



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108779472 B

(45) 授权公告日 2022. 09. 09

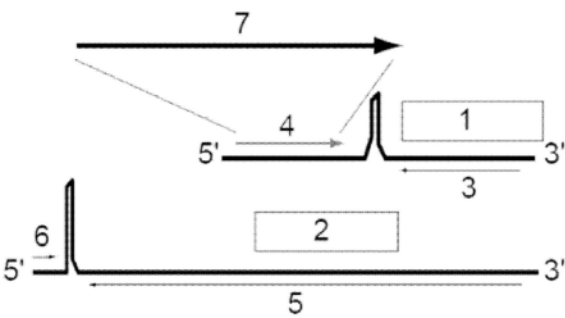
(21) 申请号 201680077751.0  
(22) 申请日 2016.11.03  
(65) 同一申请的已公布的文献号  
    申请公布号 CN 108779472 A  
(43) 申请公布日 2018.11.09  
(30) 优先权数据  
    62/250,639 2015.11.04 US  
(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
    2018.07.03  
(86) PCT国际申请的申请数据  
    PCT/EP2016/076591 2016.11.03  
(87) PCT国际申请的公布数据  
    W02017/076988 EN 2017.05.11  
(73) 专利权人 霍欧奇帕生物科技有限公司  
    地址 奥地利维也纳  
(72) 发明人 托马斯·莫纳思 凯瑟琳·科恩  
    维拉·鲍姆加特-斯特拉瑟  
(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理  
    有限公司 11262  
    专利代理师 于萌萌

(51) Int.Cl.  
    C12N 15/86 (2006.01)  
    A61K 39/29 (2006.01)  
    C12N 15/36 (2006.01)  
    C12N 15/62 (2006.01)  
(56) 对比文件  
    CN 101918565 A,2010.12.15  
    WO 2006125983 A1,2006.11.30  
    Yuan Hong等.Lentivector expressing  
    HBsAg and immunoglobulin Fc fusion  
    antigen induces potent immune responses  
    and results in seroconversion in HBsAg  
    transgenic mice.《Vaccine》.2011,第29卷(第  
    22期),  
    Katarzyna Karwacz等.Nonintegrating  
    Lentivector Vaccines Stimulate Prolonged  
    T-Cell and Antibody Responses and Are  
    Effective in Tumor Therapy.《JOURNAL OF  
    VIROLOGY》.2009,第83卷(第7期),  
    审查员 马晓霞

权利要求书4页 说明书107页  
序列表46页 附图4页

(54) 发明名称  
    针对乙型肝炎病毒的疫苗

(57) 摘要  
    本申请提供了对乙型肝炎病毒感染的免疫  
    治疗。本文提供的是适合作为疫苗用于预防和治疗  
    乙型肝炎病毒感染的遗传修饰的沙粒病毒载体。本文  
    还提供的用于治疗乙型肝炎病毒感染的  
    药物组合物和方法。具体地,本文提供的是治疗  
    乙型肝炎病毒感染的药物组合物、疫苗和方法。



1. 一种传染性沙粒病毒病毒载体,其中沙粒病毒开放阅读框被移除并被选自以下的核苷酸序列替换:

- a. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- b. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和
- c. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

2. 如权利要求1的病毒载体,其中

(i) 所述HBc蛋白或其抗原性片段包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列至少90%相同;

(ii) 所述HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列至少90%相同;或

(iii) 所述pre-S2/S蛋白或其抗原性片段包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列至少90%相同。

3. 如权利要求2所述的病毒载体,其中

(i) HBc蛋白或其抗原性片段包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列至少95%相同;

(ii) HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列至少95%相同;或者

(iii) pre-S2/S蛋白或其抗原性片段包含与由SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

4. 如权利要求3所述的病毒载体,其中

(i) HBc蛋白或其抗原性片段包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列100%相同;

(ii) HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列100%相同;或者

(iii) pre-S2/S蛋白或其抗原性片段包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列100%相同。

5. 如权利要求1的病毒载体,包含至少两个或至少三个以下的:

- a. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- b. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和
- c. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

任选地,其中所述核苷酸序列的表达产生抗原性蛋白质复合物,所述抗原性蛋白质复合物引发与所述蛋白质复合物成分分别表达相比更高滴度的中和抗体。

6. 如权利要求1-5的任一项的病毒载体,其中所述沙粒病毒是

(i) 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒;

(ii) 复制缺陷性的,并被工程化以含有基因组,具有在感染的细胞中扩增和表达它的遗传信息的能力,但是不能在正常的、未遗传工程化的细胞中产生进一步的传染性子代颗粒;

(iii) 双片段化和复制缺陷性的;或

(iv) 三片段化和复制感受态的。

7. 如权利要求1-6的任一项的病毒载体,其中编码沙粒病毒的糖蛋白的开放阅读框被删除或功能性灭活。

8. 如权利要求1-7的任一项的病毒载体,其中编码所述传染性沙粒病毒病毒载体的基因组信息来源于淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒克隆13毒株或淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒MP毒株。

9. 如权利要求1-8的任一项的病毒载体,其中所述病毒载体包含基因组片段,其中所述基因组片段包含

与SEQ ID NO:11的1639到3315或SEQ ID NO:12的1640到3316的核苷酸序列至少90%相同的核苷酸序列。

10. 如权利要求1-8中任一项所述的病毒载体,其中所述病毒载体包含基因组区段,其中所述基因组区段包含的核苷酸序列与SEQ ID NO:11的1639到3315或SEQ ID NO:12的1640-3316编码的核苷酸序列至少95%相同。

11. 如权利要求1-8中任一项所述的病毒载体,其中所述病毒载体包含基因组区段,其中所述基因组区段包含的核苷酸序列与SEQ ID NO:11的1639到3315或SEQ ID NO:12的1640-3316编码的核苷酸序列至少100%相同。

12. 如权利要求1至8中任一项所述的病毒载体,其中所述病毒载体包含基因组区段,其中所述基因组区段包含编码表达产物的核苷酸序列,所述表达产物的氨基酸序列与SEQ ID NO:11的1639到3315或SEQ ID NO:12的1640-3316编码的核苷酸序列至少90%相同。

13. 如权利要求1至8中任一项所述的病毒载体,其中所述病毒载体包含基因组区段,其中所述基因组区段包含编码表达产物的核苷酸序列,所述表达产物的氨基酸序列与SEQ ID NO:11的1639到3315或SEQ ID NO:12的1640-3316编码的核苷酸序列至少95%相同。

14. 如权利要求1至8中任一项所述的病毒载体,其中所述病毒载体包含基因组区段,其中所述基因组区段包含编码表达产物的核苷酸序列,所述表达产物的氨基酸序列与SEQ ID NO:11的1639到3315或SEQ ID NO:12的1640-3316编码的核苷酸序列至少100%相同。

15. 如权利要求1到14的任一项的病毒载体,其中所述沙粒病毒的生长或感染性不受所述核苷酸序列的影响。

16. 如权利要求1到15的任一项的病毒载体,其中所述沙粒病毒是传染性、复制缺陷性沙粒病毒病毒载体,其被工程化以含有基因组,具有在感染的细胞中扩增和表达它的遗传信息的能力,但是不能在正常的、未遗传工程化的细胞中产生进一步的传染性子代颗粒, (a) 其中所述沙粒病毒病毒载体向对象的施用诱导针对所述HBV抗原或其抗原性片段的持久的免疫应答,任选地其中

(i) 所述持久的免疫应答诱导针对所述HBV抗原或其抗原性片段的可检测的抗体滴度;

(ii) 所述持久的免疫所述诱导针对所述HBV抗原或其抗原性片段的可检测的抗体滴度持续至少4周

或 (b) 其中所述沙粒病毒病毒载体向感染HBV的对象的施用提高针对所述HBV抗原或其抗原性片段的抗体滴度至少100%。

17. 如权利要求16所述的病毒载体,其中所述沙粒病毒病毒载体向感染HBV的对象的施用提高针对所述HBV抗原或其抗原性片段的抗体滴度至少500%。

18. 如权利要求16所述的病毒载体,其中所述沙粒病毒病毒载体向感染HBV的对象的施

用提高针对所述HBV抗原或其抗原性片段的抗体滴度至少1000%。

19. 一种药物组合物、免疫原性组合物或疫苗, 包含权利要求1到18的任一项的病毒载体和药学上可接受的载体。

20. 如权利要求1到18的任一项的病毒载体或权利要求19的药物组合物、免疫原性组合物或疫苗在制备用于治疗或预防患者中的乙型肝炎病毒感染的药物中的用途。

21. 一种分离的核酸, 其中所述核酸包含沙粒病毒基因组片段, 其中所述基因组片段的一个开放阅读框被删除或功能性灭活, 以及其中所述基因组片段包含一个或更多个以下的:

- a. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
  - b. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列; 和
  - c. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- 任选地, 其中所述基因组片段是短片段, 其中编码GP的开放阅读框被删除。

22. 一种产生传染性、复制缺陷性沙粒病毒病毒载体的体外方法, 包括:

- a. 向宿主细胞中转染权利要求21的核酸;
  - b. 在适合于病毒形成的条件下维持所述宿主细胞; 和
  - c. 收获所述传染性、复制缺陷性沙粒病毒病毒载体;
- 其中所述宿主细胞表达所述基因组片段的被删除或功能性灭活的开放阅读框;

任选地, 所述方法进一步包括在步骤a. 中向所述宿主细胞中转染: 第二沙粒病毒基因组片段的cDNA、包含L蛋白ORF的核酸和/或包含NP ORF的核酸。

23. 一种药物组合物, 包含第一传染性、复制缺陷性沙粒病毒病毒载体, 其被工程化以含有基因组, 具有在感染的细胞中扩增和表达它的遗传信息的能力, 但是不能在正常的、未遗传工程化的细胞中产生进一步的传染性子代颗粒, 其中一个沙粒病毒开放阅读框被移除并被选自以下的第一核苷酸序列替换:

- a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列; 和
- c. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;

以及第二传染性、复制缺陷性沙粒病毒病毒载体, 其被工程化以含有基因组, 具有在感染的细胞中扩增和表达它的遗传信息的能力, 但是不能在正常的、未遗传工程化的细胞中产生进一步的传染性子代颗粒, 其中一个沙粒病毒开放阅读框被移除并被选自以下的第二核苷酸序列替换:

- a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列; 和
- c. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列。

24. 如权利要求23的药物组合物, 其中

(i) 所述第一和第二核苷酸序列是不同的;

(ii) 所述第一核苷酸序列编码HBV pre-S2/S蛋白或其片段, 和其中所述第二核苷酸序列编码

HBV HBc蛋白或其片段; 或

HBV HBs和HBc蛋白或其片段的融合物。



25. 如权利要求1-18任一项的病毒载体,权利要求19的药物组合物、免疫原性组合物或疫苗,或权利要求23或24的药物组合物,其中所述病毒载体、药物组合物、免疫原性组合物或疫苗适合于肌肉内施用或静脉内施用。

## 针对乙型肝炎病毒的疫苗

[0001] 本申请要求2015年11月4日提交的美国临时专利申请No.62/250,639的权益,其公开内容通过引用完全合并在本文中。

[0002] 对电子提交的序列表的引用

[0003] 本申请通过引用合并了2016年11月2日创建的、128,899字节大小、文件名为“Sequence\_Listing\_13194-014-228.TXT”的随本申请一起提交的序列表。

[0004] 1.引言

[0005] 本文提供的是遗传修饰的沙粒病毒,适合作为疫苗用于预防和治疗乙型肝炎病毒感染。本文还提供的是用于治疗乙型肝炎病毒感染的药物组合物和方法。具体地,本文提供的是治疗乙型肝炎病毒感染的药物组合物、疫苗和方法。因而,本申请提供了对乙型肝炎病毒感染的免疫治疗。

[0006] 2.背景

[0007] 2.1病原体 and 疾病

[0008] 乙型肝炎病毒 (HBV) 是嗜肝DNA病毒科的双链的包膜病毒。病毒颗粒由外层的脂质包膜和由蛋白质组成的二十面核衣壳核心组成。核衣壳包围着病毒DNA和具有逆转录酶活性的DNA聚合酶。外包膜含有被包埋的蛋白质,它们涉及病毒结合和进入易感细胞。HBV在人类和其他高等灵长类的肝细胞中复制,但是不在人造细胞培养物中生长。

[0009] HBV感染的结局是年龄依赖性的,包括无症状的感染、急性乙型肝炎、慢性HBV感染、肝硬化和肝细胞癌 (HCC)。急性乙型肝炎在大约1%的围产期感染、10%的早期儿童感染 (年龄1-5岁的儿童) 和30%的晚期感染 (>5岁的人) 中发生。暴发型肝炎在0.1-0.6%的急性肝炎病例中发生;爆发型乙型肝炎的死亡率是大约70%。慢性HBV感染的发展与获得年龄逆相关,发生于大约80%-90%的围产期感染的人、约30%的6岁之前感染的儿童、以及其他健康成年人中发生的5%的感染中 (Hyams et al.,1995,Clinical Infections Diseases20:992-1000)。包括并发HIV感染和摄入酒精或毒素,或两者兼而有之的并发症可能在与乙型肝炎相关的发病的发展中起重要作用。据估计,全球4000万感染HIV的人中有10%与HBV共感染。

[0010] 患有慢性HBV感染的人具有15-25%的过早死于HBV相关性肝硬化和HCC的风险 (Beasley and Hwang,1991,Proceedings of the 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease:Contemporary Issues and Future Prospects 532-535)。急性HBV感染的特征在于存在HBV的表面抗原HBsAg,以及针对核心抗原的HBcAg的免疫球蛋白M (IgM)。在最初的高度复制期感染期间,患者对HBeAg也是血清阳性的,HBeAg是细胞外和分泌形式的HBcAg,可在患者血清中发现,它可作为慢性肝炎中活动复制的标志物。针对HBsAg的抗体 (anti-HBs) 在数周后可辨别,之后是HBsAg的清除。慢性感染的特征在于HBsAg的存续 (>6个月) (有或没有并发的HBeAg)。HBsAg的存续是发生慢性肝病和晚年HCC风险的主要标志物。存在HBeAg表明受感染个体的血液和体液是高度传染性的。

[0011] 2.2流行病学和公共卫生

[0012] 由乙型肝炎病毒引起的疾病有着世界范围内的分布。据估计,有二十亿人在一段

时间内感染了HBV。其中,约有3.6亿人是慢性感染的并面临严重疾病和死亡的风险,主要来自肝硬化和肝细胞癌(HCC)。2000年的数学建模估计来自HBV相关疾病的死亡数量全世界大约每年600 000人(Goldstein et al,2005,International J.Epidemiology 34:1329-1339)。人类是HBV的唯一贮库。病毒通过对受感染血液和其他体液的经皮和渗透皮肤的暴露传播,主要是精液和阴道液。潜伏期平均75天,但可能在约30天到180天之间变化。HBV的表面抗原(HBsAg)可在感染后30-60天的血清中检出,可能存续广泛可变的时间。乙型肝炎的流行是由限定地理区域的一般人群中HBsAg的流行情况来描述的,并且在全球范围内显著变动:HBsAg流行率>8%是典型的高度流行地区,2-7%的发病率是中等流行地区,而在低流行地区<2%的人群是HBsAg阳性。

[0013] 在高度流行地区,HBV的最常见的情况是在出生时从母亲传播到儿童,或者在儿童早期从人传到人(Goldstein et al.,2005,International J.Epidemiology 34:1329-1339;Wong et al,1984,Lancet 1:921-926;de la Hoz et al,2008 International J.Infectious Diseases 12:183-189)。围产期或早期儿童传播也可能占流行率低的地区超过三分之一的慢性感染(Margolis et al.,1995,JAMA 274:1201-1208),尽管在这些情况下,性传播和使用受污染的针头,特别是在注射吸毒者中,是主要的感染途径(Goldstein et al,2002,J.Infectious Diseases 185:713-719)。

[0014] 2.3当前的治疗

[0015] 通用乙型肝炎疫苗接种已经显示了显著地降低HBV感染和HCC的比率。然而,一旦建立了慢性HBV感染,治疗仍然是巨大的挑战,因为传统的治疗通常不能提供大多数患者中对病毒复制和肝脏损伤的持续控制。

[0016] 当前批准的慢性乙型肝炎的抗病毒治疗包括聚乙二醇化的(PEG)重组干扰素- $\alpha$ 和病毒DNA聚合酶抑制物。这些试剂降低病毒复制,已经显示了延迟肝硬化的进展、降低HCC的发生率并改善长期存活。然而,治疗因试剂的毒性而复杂化,它只能治愈一小部分慢性感染的个体。虽然在接受标准治疗的个体中血液中的病毒水平降低到几乎不可检测的水平,肝内病毒DNA的降低仅仅是少量的。结果,经常在停止治疗后发生病毒血的反弹,患有慢性HBV感染的人必需保持终生治疗。然而,即使在抗病毒治疗十年之后,药物仅降低肝衰竭40-70%,由于肝硬化和肝癌的死亡仍然很高。

[0017] 2.4乙型肝炎和免疫系统

[0018] 慢性乙肝感染的特征在于先天和适应性抗病毒免疫的功能障碍(Bertoletti&Ferrari,2012,Gut 61:1754-1764)。相比之下,具有已解决的HBV感染的患者中HBV特异性免疫是健壮和多功能的。几种机制可能促慢性乙肝患者中HBV特异性T细胞免疫的功能障碍,包括高水平的病毒抗原血症,以及肝脏的耐受微环境(Jenne&Kubes,2013,Nat.Immunol.14:996-1006)。早先的研究表明,抑制病毒复制可以暂时和部分地恢复抗病毒T细胞免疫,这支持了这种假说,对高水平抗原血的长期暴露可能导致抗病毒T细胞的功能障碍(Boni et al,2003,J.Hepatol.39:595-605)。

[0019] 可以逆转慢性乙肝的功能障碍的免疫状态和恢复抗病毒免疫的治疗性疫苗理论上将有潜力消除病毒血症,将HBV DNA的肝内水平降至零,因而有治愈HBV的巨大前景。

[0020] 近来,HBV疫苗已经被认为是用于治疗和控制HBV携带者和持续感染的患者中的HBV感染的有前景的治疗策略(Michel&Tiollais,2010,Pathol.Biol.(Paris) 58:288-295;

Liu et al, 2014, Virol. Sin. 29:10-16)。在约50%的慢性活动HBV患者中,通过常规抗HBV疫苗接种的特异性治疗有效地降低了HBV的复制并抑制了对HBsAg蛋白的免疫耐受(Couilllin et al, 1999, J. Infect. Dis. 180:15-26)。然而,迄今为止基于HBsAg疫苗的单一治疗未能产生对HBV复制和/或肝损伤的持续控制(Akbar et al, 2013, Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int. 12:363-369),需要新的治疗策略来提供强力和持久的抗病毒免疫反应和对HBV复制的长期控制。

[0021] 早先的治疗性疫苗方案的失败凸显了当前对于慢性HBV感染中的免疫反应的认识的挑战和限制(Michel et al, 2011, J. Hepatol. 54:1286-1296)。高病毒负载状况例如慢性乙肝与耐受肝脏微环境的组合可能使得难以实现抗病毒T细胞免疫的完全恢复。

[0022] 当前密集的研究专注于更好地理解肝细胞中的免疫反应、HBV逃避先天免疫的机制、以及正确选择敏感受益于免疫治疗的患者,这可以提高治疗性疫苗接种的效力(Michel et al., 2015, Med. Microbiol. Immunol. 204:121-129)。

[0023] 3. 发明概述

[0024] 本申请提供了对乙型肝炎病毒感染的免疫治疗。本文提供的是一种传染性沙粒病毒的病毒载体,其包含选自以下的核苷酸序列:

[0025] a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0026] b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0027] c. 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0028] d. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和

[0029] e. 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0030] 在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。在某些实施方式中,所述传染性、复制缺陷性沙粒病毒的病毒载体是双片段化的。在某些实施方式中,所述传染性、复制缺陷性沙粒病毒的病毒载体是三片段化的。在某些实施方式中,所述传染性、复制感受态的沙粒病毒的病毒载体是三片段化的。

[0031] 在某些实施方式中,本文提供的是一种沙粒病毒的病毒载体,其包含选自以下的核苷酸序列:

[0032] a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0033] b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0034] c. 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0035] d. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和

[0036] e. 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0037] 在某些实施方式中,所述沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的。在某些实施方式中,所述沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的。

[0038] 在某些实施方式中,本文提供的病毒载体是传染性的,即,能够进入宿主细胞或将它的遗传材料注入宿主细胞。在某些更具体的实施方式中,本文提供的病毒载体是传染性的,即,能够进入宿主细胞或将它的遗传材料注入宿主细胞,随后在所述宿主细胞内部扩增和表达它的遗传信息。在某些实施方式中,所述病毒载体是传染性、复制缺陷性沙粒病毒病毒载体,其被工程化以含有基因组,具有在感染的细胞中扩增和表达它的遗传信息的能力,

但是不能在正常的、未遗传工程化的细胞中产生进一步的传染性子代颗粒。在某些实施方式中,本文提供的是细胞系,其支持野生型病毒的病毒生长,但不能表达补充性病毒蛋白质,因而不能产生进一步的传染性病毒子代颗粒。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的,能够在正常的、未遗传工程化的细胞中产生进一步的传染性子代颗粒。

[0039] 在某些实施方式中,所述pre-S2/S蛋白或其抗原性片段包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。在某些实施方式中,当所述片段能够(i)在宿主(例如,小鼠、兔、山羊或驴)中引发抗体免疫应答,其中产生的抗体特异性结合人HBV pre-S2/S蛋白;和/或(ii)引发特异性T细胞免疫应答,所述片段是抗原性的。

[0040] 在某些实施方式中,所述HBc蛋白或其抗原性片段包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。在某些实施方式中,当所述片段能够(i)在宿主(例如,小鼠、兔、山羊或驴)中引发抗体免疫应答,其中产生的抗体特异性结合人HBV HBc蛋白;和/或(ii)引发特异性T细胞免疫应答,所述片段是抗原性的。

[0041] 在某些实施方式中,所述HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。在某些实施方式中,当所述片段能够(i)在宿主(例如,小鼠、兔、山羊或驴)中引发抗体免疫应答,其中产生的抗体特异性结合人HBV HBs、HBc、或HBs与HBc两者;和/或(ii)引发特异性T细胞免疫应答,所述片段是抗原性的。

[0042] 在某些实施方式中,所述HBe蛋白或其抗原性片段包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:26的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。在某些实施方式中,当所述片段能够(i)在宿主(例如,小鼠、兔、山羊或驴)中引发抗体免疫应答,其中产生的抗体特异性结合人HBV HBe蛋白;和/或(ii)引发特异性T细胞免疫应答,所述片段是抗原性的。

[0043] 在某些实施方式中,所述病毒载体包含以下的至少两个:

[0044] a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0045] b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0046] c. 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0047] d. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和

[0048] e. 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述病毒载体包含以下的至少三个:

[0049] a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0050] b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0051] c. 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0052] d. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和

[0053] e. 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0054] 在某些实施方式中,所述沙粒病毒的开放阅读框(ORF)被删除或功能性灭活,并被编码如本文描述的HBV抗原的核酸替换。在具体的实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白GP的ORF被删除或功能性灭活。在某些实施方式中,基因的功能性灭活消除了任何翻译产物。在某些实施方式中,功能性灭活是指一种容许一定翻译的遗传改变,然而所述翻译产物不再是有功能的,并且不能替代野生型蛋白。

[0055] 在某些实施方式中,所述病毒载体可以在已经被该病毒载体感染的细胞中扩增和表达它的遗传信息,但是所述病毒载体不能在非补充细胞中产生进一步的传染性子代颗粒。在某些实施方式中,本文提供的病毒载体是传染性的,即,能够进入宿主细胞或将它的遗传材料注入宿主细胞。在某些更具体的实施方式中,本文提供的病毒载体是传染性的,即,能够进入宿主细胞或将它的遗传材料注入宿主细胞,随后在所述宿主细胞内部扩增和表达它的遗传信息。

[0056] 在某些实施方式中,编码所述传染性沙粒病毒颗粒的基因组信息衍生自淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)克隆13毒株或LCMV MP毒株。克隆13的S片段和L片段的核苷酸序列分别在SEQ ID NO:12和7中列出。

