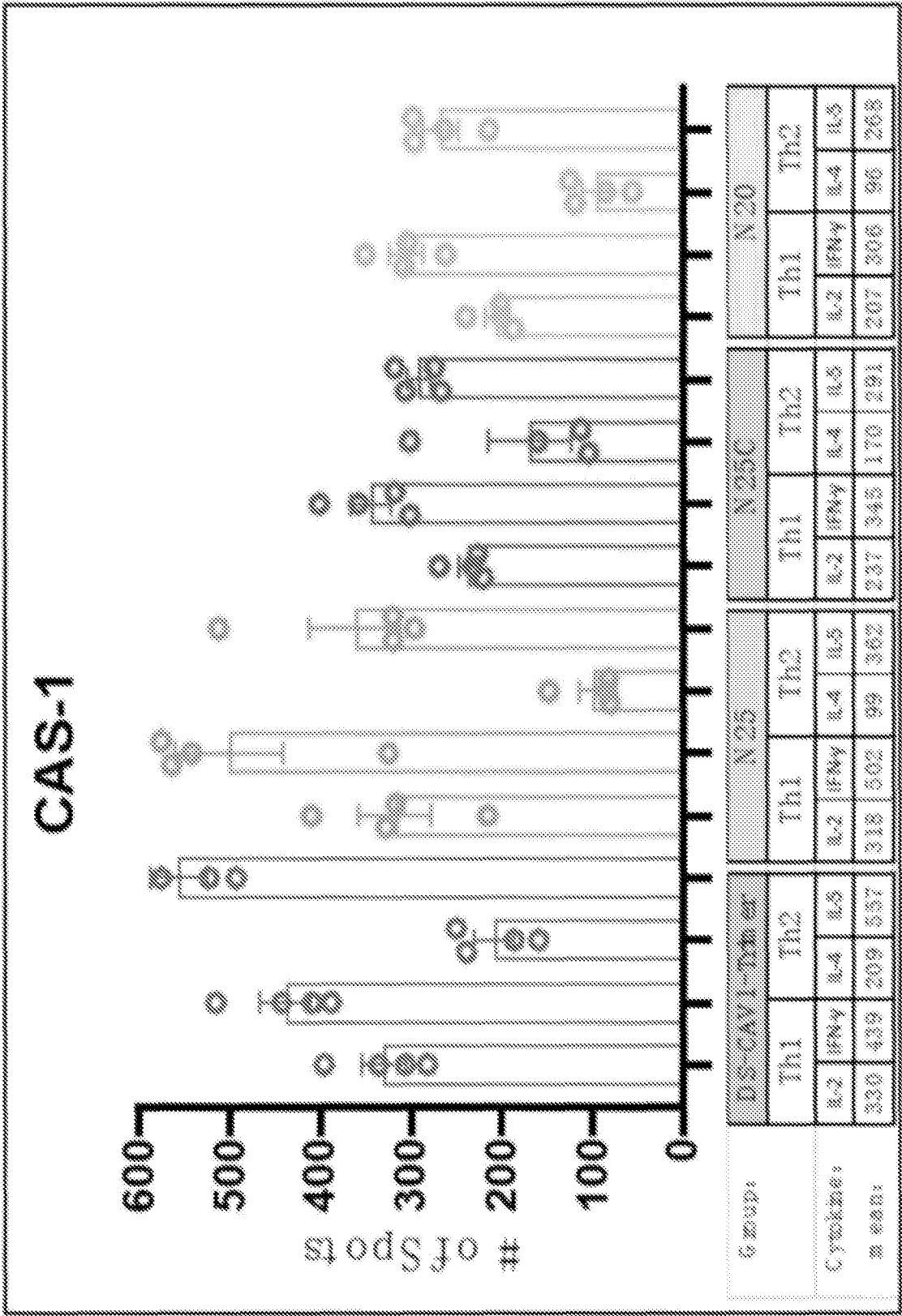
[图 8D(续)]

细则 26,
12.08.2024



[图 8D(续)]