[0057] 在某些实施方式中,本文提供的是病毒载体,所述病毒载体的基因组是克隆13的基因组(SEQ ID NOs:12和7),或通过删除克隆13基因组的ORF(例如,GP蛋白的ORF)并将其替换为编码抗原(例如,HBV抗原)的异源ORF,使得剩余的LCMV基因组至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%、或100%相同于克隆13的核苷酸序列(SEQ ID NO:12和7)而衍生自克隆13的基因组(SEQ ID NOs:12和7)。

[0058] 在某些实施方式中,本文提供的是病毒载体,所述病毒载体的基因组通过删除LCMV毒株MP基因组的ORF(例如,GP蛋白的ORF)并将其替换为编码抗原(例如,HBV抗原)的异源ORF,使得剩余的LCMV基因组至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%、至少99.9%或100%相同于LCMV毒株MP的核苷酸序列(SEQ ID NOs:13和14)而衍生自LCMV毒株MP的基因组(SEQ ID NOs:13和14)。

[0059] 在更具体的实施方式中,所述病毒载体包含基因组片段,其中所述基因组片段包含至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:11的核苷酸1639到3315或SEQ ID NO:12的核苷酸1640到3316的序列的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述病毒载体包含基因组片段,所述基因组片段包含编码表达产物的核苷酸序列,所述表达产物的氨基酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:11的1639到3315或SEQ ID NO:12的核苷酸1640到3316编码的氨基酸序列。

[0060] 本文还提供的是分离的核酸,其中所述核酸是沙粒病毒基因组片段的cDNA,其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活并且其中所述基因组片段包含以下的一个或任何组合:

- [0061] a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列；
- [0062] b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列；
- [0063] c. 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列；
- [0064] d. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列；和
- [0065] e. 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。
- [0066] 在某些实施方式中，所述基因组片段是短片段，其中编码GP的ORF被删除。
- [0067] 在一个方面，本文提供的是产生传染性、复制缺陷性沙粒病毒颗粒的方法，包括：
- [0068] a. 向宿主细胞中转染本文描述的核酸；
- [0069] b. 在适合于病毒形成的条件下维持所述宿主细胞；和
- [0070] c. 收获所述传染性、复制缺陷性沙粒病毒颗粒；
- [0071] 其中所述宿主细胞表达所述基因组片段上被删除或功能性灭活的ORF。在某些实施方式中，病毒颗粒的拯救所需的任何其他核酸也在步骤a中被转染到所述宿主细胞中。这样的其他核酸可以是：第二沙粒病毒基因组片段的cDNA、包含L ORF的核酸、和/或包含NP ORF的核酸。
- [0072] 在另一个方面，本文提供的是组合物，例如药物组合物、免疫原性组合物或疫苗组合物，其包含本文描述的病毒载体和药学上可接受的载体。本文还提供的是包含两种或更多种本文描述的不同病毒载体（即，其中所述病毒载体编码不同的HBV抗原）的组合物（例如，疫苗组合物）。在某些实施方式中，所述药物组合物包含本文描述的核酸或融合蛋白。
- [0073] 在进一步的方面中，本文提供的是治疗或预防患者的HBV感染的方法，包括向所述患者施用本文描述的病毒载体、药物组合物、免疫原性组合物或疫苗。在又一个方面，本文提供的是本文描述的病毒载体、药物组合物、免疫原性组合物或疫苗用于治疗或预防HBV的用途。在某些实施方式中，表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒能够预防从母亲到未出生胎儿的HBV传播和/或感染。在某些实施方式中，表达HBV抗原或其片段的一种或更多种传染性沙粒病毒能够预防从母亲到未出生胎儿的HBV传播和/或感染。在某些实施方式中，所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的（参见章节6.1 (a)）。在某些实施方式中，所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的（参见章节6.1 (b)）。
- [0074] 在某些实施方式中，向患者施用表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒诱导持久的免疫应答。在某些实施方式中，所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的（参见章节6.1 (a)）。在某些实施方式中，所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的（参见章节6.1 (b)）。
- [0075] 在某些实施方式中，本文提供的是治疗和/或预防患者的HBV感染的方法，包括向所述患者施用两种或更多种表达HBV抗原或其片段的沙粒病毒。在更具体的实施方式中，每种沙粒病毒表达不同的HBV抗原或其片段。在其他实施方式中，每种沙粒病毒表达HBV抗原或其衍生物。在某些实施方式中，所述其衍生物是HBV抗原片段。在又一个实施方式中，本文提供的是包含各自表达不同HBV抗原或其片段的两种或更多种沙粒病毒的组合物。在某些实施方式中，所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的（参见章节6.1 (a)）。在某些实施方式中，所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的（参见章节6.1 (b)）。
- [0076] 在某些实施方式中，所述沙粒病毒是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒（LCMV）或胡宁病毒（JUNV）。

[0077] 在某些实施方式中,本文提供的是传染性沙粒病毒的病毒载体,其中沙粒病毒开放阅读框被移除并被编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列替换。在具体的实施方式中,所述沙粒病毒是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒。在具体的实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的开放阅读框被删除或功能性灭活。在具体的实施方式中,所述病毒载体是复制缺陷性的。在具体的实施方式中,所述病毒载体是复制感受态的。在具体的实施方式中,所述病毒载体是三片段化的。在某些实施方式中,本文提供的是治疗或预防患者的乙型肝炎病毒感染的方法,其中所述方法包括向所述患者施用所述病毒载体,从所述病毒载体中沙粒病毒开放阅读框被移除并被编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列替换。

[0078] 3.1惯例和缩写

[0079]	AFP	甲胎蛋白
--------	-----	------



[0080]

ALT	丙氨酸转氨酶
APC	抗原递呈细胞
AST	天冬氨酸转氨酶
C-cell	补充细胞系
CD4	分化群 4
CD8	分化群 8
CMI	细胞介导的免疫
GS-质粒	表达基因组片段的质粒
HBc 或 HBcAg	HBV 核心抗原
HBe 或 HBeAg	细胞外的 HBV 核心抗原
HBs 或 HBsAg	HBV (大) 表面抗原
HBV	乙型肝炎病毒
HCC	肝细胞癌
HRP	辣根过氧化物酶
IFN- $\gamma$	干扰素- $\gamma$
IGR	基因间区域
JUNV	胡宁病毒
LCMV	淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒
LDH	乳酸脱氢酶
MHC	主要组织相容性复合体
NP	核蛋白
ORF	开放阅读框
Pre-S2/S	HBV 中表面抗原
TF-质粒	表达反式作用因子的质粒
TNF- $\alpha$	肿瘤坏死因子- $\alpha$
UTR	非翻译区
Z	来自 LCMV 的基质蛋白

[0081] 4. 序列表的说明

[0082] 以下序列是可以与本文描述的方法和组合物一起使用的说明性的氨基酸序列和核苷酸序列。在某些情况下, DNA序列被用于描述病毒基因组片段的RNA序列。RNA序列可以从DNA序列容易地推导出。序列本身还可以在章节6.10的表3中找到。

[0083] SEQ ID NO:1是HBV pre-S2/S ORF的核苷酸序列。

[0084] SEQ ID NO:2是HBV HBc ORF的核苷酸序列。

- [0085] SEQ ID NO:3是HBV HBs-HBc融合蛋白ORF的核苷酸序列。
- [0086] SEQ ID NO:4是cDNA形式的表达HBV HBs-HBc融合蛋白的LCMV S片段的核苷酸序列。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:4中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:4中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0087] SEQ ID NO:5是cDNA形式的表达HBc ORF的LCMV S片段的核苷酸序列。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:5中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:5中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0088] SEQ ID NO:6是cDNA形式的表达pre-S2/S ORF的LCMV S片段的核苷酸序列。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:6中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:6中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0089] SEQ ID NO:7是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒克隆13片段L,全序列(GenBank:DQ361066.1)。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:7中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:7中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0090] SEQ ID NO:8是HBV HBs蛋白衍生的表位的氨基酸序列。
- [0091] SEQ ID NO:9是HBV HBs蛋白衍生的表位的氨基酸序列。
- [0092] SEQ ID NO:10是HBV HBc蛋白衍生的表位的氨基酸序列。
- [0093] SEQ ID NO:11是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒片段S,全序列。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:11中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:11中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0094] SEQ ID NO:12是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒克隆13片段S,全序列(GenBank:DQ361065.2)。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:12中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:12中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0095] SEQ ID NO:13是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎毒株MP片段L,全序列。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:13中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:13中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0096] SEQ ID NO:14是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎毒株MP片段S,全序列。基因组片段是RNA,SEQ ID NO:14中的序列显示为DNA;然而,将SEQ ID NO:14中的全部胸腺嘧啶核苷(“T”)替换为尿嘧啶(“U”)提供了RNA序列。
- [0097] SEQ ID NO:15是LCMV的MP毒株的NP蛋白的氨基酸序列。
- [0098] SEQ ID NO:16是LCMV的MP毒株的GP蛋白的氨基酸序列。
- [0099] SEQ ID NO:17是LCMV的MP毒株的L蛋白的氨基酸序列。
- [0100] SEQ ID NO:18是LCMV的MP毒株的Z蛋白的氨基酸序列。
- [0101] SEQ ID NO:19是胡宁病毒Candid#1毒株片段L,全序列。
- [0102] SEQ ID NO:20是胡宁病毒Candid#1毒株片段S,全序列。
- [0103] SEQ ID NO:21是LCMV的克隆13毒株的NP蛋白的氨基酸序列。
- [0104] SEQ ID NO:22是LCMV的克隆13毒株的GP蛋白的氨基酸序列。
- [0105] SEQ ID NO:23是LCMV的克隆13毒株的L蛋白的氨基酸序列。
- [0106] SEQ ID NO:24是LCMV的克隆13毒株的Z蛋白的氨基酸序列。
- [0107] SEQ ID NO:25是LCMV的WE毒株的GP蛋白的氨基酸序列。

[0108] SEQ ID NO:26是HBV HBe抗原的核苷酸序列。

[0109] 5.附图的简要说明

[0110] 附图1:野生型沙粒病毒的基因组由短RNA片段(1;~3.4kb)和大RNA片段(2;~7.2kb)组成。短片段带有编码核蛋白(3)和糖蛋白(4)的ORF。大片段编码RNA依赖性RNA聚合酶L(5)和基质蛋白Z(6)。通过删除糖蛋白基因,并代替糖蛋白基因插入要诱导免疫反应所选抗原(7),野生型沙粒病毒可以成为复制缺陷性疫苗载体。

[0111] 附图2A-C:双片段化和三片段化LCMV的基因组架构的示意图。野生型LCMV的双片段化基因组由编码GP和NP的一个S片段以及编码Z蛋白和L蛋白的一个L片段组成(A)。两个片段的侧翼都是各自的5'和3' UTR。重组的三片段化LCMV(r3LCMV)的基因组由一个L和两个S片段组成,有一个位置来将目的基因(在此为GFP)插入到每一个S片段中。r3LCMV-GFP<sup>natural</sup>(nat)具有处于它们天然位置的全部病毒基因(B),而r3LCMV/GFP<sup>artificial</sup>(art)中的GP ORF被人工并置于3' UTR并在3' UTR的控制下表达(C)。

[0112] 附图3:乙型肝炎病毒特异性CD8<sup>+</sup> T细胞,表示为用10<sup>5</sup>FFU的rLCMV/HBs-HBc(组1)、rLCMV/HBc(组3)、rLCMV/Pre-S2(组4)或用10<sup>4</sup>FFU的rLCMV/HBs-HBc(组2)静脉内免疫之后10天的,C57BL/6小鼠(每组5只小鼠)的外周血中总的CD8<sup>+</sup>B220<sup>+</sup> T细胞库的百分比。对照小鼠未治疗。

[0113] 附图4A-B:乙型肝炎病毒特异性CD8<sup>+</sup> T细胞,表示为用10<sup>5</sup>FFU的r3LCMV/HBs-HBc(组1)、r3LCMV/HBc(组2)、r3LCMV/Pre-S2(组3)或用10<sup>5</sup>FFU的rLCMV//HBs-HBc(组4)静脉内免疫之后八天的,C57BL/6小鼠(每组5只小鼠)的血液中的循环淋巴细胞的百分比。对照小鼠未治疗。

[0114] 6.发明的详细说明

[0115] 本申请提供了对乙型肝炎病毒感染的免疫治疗:本文提供的是用于治疗或预防HBV感染对象的方法和组合物。更具体地,本文提供的是包含编码HBV抗原的核苷酸序列的传染性沙粒病毒。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒是复制缺陷性的。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒是复制感受态的。这些病毒可以被施用给对象用于治疗或预防HBV感染。用于本发明的传染性沙粒病毒的产生在章节5.3中更详细地描述。本文提供的是遗传修饰的沙粒病毒,其中所述沙粒病毒:

[0116] 是传染性的;

[0117] 在非补充细胞中不能形成传染性的子代病毒(即,不表达功能性的细胞,所述功能性是所述复制缺陷性沙粒病毒缺少的,并使得所述沙粒病毒成为复制缺陷性的);

[0118] 能够复制它的基因组并表达它的遗传信息;和

[0119] 编码HBV抗原或其片段。

[0120] 本文描述的遗传修饰的沙粒病毒是传染性的,即,它可以附着于宿主细胞并释放它的遗传材料进入所述宿主细胞。本文描述的遗传修饰的沙粒病毒可以是复制缺陷性的,即,所述沙粒病毒不能在非补充细胞中产生进一步的传染性子代颗粒。特别是,为了创造复制缺陷性沙粒病毒,沙粒病毒的基因组被修饰(例如,通过ORF的删除或功能性灭活),使得带有该修饰的基因组的病毒不再产生传染性子代病毒。非补充细胞是一种细胞,其不提供已通过修饰病毒基因组从复制缺陷性沙粒病毒中消除的功能性(例如,如果编码GP蛋白的ORF被删除或功能性灭活,非补充细胞不提供所述GP蛋白)。然而,本文提供的遗传修饰的复

制缺陷性沙粒病毒能够在补充细胞中产生传染性子代病毒。补充细胞是一类细胞,其(反式地)提供已通过修饰病毒基因组从所述复制缺陷性沙粒病毒消除的功能性(例如,如果编码GP蛋白的ORF被删除或功能性灭活,补充细胞提供所述GP蛋白)。补充的功能性(例如了,GP蛋白)的表达可以通过本领域技术人员已知的任何方法来实现(例如,瞬时或稳定的表达)。本文描述的遗传修饰的沙粒病毒可以在被所述病毒感染的细胞中扩增和表达它的遗传信息。本文提供的遗传修饰的沙粒病毒包含编码HBV抗原的核苷酸序列,例如但不限于章节6.2中描述的HBV抗原。

[0121] 在某些实施方式中,本文提供的是遗传修饰的沙粒病毒,其中沙粒病毒基因组的ORF被删除或功能性灭活,使得产生的病毒不能在非补充细胞中产生进一步的传染性子代病毒。包含遗传修饰的基因组的沙粒病毒颗粒可以在补充细胞中产生(即,在表达被删除或功能性灭活的沙粒病毒ORF的细胞中),在所述遗传修饰的基因组中ORF被删除或功能性灭活(参见章节6.3)。产生的沙粒病毒颗粒的遗传材料可以在感染宿主细胞时传递到所述宿主细胞中,在其中所述遗传材料可以被表达和扩增。此外,本文提供的遗传修饰的沙粒病毒颗粒的基因组编码可以在所述宿主细胞中表达的HBV抗原。

[0122] 在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白(GP)的ORF被删除以产生用于本发明的复制缺陷性沙粒病毒。在具体的实施方式中,所述复制缺陷性沙粒病毒包含基因组片段,所述基因组片段包含编码HBV抗原的核苷酸序列。因而,在某些实施方式中,本文提供的遗传修饰的沙粒病毒颗粒包含基因组片段,所述基因组片段a)具有ORF的删除或功能性灭活,所述ORF存在于基因组片段的野生型形式中;和b)编码(反义或正义地)HBV抗原(参见章节6.3)。

[0123] 在某些实施方式中,被插入沙粒病毒的基因组中的核酸编码的抗原可以编码,例如,HBV抗原或HBV抗原的组合,包括但不限于:

[0124] a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0125] b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0126] c. 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0127] d. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;

[0128] e. 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0129] 在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0130] 本文描述的抗原的详细说明在章节6.2中提供。

[0131] 在某些实施方式中,根据本文描述的发明的使用的沙粒病毒可以是旧世界病毒(Old World viruses),例如,淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)。本文描述的沙粒病毒的更详细的说明在章节6.1中提供。在某些实施方式中,根据本文描述的发明使用的沙粒病毒可以是新世界病毒(New World viruses)。

[0132] 本文提供的是包含这样的复制缺陷性沙粒病毒的基因组的核酸。在某些方面,传染性、复制缺陷性沙粒病毒颗粒包含基因组片段,所述基因组片段包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的核苷酸序列。

[0133] 本文提供的是表达质粒,其编码产生本文描述的病毒载体所需的一种或更多种成

分。具体地,本文提供的是表达载体,其编码LCMV S片段,其中GP蛋白的ORF已经从所述S片段删除,并且已经被替换为人HBV pre-S2/S蛋白的ORF(例如,具有由SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列,或80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于由SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列)。

[0134] 本文提供的是表达质粒,其编码产生本文描述的病毒载体所需的一种或更多种成分。具体地,本文提供的是表达载体,其编码LCMV S片段,其中GP蛋白的ORF已经从所述S片段删除,并且已经被替换为人HBV HBc蛋白的ORF(例如,具有由SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列,或80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于由SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列)。

[0135] 本文提供的是表达质粒,其编码产生本文描述的病毒载体所需的一种或更多种成分。具体地,本文提供的是表达载体,其编码LCMV S片段,其中GP蛋白的ORF已经从所述S片段删除,并且已经被替换为人HBV HBs的ORF和人HBV HBc的ORF(例如,具有由SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列,或80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于由SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列)。

[0136] 本文提供的是包含一种或两种本文描述的载体质粒的试剂盒。在某些实施方式中,本文提供的是试剂盒,其包含a) 包含LCMV载体的S片段是核苷酸序列的表达质粒;b) 包含LCMV载体的L片段的核苷酸序列的表达质粒;和c) 编码补充功能性的表达质粒。在具体的实施方式中,本文提供的是试剂盒,其包含a) 包含LCMV S片段的核苷酸序列的表达载体,其中GP蛋白的ORF已经从所述S片段中删除并已经被替换为人HBV pre-S2/S蛋白的ORF(例如,具有由SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列,或80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于由SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列);b) 包含LCMV载体的L片段的核苷酸序列的表达质粒;和c) 编码LCMV GP蛋白的表达质粒(或表达LCMV GP蛋白的细胞系)。

[0137] 本文提供的是包含一种或两种本文描述的载体质粒的试剂盒。在某些实施方式中,本文提供的是试剂盒,其包含a) 包含LCMV载体的S片段是核苷酸序列的表达质粒;b) 包含LCMV载体的L片段的核苷酸序列的表达质粒;和c) 编码补充功能性的表达质粒。在具体的实施方式中,本文提供的是试剂盒,其包含a) 包含LCMV S片段的核苷酸序列的表达载体,其中GP蛋白的ORF已经从所述S片段中删除并已经被替换为人HBV HBc蛋白的ORF(例如,具有由SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列,或80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于由SEQ ID NO:2的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列);b) 包含LCMV载体的L片段的核苷酸序列的表达质粒;和c) 编码LCMV GP蛋白的表达质粒(或表达LCMV GP蛋白的细胞系)。

[0138] 本文提供的是包含一种或两种本文描述的载体质粒的试剂盒。在某些实施方式中,本文提供的是试剂盒,其包含a) 包含LCMV载体的S片段是核苷酸序列的表达质粒;b) 包

含LCMV载体的L片段的核苷酸序列的表达质粒;和c) 编码补充功能性的表达质粒。在具体的实施方式中,本文提供的是试剂盒,其包含a) 包含LCMV S片段的核苷酸序列的表达载体,其中GP蛋白的ORF已经从所述S片段中删除并已经被替换为人HBV HBs的ORF和人HBV HBc的ORF(例如,具有由SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列,或80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于由SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列);b) 包含LCMV载体的L片段的核苷酸序列的表达质粒;和c) 编码LCMV GP蛋白的表达质粒(或表达LCMV GP蛋白的细胞系)。

[0139] 本文还提供的是细胞系、培养物和培养被本文提供的核酸、载体和组合物感染的细胞的方法。本文描述的核酸、载体系统和细胞系的更详细的说明在章节6.4中提供。

[0140] 在一个方面,本文提供的是适合作为疫苗的这样的遗传修饰的复制缺陷性沙粒病毒,以及在疫苗接种以及治疗或预防HBV感染中使用这样的沙粒病毒的方法。使用本文描述的这样的沙粒病毒的方法的更详细的说明在章节6.5中提供。

[0141] 在某些实施方式中,用如本文描述的、表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒免疫提供了持久的免疫应答。在某些实施方式中,在两次免疫后可以实现最大抗体水平。在另一个实施方式中,可以施用第三次免疫以强化效果。在更具体的实施方式中,本文提供的是在用于HBV感染的治疗和/或预防中使用所述传染性沙粒病毒的施用日程。使用本文描述的传染性沙粒病毒的施用日程的更详细说明在章节6.6中提供。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0142] 在某些实施方式中,向血清阴性的对象施用如本文描述的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒诱导可检测的抗体滴度持续至少4周。在另一个实施方式中,向感染HBV的对象施用如本文描述的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒提高抗体滴度至少100%、至少200%、至少300%、至少400%、至少500%或至少1000%。在某些实施方式中,通过用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒首次免疫的初次抗原暴露引发功能性的(中和性的)和最小抗体滴度,其是来自感染-免疫人类对象的平均对照血清的至少50%、至少100%、至少200%、至少300%、至少400%、至少500%或至少1000%。在更具体的实施方式中,初次中和性几何平均抗体滴度在免疫后至少4周提高到至少1:50、至少1:100、至少1:200或至少1:1000的峰值。在另一个实施方式中,用本文描述的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒免疫产生高滴度的抗体,其在疫苗的单次施用之后持续免疫后至少4周、至少8周、至少12周、至少6个月、至少12个月、至少2年、至少3年、至少4年或至少5年。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0143] 在又一个实施方式中,通过用表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒第二次免疫的第二次抗原暴露提高抗体滴度至少100%、至少200%、至少300%、至少400%、至少500%或至少1000%。在另一个实施方式中,第二次抗原暴露引发功能性、(中和性)和最小抗体滴度,其是来自感染-免疫人类对象的平均对照血清的至少50%、至少100%、至少200%、至少300%、至少400%、至少500%或至少1000%。在更具体的实施方式中,第二次中和性几何平均抗体滴度在免疫后至少4周内提高到至少1:50、至少1:100、至少1:200或至少

1:1000的峰值。在另一个实施方式中,用本文描述的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒第二次免疫产生高滴度的抗体,其持续免疫后至少4周、至少8周、至少12周、至少6个月、至少12个月、至少2年、至少3年、至少4年或至少5年。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0144] 在又一个实施方式中,第三次强化免疫提高抗体滴度至少100%、至少200%、至少300%、至少400%、至少500%或至少1000%。在另一个实施方式中,所述强化免疫引发功能性、(中和性)和最小抗体滴度,其是来自感染-免疫人类对象的平均对照血清的至少50%、至少100%、至少200%、至少300%、至少400%、至少500%或至少1000%。在更具体的实施方式中,第三次强化免疫之后的中和性几何平均抗体滴度在免疫后至少4周内提高到至少1:50、至少1:100、至少1:200或至少1:1000的峰值。在另一个实施方式中,第三次强化免疫延长抗体滴度达免疫后至少4周、至少8周、至少12周、至少6个月、至少12个月、至少2年、至少3年、至少4年或至少5年。

[0145] 在某些实施方式中,表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发T细胞独立性或T细胞依赖性反应。在其他实施方式中,表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发T细胞反应。在其他实施方式中,本文描述的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发T辅助细胞反应。在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发Th1-定向的反应或Th2-定向的反应。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0146] 在更具体的实施方式中,所述Th1-定向的反应是通过IgG1抗体对比IgG2的优势来显示的。在其他实施方式中,IgG1:IgG2的比例是大于1:1、大于2:1、大于3:1或大于4:1。在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒是通过IgG3抗体的优势来指示的。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0147] 在某些实施方式中,表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在其他实施方式中,表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发调节性T细胞反应。在更具体的实施方式中,所述调节性T细胞反应维持免疫耐受性。在另一个实施方式中,表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞反应两者。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0148] 在某些实施方式中,本文描述的表达一种或更多种HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发高滴度的中和抗体。在另一个实施方式中,与单独地表达蛋白质复合成分相比,本文描述的表达两种或更多种HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒引发更高滴度的中和抗体。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0149] 在其他实施方式中,表达HBV抗原的两种或更多种传染性沙粒病毒引发高滴度的

中和抗体。在更具体的实施方式中,与表达一种HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒相比,表达HBV抗原的两种或更多种传染性沙粒病毒引发更高滴度的中和抗体。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0150] 在另一个实施方式中,与表达一种HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒相比,表达两种、三种、四种、五种或更多种HBV抗原的传染性沙粒病毒引发更高滴度的中和抗体。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0151] 6.1表达HBV抗原的沙粒病毒载体

[0152] 用于本文提供的方法和组合物的沙粒病毒可以是旧世界病毒,例如,Lassa病毒、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)、Mobala病毒、Mopeia病毒或Ippy病毒,或是新世界病毒,例如Amapari病毒、Flexal病毒、Guanarito病毒、胡宁病毒、Latino病毒、Machupo病毒、Oliveros病毒、Parana病毒、Pichinde病毒、Pirital病毒、Sabia病毒、Tacaribe病毒、Tamiami病毒、Bear Canyon病毒或Whitewater Arroyo病毒。遗传修饰的沙粒病毒可以如章节6.3中描述的产生。

[0153] 野生型沙粒病毒的基因组由短RNA片段(~3.4kb)和大RNA片段(~7.2kb)组成。短片段带有编码核蛋白NP和糖蛋白GP基因的ORF。大片段包含RNA依赖性RNA聚合酶L和基质蛋白Z基因。

[0154] (a)复制缺陷性沙粒病毒载体

[0155] 在某些实施方式中,所述沙粒病毒载体是复制缺陷性、双片段化的沙粒病毒载体。在某些实施方式中,所述沙粒病毒载体是复制缺陷性、三片段化的沙粒病毒载体。通过将糖蛋白基因取代为要诱导免疫反应的一种或更多种HBV抗原,野生型沙粒病毒可以变为复制缺陷性以产生疫苗载体。

[0156] 如本文描述的表达HBV抗原、或HBV抗原的组合的传染性沙粒病毒可以用于针对HBV感染来免疫(以预防方式)或治疗(以免疫治疗方式)对象。在具体的实施方式中,使用HBs和HBc的组合。

[0157] 已知野生型沙粒病毒感染中沙粒病毒疾病和免疫抑制是由未检查的病毒复制引起。通过从它们的基因组中删除例如颗粒释放所需的Z基因、或感染靶细胞所需的GP基因,通过消除沙粒病毒载体的复制,即,产生传染性子代病毒颗粒的能力,感染的细胞的总数可以受限于接种物,所述接种物是被施用给例如疫苗接受者,或意外地传播给医学或生物技术应用中涉及的人员、或动物。因而,取消沙粒病毒载体的复制防止了作为载体颗粒的有意或无意传播的结果的发病。本文提供的一个重要的方面在于,按照对于表达HBV抗原有益的方式利用了上述取消复制的必需性。在某些实施方式中,通过基因组的遗传修饰使得沙粒病毒颗粒成为复制缺陷性的。对基因组的这种修饰可以包括:

[0158] 删除ORF(例如,编码GP、NP、L或Z蛋白的ORF);

[0159] ORF的功能性灭活(例如,编码GP、NP、L或Z蛋白的ORF)。

[0160] 例如,这可以通过引入错义或无义突变实现;

[0161] 改变ORF的序列(例如,SIP裂解位点交换为另一种蛋白酶的裂解位点);

[0162] 诱变一个基因组片段的5'或3'末端之一;



[0163] 诱变基因间区域(即,L或S基因组片段的基因间区域)来实现。

[0164] 在某些实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒是淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV),其中所述病毒的S片段通过用编码HBV抗原的ORF取代编码GP蛋白的ORF进行修饰。

[0165] 在某些实施方式中,野生型沙粒病毒载体基因组(附图1)可以被设计以保持两个片段的5'和3'非翻译区(UTRs)上至少必需的调节元件,和/或还有基因间区域(IGRs)。不受理论的限制,用于在感染的细胞中基因表达的最小反式作用因子作为可被表达的ORF保留在载体基因组中,但它们可以被不同地放置在基因组中,可以被置于与天然启动子不同的启动子的控制下,或可以从内部核糖体进入位点上表达。在某些实施方式中,编码HBV抗原的核酸从内源沙粒病毒启动子之一转录(即,S片段的5'UTR、3'UTR,L片段的5'UTR、3'UTR)。在其他实施方式中,编码HBV抗原的核酸从异源导入的启动子序列表达,所述序列可以分别被病毒RNA依赖性RNA聚合酶、细胞的RNA聚合酶I、RNA聚合酶II或RNA聚合酶III读取,例如,在病毒URT中天然存在的病毒启动子序列的副本、28S核糖体RNA启动子、 $\beta$ -肌动蛋白启动子或5S核糖体RNA启动子。在某些实施方式中,编码HBV抗原的核糖核酸自身被转录和翻译,或通过与沙粒病毒蛋白ORF融合作为读通被转录和翻译,宿主细胞中的蛋白质表达可以通过在病毒转录产物序列中的合适的位置引入一个或更多个,例如,两个、三个或四个内部核糖体进入位点来增强。

[0166] 在某些实施方式中,为了用于所述组合物和方法,本文提供的是三片段化沙粒病毒颗粒,其包含一个L片段和两个S片段,其中(i)ORF被置于与该ORF的野生型位置不同的位置;和(ii)编码GP或NP的ORF已被移除或功能性灭活,从而产生的病毒不能产生进一步的传染性子代病毒颗粒。在具体的实施方式中,一个ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF(例如,编码HBV抗原的)替换。在另一个具体的实施方式中,两个ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF替换。在其他的具体实施方式中,三个ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF(例如,编码HBV抗原的)替换。在具体的实施方式中,编码GP的ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF(例如,编码HBV抗原的)替换。在其他的具体实施方式中,编码NP的ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF(例如,编码HBV抗原的)替换。在又更具体的实施方式中,编码NP的ORF和编码GP的ORF被移除并用来自沙粒病毒颗粒之外的生物体的一个或两个异源ORF(例如,编码一个或两个HBV抗原的)替换。因而,在某些实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒包含(i)一个L片段和两个S片段;(ii)在ORF的野生型位置之外的位置上的ORF;(iii)来自沙粒病毒之外的生物体的一个或更多个异源ORF(例如,编码一个或更多个HBV抗原的)。

[0167] 在某些实施方式中,为了用于所述组合物和方法,本文提供的是三片段化沙粒病毒颗粒,其包含两个L片段和一个S片段,其中(i)ORF被置于与该ORF的野生型位置不同的位置;和(ii)编码Z蛋白和/或L蛋白的ORF已被移除或功能性灭活,从而产生的病毒不能产生进一步的传染性子代病毒颗粒。在具体的实施方式中,一个ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF(例如,编码HBV抗原的)替换。在另一个具体的实施方式中,两个ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF(例如,编码HBV抗原的)替换。在具体的实施方式中,编码Z蛋白的ORF被移除并用来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF(例如,编码HBV抗原的)替换。在其他的具体实施方式中,编码L蛋白的ORF被移除并用来自沙粒病毒

以外的生物体的异源ORF (例如, 编码HBV抗原的) 替换。在又更具体的实施方式中, 编码Z蛋白的ORF和编码L蛋白的ORF被移除并用来自沙粒病毒颗粒之外的生物体的异源ORF (例如, 编码HBV抗原的) 替换。因而, 在某些实施方式中, 所述三片段化沙粒病毒颗粒包含 (i) 两个L片段和一个S片段; (ii) 在ORF的野生型位置之外的位置上的ORF; (iii) 来自沙粒病毒之外的生物体的异源ORF (例如, 编码HBV抗原的)。

[0168] 因而, 在某些实施方式中, 用于本文提供的组合物和方法的所述三片段化沙粒病毒颗粒包含三片段化沙粒病毒颗粒 (即, 一个L片段和两个S片段, 或两个L片段和一个S片段), 其i) 被工程化以携带处于非天然位置的ORF; ii) 编码GP、NP、Z蛋白或L蛋白的ORF被移除; iii) 被移除的ORF被来自沙粒病毒以外的生物体的异源ORF (例如, 编码一个或更多个HBV抗原的) 替换。

[0169] 在某些实施方式中, 被产生以编码一个或更多个HBV抗原的载体可以基于LCMV的特定毒株。LCMV的毒株包括克隆13、MP毒株、Arm CA 1371、Arm E-250、WE、UBC、Traub、Pasteur、810885、CH-5692、Marseille#12、HP65-2009、200501927、810362、811316、810316、810366、20112714、Douglas、GR01、SN05、CABN和它们的衍生物。在某些实施方式中, 被产生以编码一个或更多个HBV抗原的载体可以基于LCMV克隆13。在其他实施方式中, 被产生以编码一个或更多个HBV抗原的载体可以基于LCMV MP毒株。LCMV克隆13的S片段的序列如SEQ ID NO:12所列。在某些实施方式中, LCMV克隆13的S片段的序列是SEQ ID NO:11中列出的序列。LCMV克隆13的L片段的序列如SEQ ID NO:7所列。LCMV毒株MP的S片段的序列如SEQ ID NO:14所列。LCMV毒株MP的L片段的序列如SEQ ID NO:13所列。

[0170] 在某些实施方式中, 被产生以编码一个或更多个HBV抗原的载体可以基于胡宁病毒的特定毒株。胡宁病毒的毒株包括疫苗毒株XJ13、XJ#44和Candid#1, 以及一种人分离物IV4454。在某些实施方式中, 被产生以编码一个或更多个HBV抗原的载体可以基于胡宁病毒的Candid#1毒株。

[0171] 在某些实施方式中, 本文描述的是传染性、复制缺陷性沙粒病毒颗粒, 其包含选自SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或其组合的核苷酸序列或其片段。

[0172] 在某些实施方式中, 本文描述的是传染性、复制缺陷性沙粒病毒颗粒, 其包含选自以下的核苷酸序列或核苷酸序列的组合:

- [0173] • 编码乙型肝炎病毒pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- [0174] • 编码乙型肝炎病毒HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- [0175] • 编码乙型肝炎病毒HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;
- [0176] • 编码乙型肝炎病毒HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;
- [0177] • 编码乙型肝炎病毒HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0178] 在某些实施方式中, 所述传染性、复制缺陷性沙粒病毒的病毒载体是三片段化的。

[0179] (b) 复制感受态三片段化沙粒病毒载体

[0180] 在某些实施方式中, 用于本文提供的组合物和方法的是复制感受态的三片段化沙粒病毒载体。在某些实施方式中, 所述沙粒病毒载体是三片段化沙粒病毒颗粒, 其包含一个L片段和两个S片段、或两个L片段和一个S片段, 它们不再重组成为复制感受态的双片段化沙粒病毒颗粒。

[0181] 在某些实施方式中, 用于本文描述的组合物和方法的表达HBV抗原的传染性沙粒

病毒被工程化以携带处在ORF的野生型位置之外的位置的病毒ORF。在某些实施方式中,所述沙粒病毒基因组片段选自以下:(i) S片段,其中编码NP的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;(ii) S片段,其中编码Z蛋白的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;(iii) S片段,其中编码L蛋白的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;(iv) S片段,其中编码GP的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;(v) S片段,其中编码L蛋白的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;(vi) S片段,其中编码Z蛋白的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;(vii) L片段,其中编码GP的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;(viii) L片段,其中编码NP的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;(ix) L片段,其中编码L蛋白的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;(x) L片段,其中编码GP的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;(xi) L片段,其中编码NP的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;和(xii) L片段,其中编码Z蛋白的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下。

[0182] 在某些实施方式中,所述沙粒病毒3' UTR是沙粒病毒S片段或沙粒病毒L片段的3' UTR。在某些实施方式中,所述沙粒病毒5' UTR是沙粒病毒S片段或沙粒病毒L片段的5' UTR。

[0183] 用于本文提供的组合物和方法的是带有其ORFs的重排的三片段化沙粒病毒颗粒。在一个方面,用于本文提供的组合物和方法的是包含一个L片段和两个S片段、或两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒。在某些实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒不重组成复制感受态的双片段化沙粒病毒颗粒。在具体的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒包含在ORF的野生型位置之外的位置上的ORF。在又一个具体的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒包含所有四种沙粒病毒ORF。因而,在某些实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒是复制感受态的和传染性的。附图2显示了复制感受态三片段化LCMV载体的基因组架构的示范性示意图(附图2B-C)。附图2C显示了不能重组成复制感受态双片段化沙粒病毒颗粒的复制感受态三片段化LCMV载体的基因组架构的示范性示意图。相比之下,附图2A显示了野生型双片段化LCMV载体。

[0184] 在某些实施方式中,编码本文描述的三片段化沙粒病毒颗粒的GP、NP、Z蛋白或L蛋白的ORF可以处在沙粒病毒3' UTR或沙粒病毒5' UTR的控制下。在更具体的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒3' UTR是沙粒病毒S片段的3' UTR。在另一个具体的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒3' UTR是沙粒病毒L片段的3' UTR。在更具体的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒5' UTR是沙粒病毒S片段的5' UTR。在其他具体实施方式中,所述5' UTR是沙粒病毒L片段的5' UTR。

[0185] 在其他实施方式中,编码本文描述的三片段化沙粒病毒颗粒的GP、NP、Z蛋白或L蛋白的ORF可以处于沙粒病毒的保守末端序列元件(5' -末端和3' -末端19-20-nt区域)的控制下(参见,例如Perez&de la Torre,2003,J Virol.77(2):1184-1194)。

[0186] 在某些实施方式中,编码所述三片段化沙粒病毒颗粒的GP、NP、Z蛋白或L蛋白的ORF可以处于5' UTR的启动子元件的控制下(参见,例如,Albarino et al,2011,J Virol,85(8):4020-4)。在另一个实施方式中,编码所述三片段化沙粒病毒颗粒的GP、NP、Z蛋白、L蛋白的ORF可以处于3' UTR的启动子元件的控制下(参见,例如,Albarino et al,2011,J Virol.,85(8):4020-4)。在更具体的实施方式中,所述5' UTR的启动子元件是S片段或L片段的5' UTR的启动子元件。在另一个具体的实施方式中,所述3' UTR的启动子元件是S片段或L片段的3' UTR的启动子元件。

[0187] 在某些实施方式中,编码所述三片段化沙粒病毒颗粒的GP、NP、Z蛋白或L蛋白的

ORF可以处于截短的沙粒病毒3' UTR或截短的沙粒病毒5' UTR的控制下(参见,例如Perez&de la Torre,2003,J Virol.77(2):1184-1194;Albarino et al,2011,J Virol,85(8):4020-4)。在更具体的实施方式中,所述截短的3' UTR是沙粒病毒S片段或L片段的3' UTR。在更具体的实施方式中,所述截短的5' UTR是沙粒病毒S片段或L片段的5' UTR。

[0188] 在一个方面,用于本文提供的组合物和方法的是包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒。在某些实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的增殖不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒。在具体的实施方式中,在缺少I型干扰素受体、II型干扰素受体和重组活化基因(RAG1)、用 $10^4$ PFU的所述三片段化沙粒病毒颗粒感染的小鼠中,在至少10天、至少20天、至少30天、至少40天、至少50天、至少60天、至少70天、至少80天、至少90天、或至少100天的持续感染之后,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的增殖不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒。在其他实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的增殖在至少10次传代、至少20次传代、至少30次传代、至少40次传代或至少50次传代之后不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒。

[0189] 所有病毒处于它们相应的野生型位置的三片段化沙粒病毒颗粒是本领域已知的(例如,Emonet et al,2011 J.Virol,85(4):1473;Popkin et al,2011,J.Virol,85(15):7928)。特别地,所述三片段化沙粒病毒基因组由一个L片段和两个S片段组成,其中异源ORF(例如,GFP)被插入到每个S片段上的一个位置中。更具体地,一个S片段分别编码GP和GFP。另一个S片段分别编码GFP和NP。L片段编码L蛋白和Z蛋白。所有片段的侧翼都是各自的5' 和3' UTR。

[0190] 在某些实施方式中,用于本文提供的组合物和方法的所述三片段化沙粒病毒颗粒的两个S片段的片段内重组,在一个而不是两个独立的片段上将两个沙粒病毒ORF联合,产生非功能性启动子(即,结构:5' UTR-----5' UTR或3' UTR-----3' UTR的基因组片段),其中形成基因组的一个末端的每个UTR是同一基因组的另一个末端的逆转的重复序列。

[0191] 在某些实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒被工程化以在ORF的野生型位置之外的位置上携带沙粒病毒ORF。在其他实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒被工程化以在野生型位置之外的位置上携带两个沙粒病毒ORF、或三个沙粒病毒ORF、或四个沙粒病毒ORF、或五个沙粒病毒ORF、或六个沙粒病毒ORF。在具体的实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒包含所有四种沙粒病毒ORF的全体。因而,在某些实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒是传染性的和复制感受态的三片段化沙粒病毒颗粒。在具体的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒的两个S片段被工程化以在野生型位置之外的位置携带它们的ORF之一。在更具体的实施方式中,所述两个S片段包含S片段ORF的全体。在某些具体的实施方式中,所述L片段已被工程化以在野生型位置以外的位置携带ORF,或所述L片段可以是野生型基因组片段。

[0192] 在某些实施方式中,两个S片段之一可以是:

[0193] (i) 沙粒病毒S片段,其中编码Z蛋白的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;

[0194] (ii) 沙粒病毒S片段,其中编码L蛋白的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;

- [0195] (iii) 沙粒病毒S片段,其中编码NP的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;
- [0196] (iv) 沙粒病毒S片段,其中编码GP的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;
- [0197] (v) 沙粒病毒S片段,其中编码L的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;和
- [0198] (vi) 沙粒病毒S片段,其中编码Z蛋白的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下。
- [0199] 在某些实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒可以包含双份的ORF (即,两个野生型S片段ORF,例如,GP或NP)。在具体的实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒可以包含一个双份的ORF (例如, (GP, GP)) 或两个双份的ORF (例如, (GP, GP) 与 (NP, NP))。
- [0200] 下文的表1A是包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的基因组架构的示范性举例,其中所述三片段化沙粒病毒基因组中的两个S片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒,并且取消沙粒病毒启动子活性 (即,产生的重组的S片段由两个3' UTR组成,而不是由3' UTR和5' UTR组成)。
- [0201] 表1A
- [0202] 包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒,位置1处在沙粒病毒S片段5' UTR的控制下;位置2处在沙粒病毒S片段3' UTR的控制下;位置3处在沙粒病毒S片段5' UTR的控制下;位置4处在沙粒病毒S片段3' UTR的控制下;位置5处在沙粒病毒L片段5' UTR的控制下;位置6处在沙粒病毒L片段3' UTR的控制下。
- [0203] \*ORF表示异源ORF,例如,编码HBV抗原的异源ORF已被插入。

[0204]

位置 1	位置 2	位置 3	位置 4	位置 5	位置 6
*ORF	GP	*ORF	NP	Z	L
*ORF	NP	*ORF	GP	Z	L
*ORF	NP	*ORF	GP	L	Z

[0205]

*ORF	NP	*ORF	Z	L	GP
*ORF	NP	Z	GP	*ORF	Z
*ORF	NP	Z	GP	Z	*ORF
*ORF	NP	*ORF	L	Z	GP
*ORF	L	*ORF	NP	Z	GP
*ORF	L	Z	NP	*ORF	GP
*ORF	L	*ORF	GP	Z	NP
*ORF	L	Z	GP	*ORF	NP
*ORF	Z	L	NP	*ORF	GP
*ORF	Z	*ORF	GP	L	NP
*ORF	Z	L	GP	*ORF	NP
L	GP	*ORF	NP	*ORF	Z
L	GP	*ORF	*ORF	Z	NP
L	GP	*ORF	Z	*ORF	NP
L	*ORF	Z	GP	*ORF	NP
L	GP	*ORF	NP	*ORF	Z
L	GP	*ORF	Z	*ORF	NP
L	GP	Z	NP	*ORF	*ORF
L	GP	Z	NP	*ORF	*ORF

[0206]

位置1	位置2	位置3	位置4	位置5	位置6
L	*ORF	Z	NP	*ORF	GP
L	NP	*ORF	Z	*ORF	GP
L	NP	Z	*ORF	GP	*ORF
L	*ORF	Z	*ORF	GP	NP
L	NP	Z	GP	*ORF	*ORF
L	NP	*ORF	Z	*ORF	GP
L	*ORF	Z	NP	*ORF	GP
L	Z	*ORF	GP	*ORF	NP
L	Z	*ORF	NP	*ORF	GP
Z	GP	*ORF	NP	*ORF	L
Z	GP	*ORF	*ORF	L	NP
Z	GP	*ORF	L	*ORF	NP
Z	*ORF	L	GP	*ORF	NP
Z	GP	*ORF	NP	*ORF	L
Z	GP	*ORF	L	*ORF	NP
Z	GP	L	NP	*ORF	*ORF
Z	GP	L	NP	*ORF	*ORF
Z	*ORF	L	NP	*ORF	GP
Z	NP	*ORF	*ORF	L	GP

z	NP	*ORF	GP	*ORF	L
z	NP	*ORF	*ORF	L	GP
z	NP	*ORF	L	*ORF	GP
z	NP	L	GP	*ORF	*ORF
z	*ORF	L	GP	*ORF	NP
z	NP	*ORF	GP	*ORF	L
z	NP	*ORF	L	*ORF	GP
z	*ORF	L	NP	*ORF	GP
z	L	*ORF	GP	*ORF	NP

[0207] 在某些实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR。在具体的实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒S片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR。在某些实施方式中,其他组合也是可能的。例如,包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒,其中三片段化沙粒病毒基因组中两个S片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒,并且取消沙粒病毒启动子活性(即,产生的重组S片段由两个5' UTR组成,而不是由3' UTR和5' UTR组成)。

[0208] 在某些实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒中S片段和L片段的片段间重组,恢复了功能性的片段,其具有处在仅一个片段上、而不是两个独立的片段上的两个病毒基因。在其他实施方式中,所述包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒中S片段和L片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒。

[0209] 下文的表1B是包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的基因组架构的示例,其中三片段化沙粒病毒基因组中S片段和L片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒,并且取消沙粒病毒启动子活性(即,产生的重组S片段由两个3' UTR组成,而不是由3' UTR和5' UTR组成)。

[0210] 表1B,包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒

[0211] 颗粒

[0212] 位置1处在沙粒病毒S片段5' UTR的控制下;位置2处在沙粒病毒S片段3' UTR的控制下;位置3处在沙粒病毒S片段5' UTR的控制下;位置4处在沙粒病毒S片段3' UTR的控制下;位置5处在沙粒病毒L片段5' UTR的控制下;位置6处在沙粒病毒L片段3' UTR的控制下。。

[0213] \*ORF表示异源ORF,例如,编码HBV抗原的异源ORF已被插入。

[0214]	位置1	位置2	位置3	位置4	位置5	位置6
	L	GP	*ORF	NP	Z	*ORF
	L	GP	Z	*ORF	*ORF	NP
	L	GP	*ORF	NP	Z	*ORF
[0215]	位置1	位置2	位置3	位置4	位置5	位置6
	L	GP	Z	*ORF	*ORF	NP
	L	NP	*ORF	GP	Z	*ORF

L	NP	Z	*ORF	*ORF	GP
L	NP	*ORF	GP	Z	*ORF
L	NP	Z	*ORF	*ORF	GP
Z	GP	*ORF	NP	L	*ORF
Z	GP	L	*ORF	*ORF	NP
Z	GP	*ORF	NP	L	*ORF
Z	NP	L	*ORF	*ORF	GP
Z	NP	*ORF	GP	L	*ORF
Z	NP	L	*ORF	*ORF	GP