细则 26,
12.08.2024



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/098246

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K14/005(2006.01)i; C07K14/08(2006.01)i; C07K14/115(2006.01)i; C07K14/135(2006.01)i; A61K39/155(2006.01)i; C12N15/45(2006.01)i; A61P31/14(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)

IPC: C07K A61K C12N 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)

CNXTX, ENTXT, ENTXTC, CNKI, 万方数据库, WANFANG, NBI, EBI, STN, ISI web of Science: 呼吸道合胞病毒, RSV, F蛋白, F1, F2, pep27, 胶原蛋白C端, pro α , 融合, 二硫键, 三聚体, 半胱氨酸, cysteine, 弗林蛋白酶, furin, 融合, 突变, trimeric, fusion, F protein, 106, 108, 133, 135, 136, Cys, mutation, SEQ ID NOs: 1-84, 四川三叶草生物制药有限公司

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 115989036 A (SICHUAN CLOVER BIOPHARMACEUTICALS, INC.) 18 April 2023 (2023-04-18) claims 1-34, and description, paragraphs 54, 59-60, 64-65 and 79	1-9, 12-20
Y	CN 108348593 A (TECHNOVAX INC.) 31 July 2018 (2018-07-31) description, paragraphs 21 and 101	1-9, 12-20
Y	CN 105246910 A (MUCOSIS B.V.) 13 January 2016 (2016-01-13) description, paragraphs 30 and 35	1-9, 12-20
Y	CN 114929877 A (MITSUBISHI TANABE PHARMA CORP.) 19 August 2022 (2022-08-19) claims 1-7, and description, paragraphs 90-109 and 131-138	1-9, 12-20
Y	US 2015166610 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS, S.A.) 18 June 2015 (2015-06-18) description, paragraphs 65 and 73	1-9, 12-20



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
“D” document cited by the applicant in the international application
“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

26 August 2024

Date of mailing of the international search report

11 September 2024

Name and mailing address of the ISA/CN

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

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/098246

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105473604 A (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES) 06 April 2016 (2016-04-06) claims 1-15	1-25
A	CN 110054668 A (BEIJING JIAOTONG UNIVERSITY) 26 July 2019 (2019-07-26) claims 1-9	1-25
A	US 2017182151 A1 (PFIZER INC.) 29 June 2017 (2017-06-29) claims 1-26	1-25
A	孙宇宸 等 (SUN, Yuchen et al.). "基于融合前F蛋白呼吸道合胞病毒疫苗的研究进展 (Advance in development of preF-based vaccines against respiratory syncytial virus)" <i>微生物学免疫学进展 (Progress in Microbiology and Immunology)</i> , Vol. 50, No. 6, 31 December 2022 (2022-12-31), pages 58-64	1-25
A	KRARUP, A. et al. "A highly stable prefusion RSV F vaccine derived from structural analysis of the fusion mechanism" <i>Nature Communications</i> , Vol. 6, 03 September 2015 (2015-09-03), pages 1-12	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/098246

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.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/098246