[0216] 在某些实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR。在具体的实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒S片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR。在某些实施方式中,其他组合也是可能的。例如,包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒,其中三片段化沙粒病毒基因组中两个S片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒,并且取消沙粒病毒启动子活性(即,产生的重组S片段由两个5' UTR组成,而不是由3' UTR和5' UTR组成)。

[0217] 在一个方面,用于本文提供的组合物和方法的是包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒。在某些实施方式中,所述包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的增殖不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒在具体的实施方式中,在缺少I型干扰素受体、II型干扰素受体和重组活化基因(RAG1)、用 $10^4$  PFU的所述三片段化沙粒病毒颗粒感染的小鼠中,在至少10天、至少20天、至少30天、至少40天、至少50天、至少60天、至少70天、至少80天、至少90天、或至少100天的持续感染之后,所述包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的增殖不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒。在其他实施方式中,所述包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的增殖在至少10次传代、至少20次传代、至少30次传代、至少40次传代或至少50次传代之后不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒。

[0218] 在某些实施方式中,用于本文提供的组合物和方法的所述三片段化沙粒病毒颗粒的两个L片段的片段内重组,在一个而不是两个独立的片段上将两个沙粒病毒ORF联合,产生非功能性启动子(即,结构:5' UTR-----5' UTR或3' UTR-----3' UTR的基因组片段),其中形成基因组的一个末端的每个UTR是同一基因组的另一个末端的逆转的重复序列启动子。

[0219] 在某些实施方式中,所述包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒被工程化以在ORF的野生型位置之外的位置上携带沙粒病毒ORF。在其他实施方式中,所述包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒被工程化以在野生型位置之外的位置上携带一个沙粒病毒ORF、或三个沙粒病毒ORF、或四个沙粒病毒ORF、或五个沙粒病毒ORF、或六个沙粒病毒ORF。在具体的实施方式中,所述包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒包含所有四种沙粒病毒ORF的全体。因而,在某些实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒是传染性的和复制感受态的三片段化沙粒病毒颗粒。在具体的实施方式中,所



述三片段化沙粒病毒颗粒的两个L片段被工程化以在野生型位置之外的位置携带它们的ORF之一。在更具体的实施方式中,所述两个L片段包含L片段ORF的全体。在某些具体的实施方式中,所述S片段被工程化以在野生型位置之外的位置携带它们的ORF之一,或所述S片段可以是野生型基因组片段。在某些实施方式中,两个L片段之一可以是:

[0220] (i) L片段,其中编码GP的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;

[0221] (ii) L片段,其中编码NP的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;

[0222] (iii) L片段,其中编码L蛋白的ORF处在沙粒病毒5' UTR的控制下;

[0223] (iv) L片段,其中编码GP的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;

[0224] (v) L片段,其中编码NP的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;和

[0225] (vi) L片段,其中编码Z蛋白的ORF处在沙粒病毒3' UTR的控制下;

[0226] 在某些实施方式中,所述包含一个L片段和两个L片段的三片段化沙粒病毒颗粒可以包含双份的ORF(即,两个野生型L片段ORF,例如,Z蛋白或L蛋白)。在具体的实施方式中,所述包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒可以包含一个双份的ORF(例如,(Z蛋白,Z蛋白))或两个双份的ORF(例如,(Z蛋白,Z蛋白)和(L蛋白,L蛋白))。

[0227] 下文的表2A是包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的基因组架构的示范性举例,其中所述三片段化沙粒病毒基因组中两个L片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒,并且取消沙粒病毒启动子活性(即,产生的重组的S片段由两个3' UTR构成,而不是由3' UTR和5' UTR构成)。根据表3,可以预测相似的组合用于产生由两个5' UTR组成而不是由3' UTR和5' UTR组成的沙粒病毒颗粒。

[0228] 表2A,包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒

[0229] 颗粒

[0230] \*位置1处在沙粒病毒L片段5' UTR的控制下;位置2处在沙粒病毒L片段3' UTR的控制下;位置3处在沙粒病毒L片段5' UTR的控制下;位置4处在沙粒病毒L片段3' UTR的控制下;位置5处在沙粒病毒S片段5' UTR的控制下;位置6处在沙粒病毒S片段3' UTR的控制下。

[0231] \*ORF表示异源ORF,例如,编码HBV抗原的异源ORF已被插入。

[0232]

位置 1	位置 2	位置 3	位置 4	位置 5	位置 6
*ORF	Z	*ORF	L	NP	GP
*ORF	Z	*ORF	L	GP	NP
*ORF	Z	GP	L	*ORF	NP
*ORF	z	*ORF	GP	NP	L
*ORF	z	GP	*ORF	NP	L
*ORF	z	NP	*ORF	GP	L
*ORF	*ORF	NP	Z	GP	L
*ORF	Z	GP	NP	*ORF	L
*ORF	Z	NP	GP	*ORF	L
*ORF	L	*ORF	Z	NP	GP
*ORF	L	*ORF	Z	GP	NP
*ORF	L	*ORF	GP	NP	Z
*ORF	L	GP	Z	*ORF	NP
*ORF	L	*ORF	GP	NP	Z
*ORF	L	NP	Z	*ORF	GP
*ORF	L	GP	NP	*ORF	Z
*ORF	L	NP	GP	*ORF	Z
*ORF	GP	*ORF	L	NP	Z
*ORF	GP	NP	L	*ORF	Z
*ORF	GP	*ORF	Z	NP	L
*ORF	GP	NP	Z	*ORF	L

[0233]

*ORF	NP	*ORF	L	GP	Z
*ORF	NP	GP	L	*ORF	Z
*ORF	NP	GP	Z	*ORF	L
*ORF	NP	*ORF	Z	GP	L
*ORF	L	*ORF	z	NP	GP
*ORF	L	*ORF	z	GP	NP
*ORF	L	*ORF	NP	GP	Z
*ORF	L	*ORF	GP	NP	Z
*ORF	L	NP	Z	*ORF	GP
*ORF	Z	*ORF	GP	NP	L
*ORF	Z	GP	L	*ORF	NP
*ORF	Z	NP	GP	*ORF	L
*ORF	Z	GP	NP	*ORF	L
*ORF	GP	*ORF	L	NP	Z
*ORF	GP	*ORF	L	Z	NP
*ORF	GP	*ORF	Z	GP	L
*ORF	GP	NP	L	*ORF	Z
GP	L	*ORF	Z	*ORF	NP
GP	L	*ORF	NP	*ORF	Z
GP	Z	*ORF	L	*ORF	NP
GP	Z	*ORF	L	*ORF	NP
GP	Z	*ORF	NP	*ORF	L
GP	NP	*ORF	Z	*ORF	L
NP	L	*ORF	Z	*ORF	GP
NP	L	*ORF	GP	*ORF	Z
NP	L	*ORF	Z	*ORF	GP

[0234] 在某些实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR。在具体的实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒S片段IGR。在某些实施方式中,其他组合也是可能的。

[0235] 在某些实施方式中,包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的L片段和S片段的片段间重组恢复功能性片段,其具有处在仅一个片段上而不是两个独立片段上的两个病毒基因。在其他实施方式中,包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒中L片段和S片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒。

[0236] 下文的表2B是包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒的基因组架构的示例,其中三片段化沙粒病毒基因组中L片段和S片段的片段间重组不产生复制感受态的双片段化病毒颗粒,并且取消沙粒病毒启动子活性(即,产生的重组S片段将由两个3' UTR组成,而不是由3' UTR和5' UTR组成)。

[0237] 表2B

[0238] 包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒

[0239] \*位置1处在沙粒病毒L片段5' UTR的控制下;位置2处在沙粒病毒L片段3' UTR的控制下;位置3处在沙粒病毒L片段5' UTR的控制下;位置4处在沙粒病毒L片段3' UTR的控制下;位置5处在沙粒病毒S片段5' UTR的控制下;位置6处在沙粒病毒S片段3' UTR的控制下。

[0240] \*ORF表示异源ORF,例如,编码HBV抗原的异源ORF已被插入。

[0241]

位置1	位置	位置3	位置4	位置5	位置6
NP	Z	*ORF	GP	L	*ORF
NP	Z	GP	*ORF	*ORF	L
NP	Z	*ORF	GP	L	*ORF
NP	Z	GP	*ORF	*ORF	L
NP	L	*ORF	GP	Z	*ORF
NP	L	GP	*ORF	*ORF	Z
NP	L	*ORF	GP	Z	*ORF
NP	L	GP	*ORF	*ORF	Z
GP	Z	*ORF	NP	L	*ORF
GP	Z	NP	*ORF	*ORF	L
GP	Z	*ORF	NP	L	*ORF
GP	L	NP	*ORF	*ORF	Z
GP	L	*ORF	NP	Z	*ORF
GP	L	NP	*ORF	*ORF	Z

[0242] 在某些实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒S片段或L片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR。在具体的实施方式中,位置一和位置二之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR;位置二和位置三之间的IGR可以是沙粒病毒L片段IGR;位置五和位置六之间的IGR可以是沙粒病毒S片段IGR。在某些实施方式中,其他组合也是可能的。

[0243] 在某些实施方式中,本文描述的三片段化沙粒病毒颗粒产生传染性的和复制感受态的沙粒病毒颗粒。在具体的实施方式中,本文描述沙粒病毒颗粒是减毒的。在特定的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒被减毒,从而所述病毒保持了,至少部分地保持了复制感受态,并且可以在体内复制,但仅产生低的病毒负载,产生非致病的亚临床水平的感染。这种减毒病毒可以用作免疫原性组合物。在其他实施方式中,所述沙粒病毒颗粒是传染性的,但是不能在非补体细胞中产生进一步的传染性子代。

[0244] 在某些实施方式中,所述沙粒病毒基因组片段以及相应的沙粒病毒颗粒或三片段化沙粒病毒颗粒可以包含异源ORF。在其他实施方式中,所述沙粒病毒基因组片段和相应的沙粒病毒颗粒或三片段化沙粒病毒颗粒可以包含感兴趣的基因。在更具体的实施方式中,所述异源ORF或感兴趣的基因编码抗原。在更具体的实施方式中,所述异源ORF或目的基因编码HBV抗原或其抗原性片段(参见章节6.2)。

[0245] 在某些实施方式中,所述沙粒病毒基因组片段、所述沙粒病毒颗粒或所述三片段化沙粒病毒颗粒可以包含一个或更多个异源ORF或一个或更多个目的基因。在其他实施方式

式中,所述沙粒病毒基因组片段、所述沙粒病毒颗粒或所述三片段化沙粒病毒颗粒可以包含至少一个异源ORF、至少两个异源ORF、至少三个异源ORF、或更多个异源ORF。在其他实施方式中,所述沙粒病毒颗粒或所述三片段化沙粒病毒颗粒包含至少一个目的基因、至少两个目的基因、至少三个目的基因、或更多个目的基因。在更具体的实施方式中,一种或更多种异源ORF或目的基因编码一种或更多种HBV抗原或其抗原性片段(参见章节6.2)。

[0246] 在某些实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒是包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒。在某些实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒是包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒颗粒。

[0247] 6.2HBV抗原

[0248] 在某些实施方式中,用于本文描述的方法和组合物的抗原是HBV抗原。

[0249] 在某些实施方式中,所描述的两种或更多种HBV抗原的ORFs作为单个转录产物被转录。

[0250] 在某些实施方式中,人类HBV的任何基因型或亚基因型或人类HBV的任何临床分离物可以用于本发明以获得用于产生本发明描述的沙粒病毒载体的抗原。这样的HBV基因型和亚基因型包括基因型A-J和亚基因型A1-A6、B1-B4、C1-C6、D1-D7和F1-F4。

[0251] 在某些实施方式中,所述HBV抗原可以是HBV抗原直系同源物,例如,哺乳动物(即,非人灵长类、猪、狗、猫或马)HBV抗原。

[0252] (a) pre-S2/S蛋白抗原

[0253] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV pre-S2/S蛋白或其片段。在某些实施方式中,所述抗原是HBV pre-S2/S蛋白的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、150或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,所述抗原是HBV pre-S2/S蛋白的抗原性片段。在某些实施方式中,所述抗原由80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:1的核酸序列编码。在某些实施方式中,所述抗原包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0254] (b) HBc蛋白抗原

[0255] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBc蛋白或其片段。在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBc蛋白的至少10、15、20、25、50、75、100、125、150或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,所述抗原是HBc的抗原性片段。在某些实施方式中,所述抗原由80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:2的核酸序列编码。在某些实施方式中,所述抗原包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0256] (c) HBs蛋白抗原

[0257] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBs蛋白或其片段。在某些实施方式中,所述抗原包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:1的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述抗原是HBs的抗原性片段。

[0258] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBs小多肽(例如,“S”)或其片段。在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBs中多肽(例如,“pre-S2/S”)或其片段。在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBs大多肽(例如,“pre-S1/pre-S2/S”)或其片段。在某些实施方式中,所述抗原是在HBV HBs小多肽的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、150或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,所述抗原是在HBV HBs中多肽的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、150或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,所述抗原是在HBV HBs大多肽的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350或更多个氨基酸的片段。

[0259] (d) HBs和HBc融合蛋白

[0260] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合蛋白。在某些实施方式中,所述抗原是HBs和HBc的融合蛋白的至少10、15、20、25、50、75、100、125、150、175、200、225或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,所述抗原由80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:3的核酸序列编码。在某些实施方式中,所述抗原包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:3的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0261] (e) HBe蛋白抗原

[0262] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBe蛋白或其片段。在某些实施方式中,所述抗原是在HBV HBe蛋白的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、150或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,所述抗原是在HBe的抗原性片段。在某些实施方式中,所述抗原由80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:26的核酸序列编码。在某些实施方式中,所述抗原包含80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:26的核苷酸序列编码的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0263] (f) 聚合酶蛋白抗原

[0264] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV聚合酶蛋白或其抗原性片段。在某些实施方式中,所述抗原是在HBV聚合酶蛋白的至少10、15、20、25、50、75、100、125、150、175、200、225、250、300、400、500、600、700或更多个氨基酸的片段。

[0265] 编码HBV抗原的核酸序列可以通过取代糖蛋白GP、基质蛋白Z、核蛋白NP或聚合酶蛋白L的ORF的核酸序列导入传染性沙粒病毒的基因组。在其他实施方式中,编码HBV抗原的核酸序列与糖蛋白GP、基质蛋白Z、核蛋白NP或聚合酶蛋白L的ORF融合。编码HBV抗原的核苷酸序列,一旦被插入传染性沙粒病毒的基因组中,可以在四个沙粒病毒启动子(S片段的5' UTR和3' UTR,L片段的5' UTR和3' UTR)、以及可与调节元件一起被插入的核糖核酸之一的控制下被转录和/或表达,所述调节元件可以被病毒RNA依赖性RNA聚合酶、细胞RNA聚合酶I、RNA聚合酶II或RNA聚合酶III读取,例如,病毒UTRs中天然存在的病毒启动子序列的副本、28S核糖体RNA启动子、 $\beta$ -肌动蛋白启动子或5S核糖体RNA启动子。编码HBV抗原的核酸可以自身被转录和/或表达,或通过与沙粒病毒ORF和基因分别融合、和/或与一个或更多个,例

如两个、三个、四个内部核糖体进入位点组合地按照读通方式被转录和/或表达。

[0266] 在一个实施方式中,所述抗原是对于预防和/或治疗传染性疾病有用的抗原。在具体的实施方式中,所述抗原来源于HBV。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码HBV pre-S2/S蛋白的核酸序列取代。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码HBV HBc蛋白的核酸序列取代。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码HBV HBs蛋白的核酸序列取代。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核酸序列取代。

[0267] (g) 编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF的取代

[0268] 在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被本文描述的编码一个、两个或更多个HBV抗原的核酸序列取代。

[0269] 在一个实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码HBV抗原的核酸序列取代。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码抗原的核酸序列取代,所述抗原为HBV的pre-S2/S蛋白的基因或其片段的基因产物的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码pre-S2/S的抗原性片段的核酸序列取代。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码抗原的核酸序列取代,所述抗原包括但不限于pre-S2/S或pre-S2/S的片段。

[0270] 在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码抗原的核酸序列取代,所述抗原为HBV的HBc蛋白的基因或其片段的基因产物的至少10、15、20、25、50、75、100、125、150或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码HBc的抗原性片段的核酸序列取代。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码抗原的核酸序列取代,所述抗原包括但不限于HBc或HBc的片段。

[0271] 在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码抗原的核酸序列取代,所述抗原为HBV的HBs蛋白的基因或其片段的基因产物的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码HBs的抗原性片段的核酸序列取代。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被编码抗原的核酸序列取代,所述抗原包括但不限于HBs或HBs的片段。

[0272] 在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被核酸序列取代,所述核酸序列编码两种或更多种HBV蛋白或其至少10、15、20、25、50、75、100、125、150、175、200、225或更多个氨基酸的片段。在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖和HBc的ORF被编码HBs和HBc的核酸序列取代。

[0273] 在某些实施方式中,编码沙粒病毒的糖蛋白的ORF被核酸序列取代,所述核酸序列编码pre-S2/S蛋白或其抗原性片段、HBc蛋白或其抗原性片段、HBs蛋白或其抗原性片段、和Hbe蛋白或其抗原性片段的一种或更多种。

[0274] 6.3产生表达HBV抗原的传染性沙粒病毒

[0275] 一般地,沙粒病毒颗粒可以通过对LCMV描述的标准反向遗传技术重组地产生(L.Flatz,A.Bergthaler,J.C.de la Torre,and D.D.Pinschewer,Proc Natl Acad Sci USA 103:4663-4668,2006;A.B.Sanchez and J.C.de la Torre,Virology 350:370,2006;E.Ortiz-Riano,B.Y.Cheng,J.C.de la Torre,L.Martinez-Sobrido.J Gen Virol.94:1175-88,2013)。

[0276] (a) 复制缺陷性沙粒病毒

[0277] 为了用于本发明的产生传染性、复制缺陷性沙粒病毒可以使用这些技术,然而拯救的病毒的基因组如章节6.1描述的进行修饰。这些修饰可以是:i) 四个沙粒病毒ORFs(糖蛋白(GP);核蛋白(NP);基质蛋白Z;RNA依赖性RNA聚合酶L)的一个或多个,例如,两个、三个或四个被移除或功能性灭活来防止在正常细胞中形成传染性颗粒,但仍然容许在沙粒病毒载体感染的宿主细胞中的基因表达;和ii) 编码HBV抗原的核酸可以被导入。本文描述的传染性、复制缺陷性病毒可以如国际专利申请公开No.WO 2009/083210(申请号PCT/EP2008/010994)和国际专利申请公开No.WO 2014/140301(申请号PCT/EP2014/055144)中描述的生产,它们的每一个通过完全引用合并在本文中。

[0278] 一旦从cDNA中产生,本文提供的传染性复制缺陷性沙粒病毒可以在补充细胞中增殖。补充细胞是提供功能性的细胞,所述功能性是通过对其基因组的修饰从复制缺陷性沙粒病毒中消除的(例如,如果编码GP蛋白的ORF被删除或功能灭活,补充细胞就提供GP蛋白)。

[0279] 由于沙粒病毒载体中一个或多个病毒基因的去除或功能性灭活(在此,糖蛋白GP的删除作为例子),沙粒病毒载体可以在反式提供了删除的病毒基因,例如,当前实施例中为GP的细胞中产生和扩增。通过用表达目的病毒基因的一个或多个质粒(补充质粒,称为C-质粒)转染哺乳动物细胞系如BHK-21、HEK 293、VERO或其他(在此BHK-21作为例子)来产生这样的补充细胞系,以下称为C-细胞。在适合于哺乳动物细胞中表达的一个或多个表达盒的控制下,例如,哺乳动物聚合酶II启动子,如具有多腺苷酸化信号的CMV或EF1 alpha启动子,C-质粒表达要产生的沙粒病毒载体中删除的病毒基因。此外,补充质粒可以具有哺乳动物选择标志物,例如,嘌呤霉素抗性,处在适合于哺乳动物细胞中基因表达的表达盒的控制下,例如,上述的聚合酶II表达盒,或者所述病毒基因转录产物可以跟随着内部核糖体进入位点,例如,脑心肌炎病毒之一,随后是哺乳动物抗性标志物。对于在E.coli中生产,质粒另外具有细菌选择标志物,例如,氨苄西林抗性盒。

[0280] 可以使用的细胞,例如BHK-21、HEK 293、MC57G或其他细胞可以保持在培养物中,使用任一种常用的策略如基于磷酸钙、脂质体的方案或电穿孔用补充质粒转染。数天以后,以滴定浓度添加适合的选择试剂,例如,嘌呤霉素。根据标准过程分离存活的克隆并进行亚克隆,使用针对目的病毒蛋白质的抗体、用Western印迹或流式细胞计过程鉴定高表达的C-细胞克隆。作为对使用稳定转染的C-细胞的替代,在下文使用C-细胞的每个步骤中,正常细胞的短暂转染可以补充缺失的病毒基因。此外,辅助病毒可以用于反式提供缺失的功能。

[0281] 可以使用的质粒可以是两种类型:i) 两个质粒,称为TF-质粒,用于在C-细胞中细胞内表达沙粒病毒的最小反式作用因子,在当前实施例中来源于例如LCMV的NP和L蛋白;和ii) 质粒,称为GS-质粒,用于在C-细胞中细胞内表达沙粒病毒载体基因组片段,例如,具有设计的修饰的片段。TF-质粒在适合于哺乳动物细胞中蛋白质表达的表达盒的控制下表达相应沙粒病毒载体的NP和L蛋白,一般地,为哺乳动物聚合酶II启动子,例如CMV或EF1 alpha启动子,它们的任一优选地与多腺苷酸化信号组合。GS-质粒表达所述载体的小(S)和大(L)基因组片段。一般地,可以使用聚合酶I驱动的表达盒或T7噬菌体RNA聚合酶(T7-)驱动的表达盒,后者优选地具有3'-末端核酶,用于加工初始转录产物以产生正确的末端。在使用基于T7的系统情况下,必需通过在恢复过程中包括类似TF-质粒而构建的、提供T7的其



他表达质粒,或构建C-细胞来以稳定的方式另外表达T7,以提供C-细胞中T7的表达。在某些实施方式中,TF和GS质粒可以是同一个,即,基因组序列和反式作用因子可以通过T7、pol I和pol III启动子从一个质粒转录。

[0282] 为了回收沙粒病毒载体,可以使用以下过程。第一天:C-细胞,一般是在M6-孔平板上80%汇合的,用两种TF-质粒加两种GS-质粒的混合物转染。在某些实施方式中,TF和GS质粒可以是同一个,即,基因组序列和反式作用因子可以通过T7、pol I和pol III启动子从一个质粒转录。为此,可以利用的任一种常用的策略,例如基于磷酸钙、脂质体的方案或电穿孔。

[0283] 3-5天后:收获培养物上清液(沙粒病毒载体制品),等分并保存在4℃、-20℃或-80℃,取决于使用之前要保存沙粒病毒载体多长时间。然后在C-细胞上通过免疫病灶分析来评估沙粒病毒载体制品的传染性滴度。

[0284] 本发明进一步涉及HBV抗原在细胞培养物中的表达,其中所述细胞培养物用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒感染。当用于在培养的细胞中表达HBV抗原时,可以使用以下两个过程:

[0285] i) 以一或更多,例如二、三或四的感染复数(MOI)用本文描述的沙粒病毒载体制品感染目的细胞类型,引起感染后不久在所有细胞中所述HBV抗原的产生。

[0286] ii) 做为选择,可以使用更低的MOI,可以根据病毒驱动的HBV抗原表达的水平选择单个的细胞克隆。随后,由于沙粒病毒载体的非细胞溶解特征,单独的克隆可以无限地扩展。与途径无关,随后可以从培养物上清液或从细胞自身采集(和纯化)HBV抗原,取决于产生的HBV抗原的性质。然而,本发明不局限于这两种策略,也可以考虑使用传染性的复制缺陷性沙粒病毒作为载体驱动HBV抗原表达的其他方式。

[0287] 做为选择,可以使用由三种质粒组成的拯救系统:(1) 第一种质粒通过经聚合酶II转录和随后在转染的细胞中翻译,表达蛋白NP;(2) 第二种质粒通过经聚合酶I转录产生LCMV基因组的(负链的)L片段,以及通过经聚合酶II在聚合酶I启动子的相反方向上转录来产生L蛋白,(3) 第三种质粒通过聚合酶I的转录产生LCMV基因组的S-片段(编码抗原编码序列而不是LCMV糖蛋白)。3μg的每种质粒用于C-细胞的电穿孔,随后将细胞播种在6-孔平板上,在37℃下孵育。在孵育之后,来自转染物的细胞和上清液与新鲜播种的C-细胞组合,在感染后限定的时间点收获载体,并从细胞/碎屑中清洗。一旦已经产生载体,编码致癌病毒和/或免疫调节肽、多肽或蛋白的抗原的核酸(参见章节6.2)可以被插入质粒中,通过本领域技术人员已知的任何技术从所述质粒中转录传染性复制缺陷性载体的基因组片段。由于沙粒病毒载体中一个或更多个病毒基因的去除或功能性灭活(在此,糖蛋白GP的删除作为例子),沙粒病毒载体可以在反式提供了删除的或功能性灭活的病毒基因(例如,GP)的细胞中产生和扩增。产生的病毒本身是传染性的,但是由于缺乏被删除或功能性灭活的病毒基因(例如,GP),不能在非补充细胞中产生进一步的传染性子代颗粒。补充细胞可以通过稳定转染、短暂转染,或通过用表达缺失的功能性的辅助病毒感染,来提供缺失的功能性。

[0288] 在某些实施方式中,补充细胞提供了从沙粒病毒载体基因组中删除或功能性灭活的病毒基因。在具体的实施方式中,补充细胞提供来自病毒毒株的病毒基因,所述病毒毒株与用于产生所述沙粒病毒载体基因组的病毒毒株相同。在另一个实施方式中,补充细胞提供了来自病毒毒株的病毒基因,所述病毒毒株与用于产生所述沙粒病毒载体基因组的病毒毒株不同。例如,补充细胞中提供的病毒基因获自LCMV的MP毒株,并且编码具有SEQ ID NO:

15、16、17或18的氨基酸序列的蛋白。在另一个实施例中，补充细胞中提供的病毒基因获自LCMV的克隆13毒株，并编码具有SEQ ID NO:21、22、23或24的氨基酸序列的蛋白。在另一个实施例中，补充细胞中提供的病毒基因获自LCMV的WE毒株，并编码具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的蛋白。

[0289] 在具体的实施方式中，补充细胞提供LCMV的MP毒株的GP，沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述补充细胞提供LCMV的MP毒株的GP，所述沙粒病毒载体获自LCMV克隆13，并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0290] 在具体的实施方式中，补充细胞提供LCMV的克隆13毒株的GP，沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述补充细胞提供LCMV的克隆13毒株的GP，所述沙粒病毒载体获自LCMV MP毒株，并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0291] 在具体的实施方式中，补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP，沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP，所述沙粒病毒载体获自LCMV克隆13，并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0292] 在具体的实施方式中，补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP，沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP，所述沙粒病毒载体获自LCMV MP毒株，并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中，所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0293] 在某些实施方式中，所述传染性、复制缺陷性沙粒病毒是三片段化的。

[0294] (b) 复制感受态三片段化沙粒病毒

[0295] 用于本文提供的方法和组合物的是产生复制感受态沙粒病毒载体的方法。本文描述的传染性、复制感受态三片段化病毒可以如美国临时专利申请No.62/079,493中描述的产生，通过引用将其全部合并在本文中。

[0296] 在某些实施方式中，所述产生三片段化沙粒病毒颗粒的方法包括(i)向宿主细胞中转染一个L片段和两个S片段、或两个L片段和一个S片段的cDNA；(ii)向宿主细胞中转染表达沙粒病毒的最小反式作用因子NP和L的质粒；(iii)将所述宿主细胞维持在适合于病毒形成的条件下；和(vi)收获所述沙粒病毒颗粒。

[0297] 一旦从cDNA中产生，所述三片段化沙粒病毒颗粒(即，传染性的和复制感受态的)可以增殖。在某些实施方式中，三片段化沙粒病毒颗粒可以在任何宿主细胞中增殖，所述宿

主细胞容许病毒生长到容许本文描述的病毒的运用的滴度。在一个实施方式中,所述宿主细胞容许所述三片段化沙粒病毒颗粒生长到与对相应的野生型测定的滴度可比较的滴度。

[0298] 在某些实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒可以在宿主细胞中增殖。可以使用的宿主细胞的具体实例包括BHK-21、HEK 293、VERO或其他。在具体的实施方式中,所述三片段化沙粒病毒颗粒可以在细胞系中增殖。

[0299] 在某些实施方式中,所述宿主细胞被保持在培养物中,并用一种或更多种质粒转染。在适合于在哺乳动物细胞中表达的一个或更多个表达盒的控制下,质粒表达要产生的沙粒病毒基因组片段,例如,所述表达盒由聚合酶I启动子和终止子组成。

[0300] 在具体的实施方式中,所述宿主细胞被保持在培养物中,并用一种或更多种质粒转染。在适合于在哺乳动物细胞中表达的一个或更多个表达盒的控制下,质粒表达要产生的病毒基因,例如,所述表达盒由聚合酶I启动子和终止子组成。

[0301] 可以用于产生包含一个L片段和两个S片段的三片段化沙粒病毒的质粒包括:i)各自编码S基因组片段的两个质粒,例如,pol-I驱动的S片段表达质粒,ii)编码L基因组片段的质粒,例如,pol-I驱动的L片段表达质粒。包含两个L片段和一个S片段的三片段化沙粒病毒需要的质粒是:i)各自编码L基因组片段的两个质粒,例如,pol-L,ii)编码S基因组片段的质粒,例如pol-I S。

[0302] 在某些实施方式中,编码指导病毒的L和S片段的细胞内合成的沙粒病毒聚合酶的质粒可以掺入转染混合物中。例如,编码L蛋白的质粒和编码NP的质粒(分别为pC-L和pC-NP)。L蛋白和NP是病毒RNA转录和复制所必需的最小反式作用因子。做为选择,与NP和L蛋白一起,病毒L和S片段的细胞内合成可以使用表达盒进行,具有分别从对侧阅读到两个独立质粒的L和S片段cDNA的pol-I和pol-II启动子。

[0303] 此外,质粒可以具有哺乳动物选择标志物,例如,嘌呤霉素抗性,处在适合于哺乳动物细胞中基因表达的表达盒的控制下,例如,上述的聚合酶II表达盒,或者所述病毒基因转录产物可以跟随着内部核糖体进入位点,例如,脑心肌炎病毒的,随后是哺乳动物抗性标志物。对于在E.coli中生产,所述质粒另外具有细菌选择标志物,例如,氨苄西林抗性盒。

[0304] 用质粒转染BHK-21细胞可以使用任何常用的策略来进行,例如基于磷酸钙、脂质体的方案或电穿孔。数天以后,以滴定浓度添加适合的选择试剂,例如,嘌呤霉素。根据标准过程分离存活的克隆并进行亚克隆,使用针对目的病毒蛋白质的抗体、用Western印迹或流式细胞计过程鉴定高表达的克隆。

[0305] 一般地,可以使用聚合酶I驱动的表达盒、RNA聚合酶II驱动的表达盒或T7噬菌体RNA聚合酶驱动的表达盒,后者优选地具有3'末端核酶,用于加工初始转录产物以产生正确的末端。在某些实施方式中,编码沙粒病毒基因组片段的质粒可以是同一个,即,基因组序列和反式作用因子可以从一个质粒通过T7、polI和polIII启动子转录。

[0306] 为了回收三片段化沙粒病毒载体,设想以下的过程。第一天:细胞,一般是在M6-孔平板上80%汇合的,用如上所述的质粒的混合物转染。为此,可以利用任何常用的策略,例如基于磷酸钙、脂质体的方案或电穿孔。

[0307] 3-5天后:收获培养物上清液(沙粒病毒载体制品),等分并保存在4℃、-20℃或-80℃,取决于使用之前要保存沙粒病毒载体多长时间。通过免疫病灶分析来评估沙粒病毒载体制品的传染性滴度。做为选择,转染的细胞和上清液可以在转染后3-5天传代到更大的容

器中(例如,T75组织培养烧瓶),传代后五天收获培养上清液。

[0308] 本申请进一步涉及异源ORF(例如,HBV抗原)的表达,其中编码基因组片段的质粒被修饰以掺入异源ORF。异源ORF可以使用限制酶掺入到质粒中。在某些实施方式中,所述异源ORF编码HBV抗原。在某些实施方式中,编码基因组片段的质粒被修饰以掺入一个或更多个异源ORF。在某些实施方式中,所述异源ORF编码一种或更多种HBV抗原。

[0309] 6.4核酸、载体系统和细胞系

[0310] 在一个实施方式中,本文描述的本文描述的核酸序列,其是本文描述的传染性沙粒病毒的大基因组片段(L片段)的cDNA,其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活,并且所述基因组片段包含编码HBV抗原的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0311] 在一个实施方式中,本文描述的是编码本文描述的传染性沙粒病毒的短基因组片段(S片段)的核酸序列,其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活,并且其中所述短基因组片段包含编码HBV抗原的核苷酸序列。在另一个实施方式中,本文描述的是编码本文描述的传染性沙粒病毒的短基因组片段(S片段)的核酸序列,其中糖蛋白基因的一个ORF被删除或功能性灭活,并且其中所述短基因组片段包含编码HBV抗原的核苷酸序列。在某个更具体的实施方式中,所述HBV抗原是章节6.2中描述的抗原。

[0312] 在某些实施方式中,本文提供的核酸序列可以来源于特定株系的LCMV。LCMV的毒株包括克隆13、MP毒株、Arm CA 1371、Arm E-250、WE、UBC、Traub、Pasteur、810885、CH-5692、Marseille#12、HP65-2009、200501927、810362、811316、810316、810366、20112714、Douglas、GR01、SN05、CABN和它们的衍生物。在具体的实施方式中,所述核酸来源于LCMV克隆13。在其他具体实施方式中,所述核酸来源于LCMV MP毒株。

[0313] 在更具体的实施方式中,本文提供的是包含沙粒病毒基因组片段的核酸,所述沙粒病毒基因组片段包含至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%、或100%相同于SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的序列的序列。在另一个实施方式中,本文提供的是包含沙粒病毒基因组片段的核酸,所述沙粒病毒基因组片段包含(i)至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%、或100%相同于SEQ ID NO:11的核苷酸1639到3315的序列的核苷酸序列;和(ii)编码HBV抗原的核苷酸序列。

[0314] 在另一个实施方式中,本文提供的是包含沙粒病毒基因组片段的核酸,所述沙粒病毒基因组片段包含(i)编码表达产物的核苷酸序列,所述表达产物的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:11的1639到3315编码的氨基酸序列;和(ii)编码HBV抗原的核苷酸序列。

[0315] 在另一个实施方式中,本文提供的是包含沙粒病毒基因组片段的核酸,所述沙粒病毒基因组片段包含(i)至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%、或100%相同于SEQ ID NO:12的核苷酸1640到3316的序列的核苷酸序列;和(ii)编码HBV抗原的核苷酸序列。

[0316] 在另一个实施方式中,本文提供的是包含沙粒病毒基因组片段的核酸,所述沙粒病毒基因组片段包含(i)编码表达产物的核苷酸序列,所述表达产物的氨基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:

12的1640到3316编码的氨基酸序列;和(ii)编码HBV抗原的核苷酸序列。

[0317] 在一个实施方式中,本文描述的是包含一个或更多个载体的载体系统,所述一个或更多个载体一起包含本文描述的传染性沙粒病毒颗粒的基因组。具体地,本文提供的是载体系统,其中一个或更多个载体包含本文描述的传染性沙粒病毒的两个沙粒病毒基因组片段,即,L片段和S片段。这样的载体系统可以包含(在一个或更多个独立的DNA分子上):

[0318] 沙粒病毒S基因组片段,其被修饰使得携带这种修饰的S基因组片段的沙粒病毒颗粒不能产生传染性的子代病毒颗粒,以及沙粒病毒L基因组片段,其包含编码(正义或反义地)HBV抗原的核苷酸序列;

[0319] 沙粒病毒L基因组片段,其被修饰使得携带这种修饰的L基因组片段的沙粒病毒颗粒不能产生传染性的子代病毒颗粒,以及沙粒病毒S基因组片段,其包含编码(正义或反义地)HBV抗原的核苷酸序列;

[0320] 沙粒病毒S基因组片段,其被修饰使得携带这种修饰的S基因组片段的沙粒病毒颗粒不能产生传染性的子代病毒颗粒,并且其中所述沙粒病毒S基因组片段包含编码(正义或反义地)HBV抗原的核苷酸序列,并包含野生型沙粒病毒L基因组片段;或

[0321] 沙粒病毒L基因组片段,其被修饰使得携带这种修饰的L基因组片段的沙粒病毒颗粒不能产生传染性的子代病毒颗粒,和其中所述沙粒病毒L基因组片段包含编码(正义或反义地)HBV抗原的核苷酸序列,并包含野生型沙粒病毒S基因组片段。

[0322] 在某些实施方式中,本文描述的是包含沙粒病毒(例如,LCMV)基因组片段的核酸序列,其中编码S基因组片段的GP的ORF被核苷酸序列取代,所述核苷酸序列包含:

[0323] 编码乙型肝炎pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0324] 编码乙型肝炎病毒HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0325] 编码乙型肝炎病毒HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0326] 编码乙型肝炎病毒HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;

[0327] 编码乙型肝炎病毒HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0328] 在某些实施方式中,本文描述的是包含沙粒病毒(例如,LCMV)基因组片段的核酸序列,其中编码S基因组片段的GP的ORF被编码一个或更多个HBV抗原(例如,以上段落中列出的那些的一个或更多个)的核苷酸序列取代。

[0329] 在另一个实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含本章节中的上述核酸或载体系统。本文还提供了来源于这类细胞的细胞系,包含这类细胞的培养物,和培养被核酸或载体系统感染的这类细胞的方法。在某些实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含核酸,所述核酸包含本文描述的传染性沙粒病毒的大基因组片段(L片段),其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活,以及所述基因组片段包含编码HBV抗原的核苷酸序列。

[0330] 在其他实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含核酸序列,所述核酸序列包含本文描述的传染性沙粒病毒的短基因组片段(S片段),其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活,以及其中所述短基因组片段包含编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0331] 在其他实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含核酸序列,所述核酸序列包含本文描述的传染性沙粒病毒的短基因组片段(S片段),其中所述基因组片段的一个

ORF被删除或功能性灭活,以及其中所述短基因组片段包含编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0332] 在其他实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含核酸序列,所述核酸序列包含本文描述的传染性沙粒病毒的短基因组片段(S片段),其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活,以及其中所述短基因组片段包含编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0333] 在其他实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含核酸序列,所述核酸序列包含本文描述的传染性沙粒病毒的短基因组片段(S片段),其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活,以及其中所述短基因组片段包含编码融合蛋白的核苷酸序列,所述融合蛋白包含来自HBV HBs蛋白和HBV HBc蛋白的至少一个结构域。

[0334] 在其他实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含核酸序列,所述核酸序列包含本文描述的传染性沙粒病毒的短基因组片段(S片段),其中所述基因组片段的一个ORF被删除或功能性灭活,以及其中所述短基因组片段包含编码一个或更多个HBV抗原的核苷酸序列。

[0335] 本文描述的另一个实施方式中,本文提供的是细胞,其中所述细胞包含本文描述的两种核酸或载体系统。本文还提供了来源于这类细胞的细胞系,包含这类细胞的培养物,和培养被核酸或载体系统感染的这类细胞的方法。

[0336] 在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的表达载体,所述核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的宿主细胞,所述核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14。

[0337] 在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列编码至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:15、16、17或18的氨基酸序列。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的表达载体,所述核苷酸序列编码至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:15、16、17或18的氨基酸序列。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的宿主细胞,所述核苷酸序列编码至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:15、16、17或18的氨基酸序列。

[0338] 在某些实施方式中,本文提供的是分离的蛋白,其包含至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:15、16、17或18的氨基酸序列。在某些实施方式中,本文提供的是表达蛋白质的宿主细胞,所述蛋白质包含至少80%、81%、82%、83%、84%、

85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:15、16、17或18的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述宿主细胞被培养在细胞培养基中。

[0339] 在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:7。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的表达载体,所述核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:7。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的宿主细胞,所述核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:7。

[0340] 在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的核酸,所述核苷酸序列编码至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:21、22、23或24的氨基酸序列。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的表达载体,所述核苷酸序列编码至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:21、22、23或24的氨基酸序列。在某些实施方式中,本文提供的是包含核苷酸序列的宿主细胞,所述核苷酸序列编码至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:21、22、23或24的氨基酸序列。

[0341] 在某些实施方式中,本文提供的是分离的蛋白,其包含至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:21、22、23或24的氨基酸序列。在某些实施方式中,本文提供的是表达蛋白质的宿主细胞,所述蛋白质包含至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同于SEQ ID NO:21、22、23或24的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述宿主细胞被培养在细胞培养基中。

[0342] 6.5使用方法

[0343] 本文提供的是乙型肝炎病毒感染的免疫治疗。在一个实施方式中,

[0344] 本文提供的是治疗对象的感染的方法,包括向所述对象施用本文描述的表达HBV抗原的一种或更多种沙粒病毒或其组合物。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒是复制缺陷性的。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒是复制感受态的。在具体的实施方式中,本文描述的治疗感染的方法包括向有需要的对象施用有效量的本文描述的表达HBV抗原的一种或更多种传染性沙粒病毒。所述对象可以是哺乳动物,例如但不限于人、小鼠、大鼠、豚鼠、驯养的动物,例如但不限于牛、马、绵羊、猪、山羊、猫、狗、仓鼠、驴。在具体的实施方式中,所述对象是人。

[0345] 在另一个实施方式中,本文提供的是在对象中诱导针对HBV的免疫应答的方法,包括向所述对象施用表达HBV抗原的沙粒病毒或其组合物。

[0346] 在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象具有HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。在另一个具体的实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象受到HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。

[0347] 在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象遭遇HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险,例如,在肝脏中。在具体的实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象在身体的一个或更多个器官中,例如在肝脏中遭遇HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。

[0348] 在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象有表明肝脏损伤的测试结果(例如,血液测试结果)。在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝脏损伤的丙氨酸转氨酶(ALT)水平。在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝脏损伤的天冬氨酸转氨酶(AST)水平。在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝脏损伤的碱性磷酸酶水平。在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝脏损伤的乳酸脱氢酶(LDH)水平。在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝脏损伤的ALT、AST、碱性磷酸酶和LDH水平的一种或更多种。

[0349] 在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝癌或对肝癌的易感性的甲胎蛋白(AFP)水平。在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝脏损伤的胆红素(例如,结合胆红素)水平。在某些实施方式中,所述对象有血液中表明肝脏损伤的白蛋白水平。

[0350] 在某些实施方式中,所述对象有表明肝脏损伤的腹部超声结果。在某些实施方式中,所述对象有表明肝脏损伤的CAT扫描结果。在某些实施方式中,所述对象有表明肝脏损伤的MRI结果。

[0351] 在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象有血液中可检测水平的HBs抗原(HBsAg)。在某些实施方式中,所述对象有血液中可检测水平的针对HBc抗原(HBcAg)的IgM抗体。在某些实施方式中,所述对象有血液中可检测水平的HBe抗原(HBeAg,HBc蛋白的细胞外的/分泌的版本)。在某些实施方式中,所述对象有血液中可检测水平的针对HBsAg的抗体。

[0352] 在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象有指示慢性肝炎的持续水平的HBsAg。在某些实施方式中,所述对象有指示慢性肝炎的持续水平的HBeAg。在某些实施方式中,所述对象有指示慢性肝炎的持续水平的HBsAg和HBeAg。

[0353] 在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象具有HBV感染的症状,包括但不限于食欲不振、疲劳、恶心、呕吐、痒、腹痛、腹胀或黄疸。

[0354] 在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物的对象具有HBV的表现,包括但不限于急性乙型肝炎、慢性HBV感染、肝硬化和肝细胞癌(HCC)。在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给患有无症状HBV的对象。

[0355] 在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给患有HBV感染、敏感于HBV感染或有HBV感染风险的任何年龄组的对象。在具体的实施



方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给免疫系统受损的对象、怀孕的对象、经历器官或骨髓移植的对象、服用免疫抑制药物的对象、经历血液透析的对象、患有癌症的对象,或患有、敏感于或有风险感染HBV的对象。在更具体的实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给由于HBV感染而免疫系统受损的对象,所述对象患有HBV感染、敏感于HBV感染或有HBV感染风险。在又一个具体的实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给患有、敏感于或有风险感染HBV的0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17岁的儿童。在又一个具体的实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给患有、敏感于或有风险感染HBV的婴儿。在又一个具体的实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒被施用给对象,所述对象是患有、敏感于或有风险感染HBV的0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月大小的婴儿。在又一个具体的实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给患有、敏感于或有风险感染HBV的老年对象。

[0356] 在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给具有传播的HBV感染的增高风险的对象。在具体的实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给具有不成熟的新生儿免疫系统的新生儿期的对象。在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给使用静脉内药物具有HBV感染的增高风险的对象。

[0357] 在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物被施用给感染一种或更多种基因型或基因亚型的HBV的对象。在某些实施方式中,所述基因型是基因型A-Z的一种或更多种,或另一种基因型。在某些实施方式中,所述基因亚型是一种或更多种基因亚型A1-A6、B1-B4、C1-C6、D1-D7、F1-F4,或另一种基因亚型。

[0358] 在另一个实施方式中,将本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒施用给对象赋予了对抗HBV感染的细胞介导的免疫(CMI)。不受理论的限制,在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物在宿主(例如,巨噬细胞)的抗原递呈细胞(APC)中感染并表达目的抗原,用于指导在I类和II类主要组织相容性复合体(MHC)上的抗原呈递。在另一个实施方式中,向对象施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物诱导高量级的多功能的、共同产生IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 的HBV特异性CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞反应(IFN- $\gamma$ 由CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞产生,TNF- $\alpha$ 由CD4<sup>+</sup> T细胞产生)来治疗或预防HBV感染。

[0359] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时发生HBV感染的风险相比,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低个体发生HBV感染的风险达到至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90、或更高。

[0360] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时感染HBV的症状表现相比,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低感染HBV的症状达到至少约10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、或更高。

[0361] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时针对HBV感染的细胞介导的免疫(CMI)反应相比,在具有不成熟的新生儿免疫系统的对象中施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物诱导针对HBV感染的细胞介导的免疫(CMI)反应至少约10%、至少约20%、至少

25%、至少30%、至少约35%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更高。

[0362] 在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的ALT水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的AST水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的碱性磷酸酶水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的LDH水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的ALT、AST、碱性磷酸酶和LDH水平的一种或更多种。

[0363] 在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的AFP水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的胆红素(例如,结合胆红素)水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物提高白蛋白血液中的白蛋白水平。

[0364] 在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的HBsAg水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中针对HBcAg的IgM抗体的水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中的HBeAg水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低血液中针对HBsAg的抗体的水平。

[0365] 在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低唾液腺或另一种组织学样品中检测出的包涵体的数目。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低患者血液样品中检出的抗HBV抗体的数目。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低尿液、唾液、血液、泪液、精液或乳汁中检出的HBV的数目。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低从尿液、喉拭子、支气管灌洗液或组织样品培养的病毒的水平。在某些实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物降低通过定量或定性PCR测试检出的病毒水平。