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	115989036	A	18 April 2023	WO	2021249009	A1	16 December 2021
				WO	2021249452	A1	16 December 2021
				US	2023256076	A1	17 August 2023
				JP	2023530435	A	18 July 2023
				EP	4164686	A1	19 April 2023
				EP	4164686	A4	26 June 2024
CN	108348593	A	31 July 2018	US	2019030156	A1	31 January 2019
				US	11324816	B2	10 May 2022
				WO	2017040387	A2	09 March 2017
				WO	2017040387	A3	20 April 2017
				HK	1259274	A1	29 November 2019
				EP	3344290	A2	11 July 2018
				EP	3344290	A4	27 February 2019
				CA	2996762	A1	09 March 2017
CN	105246910	A	13 January 2016	WO	2014140083	A1	18 September 2014
				EP	3178840	A1	14 June 2017
				USRE	47471	E	02 July 2019
				BR	112015022617	A2	31 October 2017
				CA	2905571	A1	18 September 2014
				EP	2970393	A1	20 January 2016
				EP	2970393	B1	11 January 2017
				AU	2014230822	A1	01 October 2015
				AU	2014230822	B2	12 April 2018
				US	2014271696	A1	18 September 2014
				US	9060975	B2	23 June 2015
				JP	2016510983	A	14 April 2016
				JP	6285469	B2	28 February 2018
CN	114929877	A	19 August 2022	JPWO	2021132379	A1	01 July 2021
				JP	7385680	B2	22 November 2023
				BR	112022012470	A2	06 September 2022
				JP	2024016234	A	06 February 2024
				IL	294059	A	01 August 2022
				US	2023086093	A1	23 March 2023
				AR	120891	A1	30 March 2022
				CA	3165855	A1	01 July 2021
				KR	20220116516	A	23 August 2022
				EP	4083212	A1	02 November 2022
				EP	4083212	A4	27 March 2024
				TW	202130363	A	16 August 2021
				MX	2022007881	A	19 July 2022
				WO	2021132379	A1	01 July 2021
				AU	2020411873	A1	28 July 2022
				AU	2020411873	B2	25 July 2024
US	2015166610	A1	18 June 2015	US	2016122398	A1	05 May 2016
CN	105473604	A	06 April 2016	JP	2022089818	A	16 June 2022
				JP	7503588	B2	20 June 2024
				US	2024018193	A1	18 January 2024
				US	11981707	B2	14 May 2024
				MX	2021010519	A	01 October 2021

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/098246

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
					KR	20220139415	A	14 October 2022
					RU	2015142981	A	17 April 2017
					RU	2015142981	A3	14 March 2018
					RU	2761631	C2	13 December 2021
					RU	2021132097	A	03 March 2022
					US	2022002351	A1	06 January 2022
					US	2018319846	A1	08 November 2018
					US	11130785	B2	28 September 2021
					AU	2023200712	A1	09 March 2023
					JP	2020089384	A	11 June 2020
					JP	7043530	B2	29 March 2022
					CA	2902877	A1	02 October 2014
					PT	2970398	T	07 June 2024
					KR	20150127102	A	16 November 2015
					KR	102450375	B1	04 October 2022
					AU	2018282476	A1	24 January 2019
					AU	2018282476	B2	10 December 2020
					US	2016046675	A1	18 February 2016
					US	10017543	B2	10 July 2018
					AU	2021201468	A1	25 March 2021
					AU	2021201468	B2	24 November 2022
					MX	2015013065	A	06 June 2016
					BR	112015022375	A2	10 October 2017
					BR	112015022375	A8	23 January 2018
					AU	2014243756	A1	17 September 2015
					AU	2014243756	B2	27 September 2018
					EP	2970398	A1	20 January 2016
					EP	2970398	A4	24 August 2016
					EP	2970398	B1	08 May 2024
					WO	2014160463	A1	02 October 2014
					WO	2014160463	A8	08 October 2015
					JP	2016519658	A	07 July 2016
					JP	6703475	B2	03 June 2020

					CN	110054668	A	26 July 2019
					None			

					US	2017182151	A1	29 June 2017
					CA	2952131	A1	23 June 2017
					CA	2952131	C	05 December 2023
					TW	202124414	A	01 July 2021
					TWI	756828	B	01 March 2022
					RU	2020115606	A	29 June 2020
					RU	2020115606	A3	23 November 2020
					KR	20200090932	A	29 July 2020
					KR	102505354	B1	02 March 2023
					AU	2016379097	A1	07 June 2018
					AU	2016379097	B2	22 August 2019
					AU	2016379097	C1	08 April 2021
					EP	3393512	A1	31 October 2018
					JP	2021061845	A	22 April 2021
					JP	7193522	B2	20 December 2022
					TW	202216738	A	01 May 2022
					TWI	838685	B	11 April 2024