[0366] 对象中通过施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒或其组合物诱导的、针对HBV感染的细胞介导的免疫(CMI)响应功能的改变可以通过本领域技术人员已知的任何分析来测量,包括但不限于流式细胞计(参见,例如,Perfetto S.P.et al,Nat Rev Immunol.2004;4(8):648-55),淋巴细胞增殖分析(参见,例如,Bonilla F.A.et al,Ann Allergy Asthma Immunol.2008;101:101-4;和Hicks M.J.et al,Am J Clin Pathol.1983;80:159-63),测量淋巴细胞活化的分析,包括在T淋巴细胞的细胞因子的活化测量之后测定表面标志物表达的变化(参见,例如,Caruso A.et al,Cytometry.1997;27:71-6),ELISPOT分析(参见,例如,Czerkinsky C.C.etal.,J Immunol Methods.1983;65:109-121;and Hutchings P.R.Et al,J Immunol Methods.1989;120:1-8)或天然杀伤细胞细胞毒性分析(参见,例如,Bonilla F.A.et al,Ann Allergy Asthma Immunol.2005 May;94(5 Suppl 1):S1-63)。

[0367] 在另一个实施方式中,本文描述的是使用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒(例如,LCMV)的方法,其中编码S基因组片段的GP的ORF被包含以下的核苷酸序列取代:

[0368] a. 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0369] b. 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0370] c. 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0371] d. 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和

[0372] e. 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0373] 在另一个实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向育龄期对象施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。参见章节6.2。在具体的实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向育龄期血清阴性的对象施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。在又一个实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向意图生育的育龄期对象施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。

[0374] 在另一个实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向育龄期对象施用本文描述的一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。参见章节6.2。在具体的实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向育龄期血清阴性的对象施用本文描述的一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。在又一个实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向意图生育的育龄期对象施用本文描述的一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。

[0375] 在另一个实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向怀孕的对象施用本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。在具体的实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向怀孕的对象施用有效量的本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。

[0376] 在另一个实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向怀孕的对象施用本文描述的一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。在具体的实施方式中,本文提供的是预防HBV从母亲传播和/或感染到待出生婴儿的方法,包括向怀孕的对象施用有效量的本文描述的一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。

[0377] 在另一个实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低先天性HBV感染。在另一个实施方式中,施用一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低先天性HBV感染。

[0378] 在另一个实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低先天性HBV感染的表现至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、或更高。在另一个具体的实施方式中,施用表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低患有先天性HBV感染的新生儿的死亡率。

[0379] 在另一个实施方式中,施用一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低先天性HBV感染的表现至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、或更高。在另一个具体的实施方式中,施用一种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低患有先天性HBV感染的新生儿的死亡率。

[0380] 先天性HBV的这种表现包括但不限于急性乙型肝炎、慢性HBV感染、肝硬化和肝细

胞癌(HCC)。

[0381] 6.6组合物、施用和剂量

[0382] 本发明此外涉及包含本文描述的遗传工程化沙粒病毒的疫苗、免疫原性组合物和药物组合物。这样的疫苗和药物组合物可以根据本领域的标准过程来配制。

[0383] 在另一个实施方式中,本文提供的是包含本文描述的传染性沙粒病毒的组合物。这样的组合物可以用于治疗和预防疾病的方法。在具体的实施方式中,本文描述的组合物用于治疗被HBV感染的或对HBV感染敏感的对象。在另一个具体的实施方式中,本文提供的免疫原性组合物可以用于在施用了所述组合物的宿主中诱导免疫应答。本文描述的免疫原性组合物可以用作疫苗,因而可以被配制为药物组合物。在具体的实施方式中,本文描述的免疫原性组合物被用于预防对象(例如,人类对象)的HBV感染。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制缺陷性的(参见章节6.1(a))。在某些实施方式中,所述传染性沙粒病毒的病毒载体是复制感受态的(参见章节6.1(b))。

[0384] 在某些实施方式中,本文提供的是包含本文描述的沙粒病毒载体(起哦不同沙粒病毒载体的组合)的免疫原性组合物。在某些实施方式中,这样的免疫原性组合物进一步包含药学上可接受的赋形剂。在某些实施方式中,这样的免疫原性组合物进一步包含佐剂。用于与本文描述的组合物共同施用的佐剂可以在所述组合物的施用之前、伴随地或之后施用。在某些实施方式中,术语“佐剂”是指一种化合物,当与本文描述的组合物一起施用或作为本文描述的组合物的一部分施用时,增大、增强和/或强化对传染性沙粒病毒颗粒的免疫应答,但是当所述化合物单独施用时不产生针对传染性沙粒病毒颗粒的免疫应答。在某些实施方式中,所述佐剂产生针对所述传染性沙粒病毒颗粒的免疫应答,不产生过敏或其他不良反应。佐剂可以通过几种机制增强免疫应答,包括,例如,淋巴细胞征募、刺激B细胞和/或T细胞以及刺激巨噬细胞。当本发明的疫苗或免疫原性组合物包含佐剂,或与一种或更多种佐剂一起施用时,可以使用的佐剂包括但不限于矿物盐佐剂或矿物盐凝胶佐剂、颗粒佐剂、微粒佐剂、粘膜佐剂和免疫刺激佐剂。佐剂的实例包括但不限于铝盐(白矾)(例如,氢氧化铝、磷酸铝和硫酸铝)、3De-0-酰化的单磷酰基脂质A(MPL)(参见GB 2220211)、MF59(Novartis)、AS03(GlaxoSmithKline)、AS04(GlaxoSmithKline)、聚山梨酯80(Tween 80; ICL Americas, Inc.)、咪唑并吡啶化合物(参见国际申请NO.PCT/US2007/064857,作为国际公开No.WO2007/109812公开)、咪唑并喹啉化合物(参见国际申请NO.PCT/US2007/064858,作为国际申请WO2007/109813公开)和皂角苷,例如,QS21(参见Kensil et al, in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); 美国专利No. 5,057,540)。在某些实施方式中,所述佐剂是弗氏佐剂(完全的或不完全的)。其他佐剂是水包油乳剂(例如,角鲨烯或花生油),任选地与免疫刺激剂组合,例如单磷酰基脂质A(参见Stoute et al, N. Engl. J. Med. 336, 86-91 (1997))。

[0385] 所述组合物包含单独的本文描述的传染性沙粒病毒,或与药学上可接受的载体一起。可以使用遗传工程化的沙粒病毒的悬浮液或分散体,特别是等渗的水悬浮液或分散体。所述药物组合物可以灭菌和/或可以包含赋形剂,例如,防腐剂、稳定剂、润湿剂和/或乳化剂、增溶剂、调节渗透压的盐和/或缓冲液,按照本领域已知的方式制备,例如,通过常规的分散和悬浮加工的方式。在某些实施方式中,这样的分散体或悬浮液可以包含粘度调节剂。所述混悬液或分散体被保持在约2-8℃的温度下,或优选地为了更久保存可以冷冻,然后在

使用之前立即解冻。对于注射剂,所述疫苗或免疫原性制品可以配制在水性溶液中,优选地配制在生理学相容的缓冲液中,例如,Hanks' s溶液、Ringer' s溶液或生理盐水缓冲液。该溶液可包含制剂试剂例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。

[0386] 在某些实施方式中,本文描述的组合物另外包含防腐剂,例如,汞衍生物硫柳汞。在具体的实施方式中,本文描述的药物组合物包含0.001%到0.01%的硫柳汞。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含防腐剂。

[0387] 所述药物组合物包含约 $10^3$ 到约 $10^{11}$ 个病灶形成单位的遗传工程化的沙粒病毒。用于胃肠外施用的单位剂量形式是,例如,安瓿瓶或小瓶,例如,含有约 $10^3$ 到 $10^{10}$ 个病灶形成单位或 $10^5$ 到 $10^{15}$ 个物理颗粒的遗传工程化的沙粒病毒。

[0388] 在另一个实施方式中,通过包括但不限于口服的、真皮内的、肌肉内的、腹膜内的、静脉内的、局部的、皮下的、经皮的、鼻内的和吸入的途径,以及通过破皮(刮去皮肤的顶层,例如,使用分叉针头),本文提供的是疫苗或免疫原性组合物被施用给对象。具体地,可以使用皮下的、肌肉内的或静脉内的途径。

[0389] 对于鼻内施用或吸入施用,使用适合的推进剂,例如,二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟甲烷、二氧化碳或其他适合的气体,以气溶胶喷雾的形式从增压的包装物或喷雾器方便地递送根据本发明使用的制品。对于加压的气雾剂来说,剂量单位可以通过提供阀门来递送计量的数量来确定。例如,在吸入器或吹入器中使用的明胶的药囊和药筒可以配制为含有化合物的粉末混合物和适当的粉末基剂,例如乳糖或淀粉。

[0390] 活性成分的剂量取决于疫苗接种的类型和对象、他们的年龄、体重、个体条件、个体药物动力学数据和施用方式。

[0391] 本文还提供的是遗传工程化的沙粒病毒用于制造药物制品形式的疫苗的过程和用途,所述药物制品包含遗传工程化沙粒病毒作为活性成分。本发明的药物组合物按照本身已知的方式制备,例如,通过常规的混合和/或分散工艺的方式。

[0392] 6.7 LCMV载体的优化的产生

[0393] 由于沙粒病毒载体中一个或更多个病毒基因的去除或功能性灭活(在此,糖蛋白GP的删除作为例子),沙粒病毒载体可以在“反式”提供了删除的或功能性灭活的病毒基因(例如,GP)的细胞中产生和扩增。产生的病毒本身是传染性的,但是由于缺乏被删除或功能性灭活的病毒基因(例如,GP),不能在非补充细胞中产生进一步的传染性子代颗粒。补充细胞可以通过稳定转染、短暂转染,或通过用表达缺失的功能性的辅助病毒感染,来提供缺失的功能性。

[0394] 在某些实施方式中,补充细胞提供了从沙粒病毒载体基因组中删除或功能性灭活的病毒基因。在具体的实施方式中,补充细胞提供来自病毒毒株的病毒基因,所述病毒毒株与用于产生沙粒病毒载体基因组的病毒毒株相同。在另一个实施方式中,补充细胞提供了来自病毒毒株的病毒基因,所述病毒毒株与用于产生所述沙粒病毒载体基因组的病毒毒株不同。例如,补充细胞中提供的病毒基因获自LCMV的MP毒株,并且编码具有SEQ ID NO:15、16、17或18的氨基酸序列的蛋白。在另一个实施例中,补充细胞中提供的病毒基因获自LCMV的克隆13毒株,并编码具有SEQ ID NO:21、22、23或24的氨基酸序列的蛋白。在另一个实施例中,补充细胞中提供的病毒基因获自LCMV的WE毒株,并编码具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的蛋白。

[0395] 在具体的实施方式中,补充细胞提供LCMV的MP毒株的GP,沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述补充细胞提供LCMV的MP毒株的GP,所述沙粒病毒载体获自LCMV克隆13,并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0396] 在具体的实施方式中,补充细胞提供LCMV的克隆13毒株的GP,沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述补充细胞提供LCMV的克隆13毒株的GP,所述沙粒病毒载体获自LCMV MP毒株,并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:22的氨基酸序列。

[0397] 在具体的实施方式中,补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP,沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP,所述沙粒病毒载体获自LCMV克隆13,并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0398] 在具体的实施方式中,补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP,沙粒病毒载体包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述补充细胞提供LCMV的WE毒株的GP,所述沙粒病毒载体获自LCMV MP毒株,并包含本文描述的人类HBV抗原的ORF代替编码GP蛋白的ORF。在再更具体的实施方式中,所述GP蛋白至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、至少99%或100%相同于SEQ ID NO:25的氨基酸序列。

[0399] 6.8组合治疗

[0400] 6.8(a)方法

[0401] 在一个实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的HBV感染的方法,包括向所述对象施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒。参见,例如,章节6.2。在具体的实施方式中,治疗和/或预防HBV感染的方法包括施用第一种本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如,其中编码S基因组片段的GP的ORF被编码HBV抗原的核苷酸序列取代,其中所述HBV抗原可以是但不限于:

[0402] a) 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0403] b) 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0404] c) 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0405] d) 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和

[0406] e) 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0407] 和第二种本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如,其中编码S基因组片段的GP的ORF被编码HBV抗原的核苷酸序列取代,其中所述HBV抗原可以是但不限于:

[0408] a) 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0409] b) 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0410] c) 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0411] d) 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;和

[0412] e) 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。

[0413] 在某些实施方式中,所述第一种和第二种传染性沙粒病毒是复制缺陷性的。在某些实施方式中,所述第一种和第二种传染性沙粒病毒是复制感受态的。在某些实施方式中,所述第一种或第二种传染性沙粒病毒的任一个是复制缺陷性的。在某些实施方式中,所述第一种和第二种传染性沙粒病毒是双片段化的。在某些实施方式中,所述第一种和第二种传染性沙粒病毒是三片段化的。在某些实施方式中,所述第一种或第二种传染性沙粒病毒的任一个是双片段化的,另一个是三片段化的。

[0414] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防HBV感染的方法,包括施用本文描述的表达第一HBV抗原的第一传染性沙粒病毒,所述抗原选自:HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段;HBV HBc蛋白或其抗原性片段、HBV HBs蛋白或其抗原性片段、或HBV HBe蛋白或其抗原性片段,以及表达第二HBV抗原的第二传染性沙粒病毒,所述抗原选自:编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;HBV HBc蛋白或其抗原性片段、HBV HBs蛋白或其抗原性片段、或HBV HBe蛋白或其抗原性片段。

[0415] 在某些实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防感染的方法,包括施用两种本文描述的表达HBV抗原的沙粒病毒载体构建体。在具体的实施方式中,所述两种沙粒病毒载体构建体表达不同的HBV抗原。

[0416] 在某些实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防感染的方法,包括施用两种或更多种本文描述的表达HBV抗原的沙粒病毒载体构建体。在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防感染的方法,包括施用三种或更多种本文描述的表达HBV抗原的沙粒病毒载体构建体。在某些实施方式中,所述沙粒病毒载体构建体可以基于LCMV。

[0417] 在某些实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防感染的方法,包括施用两种或更多种本文描述的各自表达不同HBV抗原的沙粒病毒载体构建体。在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防感染的方法,包括施用三种或更多种本文描述的各自表达不同HBV抗原的沙粒病毒载体构建体。在某些实施方式中,所述沙粒病毒载体构建体可以基于LCMV。

[0418] 在具体的实施方式中,所述抗原是HBV pre-S2/S蛋白或其片段(参见,例如,章节6.2(a))。

[0419] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBc蛋白或其片段(参见,例如,章节6.2(b))。

[0420] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBs蛋白或其片段(参见,例如,章节6.2(c))。

[0421] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物(参见,例如,章节6.2(d))。

[0422] 在某些实施方式中,所述抗原是HBV HBe蛋白或其片段(参见,例如,章节6.2(e))。

[0423] 在某些实施方式中,如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体包含如所描述的一种或更多种编码HBV抗原的核酸或其组合。在具体的实施方式中,本文描述的HBV抗原通过如本文描述的各种接头、间隔区和裂解位点来分隔。

[0424] 在另一个实施方式中,第一传染性沙粒病毒的如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体可以基于LCMV克隆13或LCMV MP毒株(参见,例如,章节7.1)。



[0425] 在另一个实施方式中,第二传染性沙粒病毒的如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体可以基于LCMV克隆13或LCMV MP毒株(参见,例如,章节7.1)。在另一个实施方式中,第一传染性沙粒病毒的如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体可以基于胡宁病毒。

[0426] 在另一个实施方式中,第二传染性沙粒病毒的如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体可以基于胡宁病毒。

[0427] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0428] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0429] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0430] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0431] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0432] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0433] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0434] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0435] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0436] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0437] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。



[0438] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0439] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0440] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0441] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0442] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0443] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0444] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0445] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0446] 在具体的实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防对象的感染的方法,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0447] 在另一个实施方式中,所述表达HBV抗原的第一传染性沙粒病毒是初次疫苗抗原,所述表达另一种HBV抗原的第二传染性沙粒病毒是第二疫苗抗原。

[0448] 在某些实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBc蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或HBV HBc蛋白的第二传染性沙粒病毒提供了疫苗接种之后对HBV的更好的免疫保护效果。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBc蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBc蛋白的第二传染性沙粒病毒引发了更大的免疫应答。在另一个实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBc蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段、或HBV HBc蛋白的

第二传染性沙粒病毒引发更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBc蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBc蛋白的第二传染性沙粒病毒引发了更高滴度的中和抗体。

[0449] 在某些实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBs蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或HBV HBs蛋白的第二传染性沙粒病毒提供了疫苗接种之后对HBV的更好的免疫保护效果。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBs蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs蛋白的第二传染性沙粒病毒引发了更大的免疫应答。在另一个实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBs蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段、或HBV HBs蛋白的第二传染性沙粒病毒引发更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBs蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs蛋白的第二传染性沙粒病毒引发了更高滴度的中和抗体。

[0450] 在某些实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBV HBs和HBc蛋白的融合物的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第二传染性沙粒病毒提供了疫苗接种之后对HBV的更好的免疫保护效果。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBV HBs和HBc蛋白的融合物的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第二传染性沙粒病毒引发了更大的免疫应答。在另一个实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBV HBs和HBc蛋白的融合物的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段、或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第二传染性沙粒病毒引发了更大的CD8<sup>+</sup>T细胞反应。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBV HBs和HBc蛋白的融合物的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBs和HBc蛋白的融合物的第二传染性沙粒病毒引发了更高滴度的中和抗体。

[0451] 在某些实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBc蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV

HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或HBV HBe蛋白的第二传染性沙粒病毒提供了疫苗接种之后对HBV的更好的免疫保护效果。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBe蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBe蛋白的第二传染性沙粒病毒引发了更大的免疫应答。在另一个实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBe蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段、或HBV HBe蛋白的第二传染性沙粒病毒引发更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在其他实施方式中,与施用单个表达HBV抗原的传染性沙粒病毒,例如仅表达pre-S2/S蛋白(或其片段)或仅表达HBe蛋白的相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒、以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其片段或HBV HBe蛋白的第二传染性沙粒病毒引发了更高滴度的中和抗体。

[0452] 在又一个实施方式中,本文提供的是本文描述的表达HBV抗原的复制缺陷性沙粒病毒与一种或更多种复制缺陷性病毒载体的组合运用。在更具体的实施方式中,所述复制缺陷性病毒载体选自包含痘病毒、腺病毒、甲病毒、单纯性疱疹病毒、副粘病毒、棒状病毒、脊髓灰质炎病毒、腺病毒相关病毒和仙台病毒以及其混合物的组。在具体的实施方式中,所述痘病毒是修饰的疫苗Ankara。

[0453] 在又一个实施方式中,本文提供的是本文描述的表达HBV抗原的复制缺陷性沙粒病毒与一种或更多种表达HBV抗原的复制缺陷性病毒载体的组合运用。在更具体的实施方式中,所述复制缺陷性病毒载体选自包含痘病毒、腺病毒、甲病毒、单纯性疱疹病毒、副粘病毒、棒状病毒、脊髓灰质炎病毒、腺病毒相关病毒和仙台病毒以及其混合物的组。在具体的实施方式中,所述痘病毒是修饰的疫苗Ankara。

[0454] 在另一个实施方式中,如本文描述的表达HBV抗原的第一传染性沙粒病毒在如本文描述的表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒之前或之后施用。例如,所述表达HBV抗原的第一传染性沙粒病毒在所述第二传染性沙粒病毒的首次施用之前或之后30-60分钟施用。

[0455] 在另一个实施方式中,所述表达疫苗抗原的第一传染性沙粒病毒在所述表达疫苗抗原的第二传染性沙粒病毒之前施用。在某些实施方式中,在施用所述第一传染性沙粒病毒和所述第二传染性沙粒病毒之间有约1小时、2小时、3小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、5天、1周、2周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年的时间期。

[0456] 在另一个实施方式中,两种传染性沙粒病毒按照约1:1到1:1000,特别是包括:1:1比例、1:2比例、1:5比例、1:10比例、1:20比例、1:50比例、1:100比例、1:200比例、1:300比例、1:400比例、1:500比例、1:600比例、1:700比例、1:800比例、1:900比例、1:1000比例的摩尔比的治疗方案施用。

[0457] 在另一个实施方式中,要施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象具有HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。在另一个实施方式中,要施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象感染了HBV、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。

[0458] 在另一个实施方式中,要同时地施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象具有HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。在另一个实施方式中,要同时地施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象感染了HBV、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。

[0459] 在另一个实施方式中,要顺序地施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象具有HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。在另一个实施方式中,要顺序地施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象感染了HBV、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。

[0460] 在另一个实施方式中,本文描述的所述两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒进一步与用于治疗 and/或预防HBV的至少一种其他药物组合地施用。治疗和/或预防HBV的治疗性药物包括,但不限于,恩替卡韦(**BARACLUDE®**; Bristol-Myers Squibb)、拉米夫定(**EPIVIR HBV®**; GlaxoSmithKline)、阿德福韦酯(**HEPSERA®**; Gilead Sciences)、干扰素 $\alpha$ 2b(**INTRON A®**; Schering)、聚乙二醇化的干扰素(**PEGASYS®**; Roche)、替比夫定(**TYZEKA®**, Novartis)和替诺福韦(**VIREAD®**; Gilead Sciences)。

[0461] 在另一个实施方式中,本文描述的所述两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒进一步在与至少一种其他免疫调节物的组合中施用。在更具体的实施方式中,本文描述的所述两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒进一步在与至少一种Th1特异性佐剂的组合中施用。在更具体的实施方式中,所述Th-1特异性佐剂是卡介苗(BCG)。

[0462] 在另一个实施方式中,所述施用方案可以涉及向有症状的对象施用如本文描述的表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。在又一个实施方式中,所述施用方案可以涉及向免疫系统受损的对象,特别是移植接受者、HIV感染者、怀孕对象、患有癌症的对象施用如本文描述的表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。在另一个实施方式中,两种或更多种本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒被施用给对象,所述对象是患有、敏感于或有风险感染HBV的0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17岁的儿童。

[0463] 在另一个实施方式中,所述施用方案可以涉及向儿童对象施用表达HIV抗原的第一沙粒病毒,并向是青少年的同一对象施用表达HBV抗原的第二沙粒病毒。在具体的实施方式中,所述施用方案可以涉及向0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17岁的对象施用本文描述的表达HBV抗原的第一沙粒病毒,以及向12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25岁的同一对象施用表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。

[0464] 在另一个实施方式中,所述施用方案可以涉及向有青春期前对象施用表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。在另一个实施方式中,所述施用方式可以涉及向年龄12到18岁的青少年男性施用如本文描述的表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。在另一个实施方式中,所述施用方式可以涉及向年龄12到18岁的女性施用表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。

[0465] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时发生HBV感染的风险相比,施用两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低个体发生HBV感染的风险至少10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更高。

[0466] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时发生HBV感染的风险相比,分离地施用两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低个体发生HBV感染的风险至少10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更高。

[0467] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时发生HBV感染的风险相比,连续地施用两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒降低个体发生HBV感染的风险至少10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更高。

[0468] 不受理论的限制,施用第一传染性沙粒病毒和随后施用第二传染性沙粒病毒载体产生首次免疫-强化效应。

[0469] 在某些实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防HBV感染的方法,包括连续地施用两种或更多种各自表达相同或不同HBV抗原的沙粒病毒载体构建体。每次施用之间的时间间隔可以是约1周、约2周、约3周、约4周、约5周、约6周、约7周、约8周、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约7个月、约8个月、约9个月、约10个月、约11个月、约12个月、约18个月或约24个月。

[0470] 在某些实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒和所述第二传染性沙粒病毒是同源的。在某些实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒和所述第二传染性沙粒病毒是异源的。

[0471] 在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒是旧世界沙粒病毒,所述第二传染性沙粒病毒是旧世界沙粒病毒。在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒是旧世界沙粒病毒,所述第二传染性沙粒病毒是新世界沙粒病毒。在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒是新世界沙粒病毒,所述第二传染性沙粒病毒是新世界沙粒病毒。在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒是新世界沙粒病毒,所述第二传染性沙粒病毒是旧世界沙粒病毒。

[0472] 在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒衍生自LCMV,所述第二传染性沙粒病毒衍生自LCMV。在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒衍生自LCMV,所述第二传染性沙粒病毒衍生自胡宁病毒。在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒衍生自胡宁病毒,所述第二传染性沙粒病毒衍生自胡宁病毒。在某些具体的实施方式中,所述第一传染性沙粒病毒衍生自胡宁病毒,所述第二传染性沙粒病毒衍生自LCMV。