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/098246

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		BR 112018010805 A2	27 November 2018
		PH 12018501355 A1	18 February 2019
		AU 2019210579 A1	22 August 2019
		AU 2019210579 B2	28 January 2021
		PE 20240817 A1	18 April 2024
		CA 3217696 A1	23 June 2017
		WO 2017109629 A1	29 June 2017
		IL 311990 A	01 June 2024
		JP 2022185022 A	13 December 2022
		JP 7212198 B2	24 January 2023
		AU 2021202522 A1	27 May 2021
		AU 2021202522 B2	11 May 2023
		AU 2021202522 C1	23 November 2023
		CO 2018006301 A2	10 July 2018
		SG 10202001389 PA	29 April 2020
		JP 2019511998 A	09 May 2019
		JP 6817307 B2	20 January 2021
		US 2018177864 A1	28 June 2018
		US 10238732 B2	26 March 2019
		US 9950058 B2	24 April 2018
		KR 20180081614 A	16 July 2018
		KR 102136678 B1	22 July 2020
		MX 2018007622 A	14 November 2018
		MX 2021007070 A	11 August 2021
		JP 2023015335 A	31 January 2023
		US 2023218738 A1	13 July 2023
		SG 11201804148 TA	30 July 2018
		SA 518391839 B1	22 October 2023
		RU 2018122823 A	23 January 2020
		RU 2018122823 A3	08 June 2020
		KR 20230035429 A	13 March 2023
		IL 260203 A	31 July 2018
		IL 260203 B1	01 May 2024
		AU 2023214269 A1	12 October 2023
		US 2019125861 A1	02 May 2019
		US 10821171 B2	03 November 2020
		PE 20232039 A1	21 December 2023
		TW 201920238 A	01 June 2019
		TWI 707866 B	21 October 2020
		PE 20181354 A1	22 August 2018
		TW 201726709 A	01 August 2017
		TWI 656130 B	11 April 2019
		US 2021023200 A1	28 January 2021

A. 主题的分类

C07K14/005(2006.01)i; C07K14/08(2006.01)i; C07K14/115(2006.01)i; C07K14/135(2006.01)i; A61K39/155(2006.01)i; C12N15/45(2006.01)i; A61P31/14(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)

IPC: C07K A61K C12N 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))

CNTEXT,ENTEXT,ENTXTC, CNKI, 万方数据库, NBCI, EBI, STN, ISI web of Science:呼吸 道合胞病毒, RSV, F 蛋白,F1, F2, pep27,胶原蛋白C端,pro α, 融合, 二硫键, 三聚体, 半胱氨酸, cysteine, 弗林蛋白酶, furin, 融合, 突变, trimeric, fusion, F protein, 106,108,133,135,136,Cys,mutation,SEQ ID NOs: 1-84, 四川三叶草生物制药有限公司

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 115989036 A (四川三叶草生物制药有限公司) 2023年4月18日 (2023 - 04 - 18) 权利要求1-34, 说明书第54、59-60、64-65、79段	1-9,12-20
Y	CN 108348593 A (泰克诺瓦克斯股份有限公司) 2018年7月31日 (2018 - 07 - 31) 说明书第21、101段	1-9,12-20
Y	CN 105246910 A (姆科希斯有限责任公司) 2016年1月13日 (2016 - 01 - 13) 说明书第30、35段	1-9,12-20
Y	CN 114929877 A (田边三菱制药株式会社) 2022年8月19日 (2022 - 08 - 19) 权利要求1-7, 说明书第90-109、131-138段	1-9,12-20
Y	US 2015166610 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS, S.A.) 2015年6月18日 (2015 - 06 - 18) 说明书第65、73段	1-9,12-20

☒ 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

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“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

2024年8月26日

国际检索报告邮寄日期

2024年9月11日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

武雪梅

电话号码 (+86) 010-53961961

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

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
A	CN 105473604 A (美国政府 (由卫生和人类服务部的部长所代表)) 2016年4月6日 (2016 - 04 - 06) 权利要求1-15	1-25
A	CN 110054668 A (北京交通大学) 2019年7月26日 (2019 - 07 - 26) 权利要求1-9	1-25
A	US 2017182151 A1 (PFIZER INC.) 2017年6月29日 (2017 - 06 - 29) 权利要求1-26	1-25
A	孙宇宸 等. "基于融合前F蛋白呼吸道合胞病毒疫苗的研究进展" 微生物学免疫学进展, 第50卷, 第6期, 2022年12月31日 (2022 - 12 - 31), 第58-64页	1-25
A	KRARUP, A. 等. "A highly stable prefusion RSV F vaccine derived from structural analysis of the fusion mechanism" NATURE COMMUNICATIONS, 第6卷, 2015年9月3日 (2015 - 09 - 03), 第1-12页	1-25

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:
 - b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交 (细则13之三.1(a)) ,
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/098246

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	115989036	A	2023年4月18日	WO	2021249009	A1	2021年12月16日
				WO	2021249452	A1	2021年12月16日
				US	2023256076	A1	2023年8月17日
				JP	2023530435	A	2023年7月18日
				EP	4164686	A1	2023年4月19日
				EP	4164686	A4	2024年6月26日
CN	108348593	A	2018年7月31日	US	2019030156	A1	2019年1月31日
				US	11324816	B2	2022年5月10日
				WO	2017040387	A2	2017年3月9日
				WO	2017040387	A3	2017年4月20日
				HK	1259274	A1	2019年11月29日
				EP	3344290	A2	2018年7月11日
				EP	3344290	A4	2019年2月27日
				CA	2996762	A1	2017年3月9日
CN	105246910	A	2016年1月13日	WO	2014140083	A1	2014年9月18日
				EP	3178840	A1	2017年6月14日
				US- RE	47471	E	2019年7月2日
				BR	112015022617	A2	2017年10月31日
				CA	2905571	A1	2014年9月18日
				EP	2970393	A1	2016年1月20日
				EP	2970393	B1	2017年1月11日
				AU	2014230822	A1	2015年10月1日
				AU	2014230822	B2	2018年4月12日
				US	2014271696	A1	2014年9月18日
				US	9060975	B2	2015年6月23日
				JP	2016510983	A	2016年4月14日
				JP	6285469	B2	2018年2月28日
CN	114929877	A	2022年8月19日	JPWO	2021132379	A1	2021年7月1日
				JP	7385680	B2	2023年11月22日
				BR	112022012470	A2	2022年9月6日
				JP	2024016234	A	2024年2月6日
				IL	294059	A	2022年8月1日
				US	2023086093	A1	2023年3月23日
				AR	120891	A1	2022年3月30日
				CA	3165855	A1	2021年7月1日
				KR	20220116516	A	2022年8月23日
				EP	4083212	A1	2022年11月2日
				EP	4083212	A4	2024年3月27日
				TW	202130363	A	2021年8月16日
				MX	2022007881	A	2022年7月19日
				WO	2021132379	A1	2021年7月1日
				AU	2020411873	A1	2022年7月28日
				AU	2020411873	B2	2024年7月25日
US	2015166610	A1	2015年6月18日	US	2016122398	A1	2016年5月5日
CN	105473604	A	2016年4月6日	JP	2022089818	A	2022年6月16日
				JP	7503588	B2	2024年6月20日
				US	2024018193	A1	2024年1月18日
				US	11981707	B2	2024年5月14日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/098246