[0473] 在某些实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防HBV感染的方法,其中第一传染性沙粒病毒作为“首次免疫”首先施用,第二传染性沙粒病毒作为“强化”施用。所述第一和第二传染性沙粒病毒载体可以表达相同的或不同的HBV抗原。在某些具体的实施方式中,“首次免疫”施用使用衍生自LCMV的传染性沙粒病毒进行,“强化”使用衍生自胡宁病毒的传染性沙粒病毒进行。在某些具体的实施方式中,“首次免疫”施用使用衍生自胡宁病毒的传染性沙粒病毒进行,“强化”使用衍生自LCMV的传染性沙粒病毒进行。

[0474] 在某些实施方式中,与施用单一的表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV抗原或其片段的第一传染性沙粒病毒,随后施用表达HBV抗原或其片段的第二传染性沙粒病毒产生更大的抗原特异性CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在某些实施方式中,与第一次施用相比,在第二次施用之后所述抗原特异性CD8<sup>+</sup> T细胞计数提高50%、100%、150%或200%。在某些实施方式中,与施用两个连续的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒相比,施用表

达HBV抗原的第三传染性沙粒病毒产生更大的抗原特异性CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在某些实施方式中,与第一次施用相比,在第三次施用之后所述抗原特异性CD8<sup>+</sup> T细胞计数提高约50%、约100%、约150%、约200%或约250%。

[0475] 在某些实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防感染的方法,包括施用两种或更多种沙粒病毒载体构建体,其中所述两种或更多种沙粒病毒载体构建体是同源的,以及其中每次施用之间的时间间隔是约1周、约2周、约3周、约4周、约5周、约6周、约7周、约8周、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约7个月、约8个月、约9个月、约10个月、约11个月、约12个月、约18个月、或约24个月。

[0476] 在某些实施方式中,与施用表达HBV抗原或其片段的第一传染性沙粒病毒、和表达HBV抗原或其片段的同源的第三传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV抗原或其片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV抗原或其片段的异源的第三传染性沙粒病毒产生更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。

[0477] 在某些具体的实施方式中,表达HBV pre-S2/S蛋白的第一传染性沙粒病毒是LCMV,表达HBV pre-S2/S蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是胡宁病毒。在某些具体的实施方式中,表达HBV pre-S2/S蛋白的第一传染性沙粒病毒是胡宁病毒,表达HBV pre-S2/S蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是LCMV。

[0478] 在某些具体的实施方式中,表达HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒是胡宁病毒,表达HBV HBc蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是LCMV。在某些具体的实施方式中,表达HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒是胡宁病毒,表达HBV HBc蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是LCMV。

[0479] 在某些具体的实施方式中,表达HBV HBs和HBc融合蛋白的第一传染性沙粒病毒是LCMV,表达HBV HBs和HBc融合蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是胡宁病毒。在某些具体的实施方式中,表达HBV HBs和HBc融合蛋白的第一传染性沙粒病毒是胡宁病毒,表达HBV HBs和HBc融合蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是LCMV。

[0480] 在某些具体的实施方式中,表达HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒是LCMV,表达HBV HBe蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是胡宁病毒。在某些具体的实施方式中,表达HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒是胡宁病毒,表达HBV HBe蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒是LCMV。

[0481] 在某些具体的实施方式中,与施用表达HBV pre-S2/S蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV pre-S2/S蛋白的同源的第三传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV pre-S2/S蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒引发更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在某些具体的实施方式中,与施用表达HBV pre-S2/S蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV pre-S2/S蛋白的同源的第三传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV pre-S2/S蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV pre-S2/S蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒引发的CD8<sup>+</sup> T细胞反应更大约20%、约40%、约60%、约80%、约100%、约120%、约140%、约160%、约180%或约200%。

[0482] 在某些具体的实施方式中,与施用表达HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBc蛋白的同源的第三传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBc蛋白的异源的第三传染性沙粒病毒引发更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在

某些具体的实施方式中,与施用表达HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBc蛋白的同源的第二传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV HBc蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBc蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒引发的CD8<sup>+</sup> T细胞反应更大约20%、约40%、约60%、约80%、约100%、约120%、约140%、约160%、约180%或约200%。

[0483] 在某些具体的实施方式中,与施用表达HBV HBs和HBc融合蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBs和HBc融合蛋白的同源的第二传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV HBs和HBc融合蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBs和HBc融合蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒引发更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在某些具体的实施方式中,与施用表达HBV HBs和HBc融合蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBs和HBc融合蛋白的同源的第二传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV HBs和HBc融合蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBs和HBc融合蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒引发的CD8<sup>+</sup> T细胞反应更大约20%、约40%、约60%、约80%、约100%、约120%、约140%、约160%、约180%、或约200%。

[0484] 在某些具体的实施方式中,与施用表达HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBe蛋白的同源的第二传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBe蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒引发更大的CD8<sup>+</sup> T细胞反应。在某些具体的实施方式中,与施用表达HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBe蛋白的同源的第二传染性沙粒病毒相比,施用表达HBV HBe蛋白的第一传染性沙粒病毒和表达HBV HBe蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒引发的CD8<sup>+</sup> T细胞反应更大约20%、约40%、约60%、约80%、约100%、约120%、约140%、约160%、约180%或约200%。

[0485] 在某些实施方式中,本文提供的是治疗和/或预防感染的方法,包括施用两种或更多种沙粒病毒载体构建体,其中所述两种或更多种沙粒病毒载体构建体是异源的,以及其中每次施用之间的时间间隔是约1周、约2周、约3周、约4周、约5周、约6周、约7周、约8周、约3个月、约4个月、约5个月、约6个月、约7个月、约8个月、约9个月、约10个月、约11个月、约12个月、约18个月、或约24个月。

[0486] 在又一个实施方式中,本文提供的是本文描述的表达HBV抗原的复制缺陷性沙粒病毒与一种或更多种复制缺陷性病毒载体的组合运用。在更具体的实施方式中,所述复制缺陷性病毒载体选自包含痘病毒、腺病毒、甲病毒、单纯性疱疹病毒、副粘病毒、棒状病毒、脊髓灰质炎病毒、腺病毒相关病毒和仙台病毒以及其混合物的组。在具体的实施方式中,所述痘病毒是修饰的疫苗Ankara。

[0487] 在又一个实施方式中,本文提供的是本文描述的表达HBV抗原的复制缺陷性沙粒病毒与一种或更多种表达HBV抗原的复制缺陷性病毒载体的组合运用。在更具体的实施方式中,所述复制缺陷性病毒载体选自包含痘病毒、腺病毒、甲病毒、单纯性疱疹病毒、副粘病毒、棒状病毒、脊髓灰质炎病毒、腺病毒相关病毒和仙台病毒以及其混合物的组。在具体的实施方式中,所述痘病毒是修饰的疫苗Ankara。

[0488] 在另一个实施方式中,如本文描述的表达HBV抗原的第一传染性沙粒病毒在如本文描述的表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒之前或之后施用。例如,所述表达HBV抗原的第一传染性沙粒病毒在所述第二传染性沙粒病毒的首次施用之前或之后30-60分钟施用。

[0489] 在另一个实施方式中,所述表达疫苗抗原的第一传染性沙粒病毒在所述表达疫苗抗原的第二传染性沙粒病毒之前施用。在某些实施方式中,在施用所述第一传染性沙粒病

毒和所述第二传染性沙粒病毒之间有约1小时、2小时、3小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、5天、1周、2周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、1年的时间期。

[0490] 在另一个实施方式中,两种传染性沙粒病毒按照约1:1到1:1000,特别是包括:1:1比例、1:2比例、1:5比例、1:10比例、1:20比例、1:50比例、1:100比例、1:200比例、1:300比例、1:400比例、1:500比例、1:600比例、1:700比例、1:800比例、1:900比例、1:1000比例的摩尔比的治疗方案施用。

[0491] 在另一个实施方式中,施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象具有HBV感染、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。在另一个实施方式中,施用本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的对象感染HBV、敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。

[0492] 可以用本文提供的方法治疗的对象敏感于HBV感染、或有HBV感染的风险。

[0493] 在另一个实施方式中,本文描述的所述两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒进一步表达至少另一种免疫刺激肽、多肽或蛋白。在某些实施方式中,所述免疫刺激性肽、多肽或蛋白是钙网蛋白(CRT)或其片段;遍在蛋白或其片段;粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)或其片段;不变链(CD74)或其抗原性片段;结核分枝杆菌热激蛋白70或其抗原性片段;单纯性疱疹病毒1蛋白VP22或其抗原性片段;CD40配体或其抗原性片段;或Fms相关酪氨酸激酶3(Flt3)配体或其抗原性片段。

[0494] 还提供了使用传染性复制缺陷性沙粒病毒载体的异源首免-强化方法,其中两种传染性复制缺陷性沙粒病毒载体来源于不同的沙粒病毒(例如,LCMV和胡宁病毒)。这些传染性复制缺陷性沙粒病毒载体可以表达抗原,例如,HBV的抗原。

[0495] 还提供了使用传染性复制感受态沙粒病毒载体的异源首免-强化方法,其中两种传染性复制感受态沙粒病毒载体来源于不同的沙粒病毒(例如,LCMV和胡宁病毒)。这些传染性复制感受态沙粒病毒载体可以表达抗原,例如,HBV的抗原。

[0496] 6.8(b) 组合物

[0497] 本发明此外涉及包含本文描述的遗传工程化沙粒病毒的疫苗、免疫原性组合物和药物组合物。这样的疫苗和药物组合物可以根据本领域的标准过程来配制。

[0498] 在一个实施方式中,本文提供的是包含如本文描述的两种或更多种表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的组合物。参见,例如,章节6.2。在具体的实施方式中,本文描述的组合物包含向对象施用本文描述的表达HBV抗原的第一传染性沙粒病毒,例如,其中编码S基因组片段的GP的ORF被编码HBV抗原的核苷酸序列取代。所述HBV抗原可以是但不限于:

[0499] a) 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0500] b) 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0501] c) 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0502] d) 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列;

[0503] 和

[0504] e) 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列;

[0505] 以及本文描述的表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒,例如,其中编码S基因组片段的GP的ORF被编码HBV抗原的核苷酸序列取代。所述HBV抗原可以是但不限于:



- [0506] a) 编码HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列；
- [0507] b) 编码HBV HBc蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列；
- [0508] c) 编码HBV HBs蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列；
- [0509] d) 编码HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的核苷酸序列；和
- [0510] e) 编码HBV HBe蛋白或其抗原性片段的核苷酸序列。在某些实施方式中，所述第一和第二传染性沙粒病毒是复制缺陷性的。在某些实施方式中，所述第一种和第二种传染性沙粒病毒是复制感受态的。在某些实施方式中，所述第一种或第二种传染性沙粒病毒的任一种是复制缺陷性的。

[0511] 在具体的实施方式中，本文提供的是治疗和/或预防HBV感染的方法，包括施用表达第一HBV抗原的第一传染性沙粒病毒，所述抗原选自：HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段；HBV HBc蛋白或其抗原性片段；HBV HBs蛋白或其抗原性片段，HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物、或HBV HBe蛋白或其抗原性片段，如本文描述的，以及表达第二HBV抗原的第二传染性沙粒病毒，所述抗原选自：HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段；HBV HBc蛋白或其抗原性片段；或HBV HBs蛋白或其抗原性片段、HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物、HBV HBe蛋白或其抗原性片段。

[0512] 在某些实施方式中，本文提供的是适合于治疗和/或预防HBV感染的方法的组合物，所述方法包括施用如本文描述的表达HBV抗原的两种沙粒病毒构建体。在具体的实施方式中，所述两种沙粒病毒载体构建体表达HBV抗原。

[0513] 在某些实施方式中，本文提供的是包含本文描述的表达HBV抗原的两种或更多种沙粒病毒载体构建体的组合物。在具体的实施方式中，本文提供的是包含本文描述的表达HBV抗原的三种或更多种沙粒病毒载体构建体的组合物。在某些实施方式中，所述沙粒病毒可以是LCMV。

[0514] 在具体的实施方式中，所述抗原是HBV pre-S2/S蛋白或其片段。(参见，例如，章节6.2(a))。

[0515] 在某些实施方式中，所述抗原是HBV HBc蛋白或其片段。(参见，例如，章节6.2(b))。

[0516] 在某些实施方式中，所述抗原是HBV HBs蛋白或其片段。(参见，例如，章节6.2(c))。

[0517] 在某些实施方式中，所述抗原是HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物(参见，例如，章节6.2(d))。

[0518] 在某些实施方式中，所述抗原是HBV HBe蛋白或其片段。(参见，例如，章节6.2(e))。

[0519] 在某些实施方式中，如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体包含如所描述的一种或更多种编码HBV抗原的核酸或其组合。在具体的实施方式中，本文描述的HBV抗原通过如本文描述的各种接头、间隔区和裂解位点来分隔。

[0520] 在另一个实施方式中，第一传染性沙粒病毒的如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体可以基于LCMV克隆13或LCMV MP毒株。(参见，例如，章节7.1)。

[0521] 在另一个实施方式中，第二传染性沙粒病毒的如本文描述产生的编码一种或更多种HBV抗原的载体可以基于LCMV克隆13或LCMV MP毒株。(参见，例如，章节7.1)。

[0522] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的HBV感染的方法的组合物,所述方法包括向所述对象施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒组合物以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒组合物。

[0523] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0524] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于对象的感染的组合物,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0525] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0526] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0527] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0528] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0529] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0530] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0531] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象施用表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0532] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0533] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0534] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒

病毒以及表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第二传染性沙粒病毒。

[0535] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0536] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs和HBc蛋白或其抗原性片段的融合物的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0537] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象顺序地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV pre-S2/S蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0538] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0539] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0540] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBs蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0541] 在具体的实施方式中,本文提供的是适合于治疗和/或预防对象的感染的方法的组合物,包括向所述对象同时地施用表达HBV HBe蛋白或其抗原性片段的第一传染性沙粒病毒以及表达HBV HBc蛋白或其抗原性片段的第二传染性沙粒病毒。

[0542] 在另一个实施方式中,所述表达HBV抗原的第一传染性沙粒病毒组合物是初次疫苗抗原,所述表达另一种HBV抗原的第二传染性沙粒病毒是第二疫苗抗原。

[0543] 在又一个实施方式中,本文提供的是本文描述的表达HBV抗原的复制缺陷性沙粒病毒组合物与一种或更多种复制缺陷性病毒载体组合物的组合运用。在更具体的实施方式中,所述复制缺陷性病毒载体组合物可以是但不限于:痘病毒、腺病毒、甲病毒、单纯性疱疹病毒、副粘病毒、棒状病毒、脊髓灰质炎病毒、腺病毒相关病毒和仙台病毒以及其混合物。在具体的实施方式中,所述痘病毒是修饰的疫苗Ankara。

[0544] 在另一个实施方式中,两种传染性沙粒病毒组合物具有约1:1到1:1000,特别是包括:1:1比例、1:2比例、1:5比例、1:10比例、1:20比例、1:50比例、1:100比例、1:200比例、1:300比例、1:400比例、1:500比例、1:600比例、1:700比例、1:800比例、1:900比例、1:1000比例的摩尔比。

[0545] 在另一个实施方式中,本文描述的表达HBV抗原的两种或更多种传染性沙粒病毒组合物适合于施用给具有HBV感染、敏感于HBV感染或有HBV感染的风险的对象。在另一个实施方式中,施用本文描述的表达HBV抗原的两种或更多种传染性沙粒病毒组合物或其组合物的对象感染了HBV、敏感于HBV感染或有感染HBV的风险。

[0546] 在另一个实施方式中,所述两种或更多种传染性沙粒病毒组合物进一步包含用于治疗和/或预防HBV感染的至少一种其他药物。治疗和/或预防HBV的治疗性药物包括,但不

限于,恩替卡韦(**BARACLUDE®**; Bristol-Myers Squibb)、拉米夫定(**EPIVIR HBV®**; GlaxoSmithKline)、阿德福韦酯(**HEPSERA®**; Gilead Sciences)、干扰素 $\alpha$ 2b(**INTRON A®**; Schering)、聚乙二醇化的干扰素(**PEGASYS®**; Roche)、替比夫定(**TYZEKA®**, Novartis)和替诺福韦(**VIREAD®**; Gilead Sciences)。

[0547] 在另一个实施方式中,组合物适合于向有症状的对象施用如本文描述的表达HBV抗原或其片段的第二传染性沙粒病毒组合物。在又一个实施方式中,组合物适合于向免疫系统受损的对象,特别是移植接受者、HBV感染者、怀孕对象、或患有癌症的对象施用表达如本文描述的HBV抗原或其片段的第二传染性沙粒病毒组合物。在另一个实施方式中,表达如本文描述的HBV抗原或其片段的两种或更多种传染性沙粒病毒组合物适合于施用给对象,所述对象是患有、敏感于或有风险感染HBV的0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17岁的儿童。

[0548] 在另一个实施方式中,组合物适合于向儿童对象施用表达HIV抗原的第一沙粒病毒,并向是青少年的同一对象施用表达HBV抗原的第二沙粒病毒。在具体的实施方式中,所述施用方案可以涉及向0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17岁的对象施用本文描述的表达HBV抗原的第一沙粒病毒,以及向12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25岁的同一对象施用表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。

[0549] 在另一个实施方式中,组合物适合于向青春期前对象施用表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。在另一个实施方式中,所述施用方式可以涉及向年龄12到18岁的青少年男性施用如本文描述的表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。在另一个实施方式中,所述施用方式可以涉及向年龄12到18岁的女性施用表达HBV抗原的第二传染性沙粒病毒。

[0550] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时发生HBV感染的风险相比,如本文描述的两种或更多种表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒组合物降低个体发生HBV感染的风险至少10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更高。

[0551] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时发生HBV感染的风险相比,分隔地施用如本文描述的两种或更多种表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒组合物降低个体发生HBV感染的风险至少10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更高。

[0552] 在另一个实施方式中,与没有这样的治疗时发生HBV感染的风险相比,顺序地施用如本文描述的两种或更多种表达HBV抗原或其片段的传染性沙粒病毒组合物降低个体发生HBV感染的风险至少10%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或更高。

[0553] 在另一个实施方式中,本文提供的发明提供了疫苗组合物,其包含表达HBV抗原的两种或更多种传染性复制缺陷性沙粒病毒的协同的组合。

[0554] 在另一个实施方式中,本文提供的发明提供了疫苗组合物,其包含表达HBV抗原的两种或更多种传染性复制感受态沙粒病毒的协同的组合。

[0555] 6.9分析

[0556] 测量沙粒病毒载体感染性的分析熟练的技术人员已知的任何分析可以用于测量

沙粒病毒载体制品的感染性。例如,可以通过“病灶形成单位分析”(FFU分析)进行病毒/载体滴度的测定。简言之,平铺补充细胞,例如,表达LCMV GP蛋白的HEK 293细胞,用不同稀释度的病毒/载体样品接种。在潜伏期之后,容许细胞形成单层和容许病毒附着到细胞,单层用甲基纤维素覆盖。当进一步孵育平板时,原始感染的细胞释放病毒子代。由于甲基纤维素的覆盖,新病毒的传播被限于邻近的细胞。因此,每个传染性的颗粒产生称为病灶的感染细胞的圆形区域。使用针对LCMV-NP的抗体以及基于HRP的颜色反应,这样的病灶可以变为可见的和可计数的。病毒/载体的滴度可以按每毫升的病灶形成单位(FFU/mL)来计算。

[0557] 为了测定带有转基因的载体的传染性滴度(FFU/mL),通过使用相应的转基因特异性抗体而不是抗LCMV-NP抗体来修改这种分析。

[0558] 血清ELISA在动物(例如,小鼠、豚鼠)的疫苗接种时体液免疫应答的测定可以通过抗原特异性血清ELISA(酶联免疫吸附分析)来进行。简言之,平板用抗原(例如,重组蛋白)包被,阻断以避免抗体的非特异性结合,与血清的系列稀释物孵育。在孵育之后,可以检测结合的血清-抗体,例如,使用酶联的抗物种(例如,小鼠、豚鼠)特异性抗体(检测总IgG或IgG子类)和随后的颜色反应。可以测定抗体滴度,例如,作为终点几何平均滴度。

[0559] 也可以进行免疫捕获ELISA(IC-ELISA)(参见Shanmugham et al,2010, Clin.Vaccine Immunol.17(8):1252-1260),其中捕获试剂交联到珠子上。

[0560] ARPE-19细胞中的中和分析测定血清中诱导的抗体的中和活性使用以下细胞分析、用来自ATCC的ARPE-19细胞和GFP标记的病毒来进行。此外,使用补充的豚鼠血清作为外源补体的来源。分析开始于在用于中和之前一天或两天在384孔板中播种 $6.5 \times 10^3$ 个细胞/孔(50 $\mu$ l/孔)。在密钥细胞的96孔无菌组织培养平板中在37℃下进行中和1小时。在中和孵育步骤之后,将混合物添加到细胞,另外孵育4天,用于使用平板读取器检测GFP。阳性中和性人类血清用作每个平板上的分析阳性对照来检查所有结果的可靠性。使用4参数逻辑曲线拟合来确定滴度(EC50)。作为附加测试,用荧光显微镜检查反应孔。

[0561] 空斑减数分析简言之,乙型肝炎病毒的空斑减数(中和)分析可以使用绿色荧光蛋白标记的HBV分离物进行,5%兔血清用作外源补体的来源,斑点通过荧光显微镜计数。中和滴度定义为与对照(免疫前)血清样品相比引起蚀斑的50%减少的最高血清稀释度。

[0562] 豚鼠肺成纤维细胞(GPL)细胞中的中和分析简言之,在具有补充的兔血清(1%)作为外源补体来源的GPL完全培养基中制备测试血清和对照(接种前)血清的系列稀释物。稀释物系列从1:40到1:5120。血清稀释物与eGFP标记的病毒(100-200pfu每孔)在37℃下孵育30分钟,然后转移到含有汇合的GPL细胞的12孔平板。样品进行一式三份。37℃孵育2小时之后,细胞用PBS洗涤,重新饲喂GPL完全培养基,并在37℃/5%CO<sub>2</sub>下孵育5天。通过荧光显微镜显现蚀斑,计数,与对照孔比较。与对照相比蚀斑数量50%降低的血清稀释度被确定为中和滴度。

[0563] qPCR根据厂家提供的方案,使用QIAamp病毒RNA mini试剂盒(QIAGEN)分离LCMV RNA基因组。使用SuperScript® III Platinum® One-Step qRT-PCR试剂盒(Invitrogen)以及特异于部分LCMV NP编码区域的引物和探针(FAM报告物和NFQ-MGB淬灭剂),在StepOnePlus Real Time PCR系统(Applied Biosystems)上通过定量PCR检测LCMV RNA基因组等价物。反应的温度分布是:60℃30分钟,95℃2分钟,随后95℃15秒、56℃30秒的45个循环。通过将样品结果与标准曲线比较可以定量RNA,所述标准曲线是从光谱光度定量的、

体外转录的RNA片段的log10稀释度系列制备的,所述RNA片段相应于含有引物和探针结合位点的LCMV NP编码序列的片段。

[0564] Western印迹在组织培养烧瓶或悬浮液中生长的感染的细胞使用RIPA缓冲液(Thermo Scientific)在感染后标明的时间点裂解,或没有细胞裂解直接使用。样品与还原剂和NuPage LDS样品缓冲液(NOVEX)加热到99℃10分钟,冷却到室温,之后加载到4-12% SDS-凝胶上进行电泳。使用Invitrogens iBlot Gel转移设备将蛋白点印到膜上,通过Ponceau染色来显现。最后,用针对目标蛋白的第一抗体和碱性磷酸酶结合的第二抗体探测制品,之后用1-Step NBT/BCIP溶液(INVITROGEN)染色。

[0565] 用于检测抗原特异性CD8+ T细胞增殖的MHC-肽多聚体染色分析熟练的技术人员已知的任何分析可以用于测试抗原特异性CD8+ T细胞反应。例如,可以使用MHC-肽四聚体染色分析(参见,例如,Altman J.D.et al,Science.1996;274:94-96;and Murali-Krishna K.et al,Immunity.1998;8:177-187)简要地,所述分析包括以下步骤,四聚体分析用于检测抗原特异性T细胞的存在。为了检测T细胞特异的肽,必需识别肽和为限定的抗原特异性T细胞定制的MHC分子四聚体(一般是荧光标记的)。然后通过荧光标记用流式细胞计检测四聚体。