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)
		MX 2021010519 A 2021年10月1日	
		KR 20220139415 A 2022年10月14日	
		RU 2015142981 A 2017年4月17日	
		RU 2015142981 A3 2018年3月14日	
		RU 2761631 C2 2021年12月13日	
		RU 2021132097 A 2022年3月3日	
		US 2022002351 A1 2022年1月6日	
		US 2018319846 A1 2018年11月8日	
		US 11130785 B2 2021年9月28日	
		AU 2023200712 A1 2023年3月9日	
		JP 2020089384 A 2020年6月11日	
		JP 7043530 B2 2022年3月29日	
		CA 2902877 A1 2014年10月2日	
		PT 2970398 T 2024年6月7日	
		KR 20150127102 A 2015年11月16日	
		KR 102450375 B1 2022年10月4日	
		AU 2018282476 A1 2019年1月24日	
		AU 2018282476 B2 2020年12月10日	
		US 2016046675 A1 2016年2月18日	
		US 10017543 B2 2018年7月10日	
		AU 2021201468 A1 2021年3月25日	
		AU 2021201468 B2 2022年11月24日	
		MX 2015013065 A 2016年6月6日	
		BR 112015022375 A2 2017年10月10日	
		BR 112015022375 A8 2018年1月23日	
		AU 2014243756 A1 2015年9月17日	
		AU 2014243756 B2 2018年9月27日	
		EP 2970398 A1 2016年1月20日	
		EP 2970398 A4 2016年8月24日	
		EP 2970398 B1 2024年5月8日	
		WO 2014160463 A1 2014年10月2日	
		WO 2014160463 A8 2015年10月8日	
		JP 2016519658 A 2016年7月7日	
		JP 6703475 B2 2020年6月3日	
CN	110054668 A 2019年7月26日	无	
US	2017182151 A1 2017年6月29日	CA 2952131 A1 2017年6月23日	
		CA 2952131 C 2023年12月5日	
		TW 202124414 A 2021年7月1日	
		TWI 756828 B 2022年3月1日	
		RU 2020115606 A 2020年6月29日	
		RU 2020115606 A3 2020年11月23日	
		KR 20200090932 A 2020年7月29日	
		KR 102505354 B1 2023年3月2日	
		AU 2016379097 A1 2018年6月7日	
		AU 2016379097 B2 2019年8月22日	
		AU 2016379097 C1 2021年4月8日	
		EP 3393512 A1 2018年10月31日	
		JP 2021061845 A 2021年4月22日	
		JP 7193522 B2 2022年12月20日	
		TW 202216738 A 2022年5月1日	

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)
		TWI 838685 B	2024年4月11日
		BR 112018010805 A2	2018年11月27日
		PH 12018501355 A1	2019年2月18日
		AU 2019210579 A1	2019年8月22日
		AU 2019210579 B2	2021年1月28日
		PE 20240817 A1	2024年4月18日
		CA 3217696 A1	2017年6月23日
		WO 2017109629 A1	2017年6月29日
		IL 311990 A	2024年6月1日
		JP 2022185022 A	2022年12月13日
		JP 7212198 B2	2023年1月24日
		AU 2021202522 A1	2021年5月27日
		AU 2021202522 B2	2023年5月11日
		AU 2021202522 C1	2023年11月23日
		CO 2018006301 A2	2018年7月10日
		SG 10202001389 PA	2020年4月29日
		JP 2019511998 A	2019年5月9日
		JP 6817307 B2	2021年1月20日
		US 2018177864 A1	2018年6月28日
		US 10238732 B2	2019年3月26日
		US 9950058 B2	2018年4月24日
		KR 20180081614 A	2018年7月16日
		KR 102136678 B1	2020年7月22日
		MX 2018007622 A	2018年11月14日
		MX 2021007070 A	2021年8月11日
		JP 2023015335 A	2023年1月31日
		US 2023218738 A1	2023年7月13日
		SG 11201804148 TA	2018年7月30日
		SA 518391839 B1	2023年10月22日
		RU 2018122823 A	2020年1月23日
		RU 2018122823 A3	2020年6月8日
		KR 20230035429 A	2023年3月13日
		IL 260203 A	2018年7月31日
		IL 260203 B1	2024年5月1日
		AU 2023214269 A1	2023年10月12日
		US 2019125861 A1	2019年5月2日
		US 10821171 B2	2020年11月3日
		PE 20232039 A1	2023年12月21日
		TW 201920238 A	2019年6月1日
		TWI 707866 B	2020年10月21日
		PE 20181354 A1	2018年8月22日
		TW 201726709 A	2017年8月1日
		TWI 656130 B	2019年4月11日
		US 2021023200 A1	2021年1月28日