[0566] 用于检测抗原特异性CD4+ T细胞增殖的ELISPOT分析熟练的技术人员已知的任何分析可以用于测试抗原特异性CD4+ T细胞反应。例如,可以使用ELISPOT分析(参见,例如,Czerkinsky C.C.et al,J Immunol Methods.1983;65:109-121;and Hutchings P.R.Et al,J Immunol Methods.1989;120:1-8)。简要地,所述分析包括以下步骤:免疫斑点平板用抗细胞因子抗体包被。细胞在所述免疫斑点板上孵育。细胞分泌细胞因子,然后被洗去。平板然后用第二生物素化的、抗细胞因子抗体包被,用抗生物素蛋白-HRP系统显现。

[0567] 检测CD8+和CD4+ T细胞反应的功能性的细胞内细胞因子分析熟练的技术人员已知的任何分析可以用于测试CD8+和CD4+ T细胞反应的功能性。例如,可以使用与流式细胞计组合的细胞内细胞因子分析(参见,例如,Suni M.A.et al,J Immunol Methods.1998;212:89-98;Nomura L.E.et al,Cytometry.2000;40:60-68;and Ghanekar S.A.et al,Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.2001;8:628-63)。简要地说,所述分析包括以下步骤:通过特异性肽或蛋白质活化细胞、添加蛋白质转运的抑制物(例如,布雷菲德菌素A)来将细胞因子保持在细胞内。在洗涤之后,针对其他细胞标志物的抗体可以添加给细胞。然后固定细胞并透性化。添加抗细胞因子抗体,细胞可以通过流式细胞计来分析。

[0568] 确认病毒载体的复制缺陷性的分析测定传染性和复制感受态病毒颗粒的浓度的熟练技术人员已知的任何分析也可以用于测量样品中的复制缺陷性病毒颗粒。例如,使用非补充细胞的FFU分析(如[00408]中描述的)可以用于这一目的。

[0569] 此外,基于蚀斑的分析是用于测定病毒样品中按照蚀斑形成单位(PFU)的病毒浓度的标准方法。具体地,非补充宿主细胞的汇合的单层用变化的稀释度的病毒感染,用半固体培养基例如琼脂覆盖,以防止病毒感染的任意传播。当病毒成功地感染并在固定的细胞单层内的细胞中复制自身时,形成病毒蚀斑(参见,例如Kaufmann,S.H.;Kabelitz,D.(2002)Methods in Microbiology Vol.32:Immunology of Infection.Academic Press.ISBN 0-12-521532-0)。蚀斑形成可能花费3-14天,取决于被分析的病毒。蚀斑一般

人工地计数,该结果与用于制备平板的稀释因数一起用于计算每样品单位体积的蚀斑形成单位的数量(PFU/mL)。PFU/mL结果代表样品内传染性的复制感受态颗粒的数量。

[0570] 测量血液或肝脏中的病毒载荷测定病毒载荷的熟练技术人员已知的任何分析可以用于检测血液或肝脏中每份体积的HBV颗粒数量(参见,例如,Mendy et al,2010,J.Viral Hepat.17(2):115-122)。这样的分析的非限制性实例包括基于核酸的测试,例如,PCR,以及基于非核酸的测试。

[0571] 肝脏活检进行肝脏活检的熟练技术人员已知的任何过程可以用于测定肝脏损伤的程度,例如,测试患者的慢性HBV感染或肝癌。肝脏活检类型的非限制性实例包括经皮的针头活检、腹腔镜活检和经静脉活检。在某些实施方案中,当在光学显微镜下检查细胞时,使用肝活组织检查来确定毛玻璃状肝细胞的存在。观察到毛玻璃状肝细胞表明肝细胞中存在HBsAg。

[0572] 病毒抗原表达的分析熟练技术人员已知的任何分析可以用于测量病毒抗原的表达。例如,可以进行FFU分析(如[00408]中描述的)。为了检测,使用针对相应的病毒抗原的单克隆或单克隆抗体制品(转基因特异性FFU)。

[0573] 此外,可以进行Western印迹(如[00415]中描述的)。

[0574] 微粒酶免疫分析 **AXSYM®** HbsAg (Abbott) 是一种微粒酶免疫分析 (MEIA), 来检测成年人、儿童和新生儿的血清或血浆中的HBsAg, 包括怀孕女性。这种分析可以用作急性或慢性HBV诊断的辅助。这种分析还可以用于确认HBV感染的存在。

[0575] 为了进行所述分析,患者血液的样品置于反应孔中,反应孔含有检测器抗体和包被有针对HBV的抗体(例如,针对HBV抗原)的微粒。如果血液样品含有HBV蛋白(例如,HBsAg),它们将与反应孔中的微粒结合。这一反应通过另一种产生光线的物质来检测,其然后被测量来确定血液中HBV(例如,HBV抗原)的存在。如果首次测试是阳性的,患者的血液被重新测试来确认HBV(例如,HBV抗原)的存在。熟练技术人员已知的任何微粒酶免疫分析可以用于测量HBsAg或其他HBV抗原的存在。

[0576] 其他HBV分析患者血液的样品置于与HBV抗体或HBV抗原接触中。抗体和/或抗原包括HBsAg、针对HBeAg的抗体、针对HBsAg的抗体、HBeAg、针对HBcAg的抗体、和针对HBcAg的抗体。如果患者被HBV感染,血液中存在的抗原和/或抗体将在测试运行时引起化学反应发生。根据哪些HBV抗原和/或抗体存在于患者的血液中,这种分析容许检测HBV的阶段。

[0577] 本领域技术人员已知的任何分析可以用于评估HBV、HBV抗原或HBV抗体的水平。这些分析的非限制性实例参见,例如,Mayer et al,2012,BMC Clin.Pathol.12:8, Van Helden et al,2004,Clin.Lab.50(1-2):63-73,and Villar et al,2011,J.Med.Virol.83(9):1522-1529。

[0578] 动物模型包含本文描述的表达HBV抗原的传染性沙粒病毒的疫苗或其组合物的耐受性和免疫原性有效性可以在动物模型中测试。在某些实施方式中,本文使用的可以用于测试疫苗及其组合物的安全性、耐受性和免疫原性有效性的动物模型包括小鼠、豚鼠、大鼠、猴和黑猩猩。在优选的实施方式中,本文使用的可以用于测试疫苗及其组合物的安全性、耐受性和免疫原性有效性的动物模型包括小鼠。

[0579] 在特定的实例中,转基因小鼠模型可以用于评估药理学试剂例如免疫治疗或疫苗的抗病毒潜力,以及评估生理学过程,包括免疫应答(参见,例如,Guidotti et al,1995,



J.Virol.69(10):6158-69)。这样的转基因小鼠模型可以表达人类分子,例如,人类I类和II类HLA分子和/或乙型肝炎表面抗原(HBsAg)(参见,例如,Bourgine et al,2012,Virology 430(1):10-9)。

[0580] 在另一个特定的实例中,旱獭(*Marmota monax*)可以用作动物模型,用于开发和测试针对慢性肝炎病毒感染例如慢性乙肝的治疗和预防(参见,例如,Kosinska et al., Hapat.Res.Treat.2010:817580)。旱獭模型适合于评估潜在免疫治疗例如疫苗的免疫原性和其他免疫反应(参见,例如,Vaccine 27(25-26):3271-3275)。

[0581] 6.10序列

[0582] 表3中的序列是可以用于本文描述的方法和组合物的说明性的氨基酸序列和核苷酸序列。在某些情况下,DNA序列被用于描述病毒基因组片段的RNA序列。RNA序列可以从DNA序列容易地推导出。表3.说明性的氨基酸序列。

[0583]

SEQ ID NO:	描述	序列
1	HBV pre-S2/S ORF 的核苷酸序列	ATGCAGTGGAATTCCACAACCTTCCACCAAA CTCTGCAAGATCCCAGAGTGAGAGGCCTGTA TTTCCCTGCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACA GTCAACCCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCTT GTCATCAATCTTCTCCAGGATTGGGGACCCT GCTCTGAACATGGAGAACATCACATCAGGAT TCCTGGGACCCCTTCTTGTGTTGCAGGCAGG GTTTTCTTGTGACAAGAATCCTCACAATCC CTCAGAGTCTGGACTCTTGGTGGACTTCTCTC AATTTTCTGGGGGGAACCACAGTGTGTCTTG GCCAAAATTCTCAGTCCCCAACCTCCAATCA CTCACCAACCTCTTGTCTCCAATTGTCTTG GTTACAGATGGATGTGTCTGAGGAGATTCA CATCTTCTCTTCATCCTGCTGCTGTGCCTCA TCTTCTTGTGTTGTTCTTCTGGACTATCAAGGA ATGTTGCCAGTTTGTCTCTGATTCCAGGATC CTCAACAACCAGCACTGGACCATGCAGGACC TGCATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGT ATCCCTCCTGTTGCTGCACCAAACCTTCAGAT GGAAATTGCACCTGCATTCCCATCCCATCAT CCTGGGCTTTTGGAAAATTCTTTGGGAGTG GGCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTTG CTGGTGCCATTTGTTCAAGTGGTTTGTGGGCT TTCCCCCACTGTTTGGCTTTCAAGTATTTGGA TGATGTGGTATTGGGGGCCAAGTCTGTACAG CATCTTGAGTCCCTTTTGCCTCTGTTGCCAA TTTTCTTTTGTCTTTGGGTCTACATTTAA
2	HBV HBc ORF 的核苷酸序列	ATGGACATTGACCCTTACAAAGAATTTGGAG CAACTGTGGAGTTGCTCTCCTTTTGCCTTCT GACTTCTTTCCTTCAGTGAGAGATCTTCTTGA CACTGCCTCAGCTCTGTACAGGGAAGCCTTG GAGTCTCCTGAGCATTGTTACCTCACCACA CTGCACTCAGGCAAGCAATTCTTTGCTGGGG GGAACATGACTCTGGCAACCTGGGTGGGT GTCAATTTGGAAGATCCAGCCTCAAGAGACC



[0584]

		TTGTGGTCAGTTATGTCAACACAAACATGGG CCTGAAGTTCAGGCAACTCTTGTGGTTTCAC ATTTCTTGTCTCACTTTTGGAAGAGAAACAG TCATTGAGTATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGG ATCAGGACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAA ATGCCCCAATCCTGTCAACACTTCCAGAGAC CACTGTTGTCAGAAGAAGAGGCAGGTCCCCC AGAAGAAGAAGTCCCTCACCAAGAAGAAGA AGGTCTCAATCTCCCAGAAGGAGAAGATCTC AATCAAGGGAATCTCAATGTTAG
3	HBV HBs-HBc 融合蛋白 ORF 的核苷酸序列	ATGGGGCAGAATCTTTCCACCAGCAATCCTCT GGGATTCTTTCCAGACCACCAGTTGGATCCA GCCTTCAGAGCAAACACTGCAAATCCAGATT GGGACTTCAATCCCAACAAGGACACCTGGCC AGATGCCAACAAGGTGGGAGCTGGAGCATT GGGCTGGGTTTCACCCACCCCATGGAGGCC TTTTGGGGTGGAGCCCTCAGGCTCAGGGCAT TCTGCAAACCTTTGCCAGCAAATCCACCTCCTG CCTCCACCAACAGGCAGTCAGGAAGGCAGC CCACCCCTCTGTCTCCACCTTTGAGAAACACT CATCCTCAGGCCATGCAGTGGAATTCCACAA CCTTCACCAAACCTCTGCAAGATCCCAGAGT GAGAGGCCTGTATTTCCCTGCTGGTGGCTCCA GTTCAGGAACAGTCAACCCTGTTCTGACCAC TGCCTCTCCCTTGTCAATCAATCTTCTCCAGGA TTGGGGACCCTGCTCTGAACATGGAGAACAT CACATCAGGATTCCTGGGACCCCTTCTTGTGT TGCAGGCAGGGTTTTTCTTGTGACAAGAAT CCTCACAATCCCTCAGAGTCTGGACTCTTGGT GGACTTCTCTCAATTTTCTGGGGGGAACCAC AGTGTGTCTTGGCCAAAATTCTCAGTCCCCA ACCTCCAATCACTACCAACCTCTTGTCTCTCC AACTTGTCTTGGTTACAGATGGATGTGTCTGA GGAGATTCATCATCTTCCTCTTCATCTGCTGC TGTGCCTCATCTTCTTGTGTTGTTCTTCTGGACT ATCAAGGAATGTTGCCAGTTTGTCTCTGATT CCAGGATCCTCAACAACCAGCACTGGACCAT GCAGGACCTGCATGACCACTGCTCAAGGAAC CTCAATGTATCCCTCCTGTTGCTGCACCAAAC CTTCAGATGGAAATTGCACCTGCATTCCCATC CCATCATCCTGGGCTTTTGGAAAATTCTTTG GGAGTGGGCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTC AGTTTGCTGGTGCCATTTGTTCAGTGGTTTGT TGGGCTTTCCCCCACTGTTTGGCTTTCAGTGA TTTGGATGATGTGGTATTGGGGGCCAAGTCTG TACAGCATCTTGAGTCCCTTTTGCCTCTGTT GCCAATTTTCTTTTGTCTTTGGGTCTACATTAT GGACATTGACCCTTACAAAGAATTTGGAGCA ACTGTGGAGTTGCTCTCCTTTTGCCTTCTGA CTTCTTTCCTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACA CTGCCTCAGCTCTGTACAGGGAAGCCTTGA

[0585]

		GTCTCCTGAGCATTGTTACCTCACCACACTG CACTCAGGCAAGCAATTCTTTGCTGGGGGGA ACTCATGACTCTGGCAACCTGGGTGGGTGTC AATTTGGAAGATCCAGCCTCAAGAGACCTTG TGGTCAGTTATGTCAACACAAACATGGGCCT GAAGTTCAGGCAACTCTTGTTGTTTACATTT CTTGTCTCACTTTTGGGAAGAGAAACAGTCATT GAGTATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGGATCAG GACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCC CCAATCCTGTCAACACTTCCAGAGACCACTG TTGTCAGAAGAAGAGGCAGGTCCCCCAGAA GAAGAACTCCCTCACCAAGAAGAAGAAGGT CTCAATCTCCCAGAAGGAGAAGATCTCAATC AAGGGAATCTCAATGTTAG
4	cDNA 形式的表达 HBV HBs-HBc 融合蛋 白的 LCMV S 片段的 核苷酸序列 (基因组片 段是 RNA, SEQ ID NO: 4 中的序列显示 为 DNA; 然而, 将 SEQ ID NO: 4 中的全 部胸腺嘧啶核苷 (“T ”) 替换为尿嘧啶 (“U”) 提供了 RNA 序 列)	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTGGATTG CGCTTTCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGC CCTATCCTACAGAAGGATGGGGCAGAATCTT TCCACCAGCAATCCTCTGGGATTCTTTCCAG ACCACCAGTTGGATCCAGCCTTCAGAGCAAA CACTGCAAATCCAGATTGGGACTTCAATCCC AACAAGGACACCTGGCCAGATGCCAACAAG GTGGGAGCTGGAGCATTTGGGCTGGGTTTCA CCCCACCCCATGGAGGCCTTTTGGGGTGGAG CCCTCAGGCTCAGGGCATTCTGCAAACCTTG CCAGCAAATCCACCTCCTGCCTCCACCAACA GGCAGTCAGGAAGGCAGCCCACCCCTCTGTC TCCACCTTTGAGAAACACTCATCCTCAGGCC ATGCAGTGGAATTCCACAACCTTCCACCAAA CTCTGCAAGATCCCAGAGTGAGAGGCCTGTA TTTCCCTGCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACA GTCAACCCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCTT GTCATCAATCTTCTCCAGGATTGGGGACCCT GCTCTGAACATGGAGAACATCACATCAGGAT TCCTGGGACCCCTTCTTGTTGTCAGGCAGG GTTTTCTTGTGACAAGAATCCTCACAAATCC CTCAGAGTCTGGACTCTTGGTGGACTTCTCTC AATTTCTGGGGGGAACCACAGTGTGTCTTG GCCAAAATTCTCAGTCCCCAACCTCCAATCA CTCACCAACCTCTTGTCCTCAACTTGTCCTG GTTACAGATGGATGTGTCTGAGGAGATTTCAT CATCTTCTCTTCATCCTGCTGCTGTGCCTCA TCTTCTTGTTGGTTCTTCTGGACTATCAAGGA ATGTTGCCAGTTTGTCTCTGATTCCAGGATC CTCAACAACCAGCACTGGACCATGCAGGACC TGCATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGT ATCCCTCCTGTTGCTGCACCAAACCTTCAGAT GGAAATTGCACCTGCATTCCCATCCCATCAT CCTGGGCTTTTGGAAAATTCCTTTGGGAGTG GGCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTTG CTGGTGCCATTTGTTCAAGTGGTTTGTGGGCT TTCCCCCACTGTTTGGCTTTCAGTGATTGGA

[0586]

TGATGTGGTATTGGGGGCCAAGTCTGTACAG  
CATCTTGAGTCCCTTTTTGCCTCTGTTGCCAA  
TTTTCTTTTGTCTTTGGGTCTACATTATGGAC  
ATTGACCCTTACAAAGAATTTGGAGCAACTG  
TGGAGTTGCTCTCCTTTTTGCCTTCTGACTTC  
TTTCCTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACACTGC  
CTCAGCTCTGTACAGGGAAGCCTTGGAGTCT  
CCTGAGCATTGTTACCTCACCACACTGCAC  
TCAGGCAAGCAATTCTTTGCTGGGGGGAAGT  
CATGACTCTGGCAACCTGGGTGGGTGTCAAT  
TTGGAAGATCCAGCCTCAAGAGACCTTGTGG  
TCAGTTATGTCAACACAAACATGGGCCTGAA  
GTTTCAAGCAACTCTTGTGGTTTTCACATTTCTT  
GTCTCACTTTTGGGAAGAGAAACAGTCATTGA  
GTATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGGATCAGG  
ACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCCC  
CAATCCTGTCAACACTTCCAGAGACCACTGT  
TGTCAGAAGAAGAGGCAGGTCCCCCAGAAG  
AAGAACTCCCTCACCAAGAAGAAGAAGGTC  
TCAATCTCCCAGAAGGAGAAGATCTCAATCA  
AGGGAATCTCAATGTTAGAGAACAGCGCCTC  
CCTGACTCTCCACCTCGAAAGAGGTGGAGAG  
TCAGGGAGGCCCCAGAGGGTCTTAGAGTGTCA  
CAACATTTGGGCCTCTAAAAATTAGGTCATG  
TGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCT  
GGGAGCCTTGCTTTGGAGGCGCTTTCAAAAA  
TGATGCAGTCCATGAGTGCACAGTGCAGGGGT  
GATCTCTTTCTTCTTTTTGTCCCTTACTATTCC  
AGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTTG  
TCCCACACTTTATCTTCATACTCCCTCGAAGC  
TTCCCTGGTCATTTCAACATCGATAAGCTTAA  
TGTCCTTCCTATTTTGTGAGTCCAGAAGCTTT  
CTGATGTCATCGGAGCCTTGACAGCTTAGAA  
CCATCCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGA  
CGAGGTCAACCCGGGTGCGCATTTGAAGAGG  
TCGGCAAGATCCATGCCGTGTGAGTACTTGG  
AATCTTGCTTGAATTGTTTTTGATCAACGGGT  
TCCCTGTAAAAGTGTATGAACTGCCCCTTCT  
GTGGTTGGAAAATTGCTATTTCCACTGGATC  
ATTAAATCTACCCTCAATGTCAATCCATGTA  
GGAGCGTTGGGGTCAATTCCTCCCATGAGGT  
CTTTTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAGCTTAA  
GCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGC  
GCTGGCCTGGGTGAGTTGACTGCAGGTTTCT  
CGCTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTTTCCCAT  
GCTCTCCCCACAATCGATGTTCTACAAGCTA  
TGTATGGCCATCCTTCACCTGAAAGGCAAAC  
TTTATAGAGGATGTTTTTATAAGGGTTCCTGT  
CCCCAACTTGGTCTGAAACAAACATGTTGAG  
TTTTCTTTGGCCCCGAGAACTGCCTTCAAGA  
GATCCTCGCTGTTGCTTGGCTTGATCAAAATT

[0587]

		GACTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGG CTGCCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACT AAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGAC TGCTGTTCAAGTATGACCCCCAGAACTGGGT GCTTGTCTTTCAGCCTTTCAGATCATTAAGA TTTGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGCCAA GGTCTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAG CGGAGTCTGTGACTGTTTGGCCATACAAGCC ATAGTTAGACTTGGCATTGTGCCAAATTGAT TGTTCAAAAGTGATGAGTCTTTCACATCCCA AACTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGA GGCTTTCTCATCCCAACTATCTGTAGGATCTG AGATCTTTGGTCTAGTTGCTGTGTTGTTAAGT TCCCCATATATACCCCTGAAGCCTGGGGCCT TTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCT CAAGGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTC TGCATGAGCCTCCCCACTTTCAAAACATTCT TCTTTGATGTTGACTTTAAATCCACAAGAGA ATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTCTCT GTAGGTCTTTGTCATCTCTCTTTTCCTTCCTC ATGATCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGA AGTCCAACCCATTGAGAAGGTTGGTTGCATC CTTAATGACAGCAGCCTTCACATCTGATGTG AAGCTCTGCAATTCTCTTCTCAATGCTTGCCT CCATTGGAAGCTCTTAACCTTAGACAAG GACATCTTGTGCTCAATGGTTTCTCAAGAC AAATGCGCAATCAAATGCCTAGGATCCACTG TGCG
5	cDNA 形式的表达 HBc ORF 的 LCMV S 片段 的核苷酸序列 (基因组 片段是 RNA, SEQ ID NO: 5 中的序列显示 为 DNA; 然而, 将 SEQ ID NO: 5 中的全 部胸腺嘧啶核苷 (“T ”) 替换为尿嘧啶 (“U ”) 提供了 RNA 序 列)	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGC GCTTTCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCC TATCCTACAGAAGGATGGACATTGACCTTAC AAAGAATTTGGAGCAACTGTGGAGTTGCTCT CCTTTTGCCTTCTGACTTCTTTCCTTCAGTG AGAGATCTTCTTGACACTGCCTCAGCTCTGTA CAGGGAAGCCTTGGAGTCTCCTGAGCATTGT TCACCTCACCACACTGCACTCAGGCAAGCAA TTCTTTGCTGGGGGGAACCTCATGACTCTGGC AACCTGGGTGGGTGTCAATTTGGAAGATCCA GCCTCAAGAGACCTTGTGGTCAGTTATGTCA ACACAAACATGGGCCTGAAGTTCAGGCAACT CTTGTGGTTTCACATTTCTTGTCTCACTTTTGG AAGAGAAACAGTCATTGAGTATTTGGTGTCTT TTGGAGTGTGGATCAGGACTCCTCCAGCTTA CAGACCACCAAATGCCCCAATCCTGTCAACA CTTCCAGAGACCACTGTTGTCAGAAGAAGAG GCAGGTCCCCCAGAAGAAGAACTCCCTCACC AAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCCAGAAG GAGAAGATCTCAATCAAGGGAATCTCAATGTT AGAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCACCTC GAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCCAGA GGGTCTTAGAGTGTCACAACATTTGGGCCTCT

[0588]

AAAAATTAGGTCATGTGGCAGAATGTTGTGA  
ACAGTTTTTCAGATCTGGGAGCCTTGCTTTGGA  
GGCGCTTTCAAAAATGATGCAGTCCATGAGT  
GCACAGTGCGGGGTGATCTCTTTCTTCTTTTT  
GTCCCTTACTATTCCAGTATGCATCTTACACAA  
CCAGCCATATTTGTCCCACACTTTATCTTCATA  
CTCCCTCGAAGCTTCCCTGGTCATTTCAACAT  
CGATAAGCTTAATGTCCTTCCTATTTTGTGAGT  
CCAGAAGCTTTCTGATGTCATCGGAGCCTTGA  
CAGCTTAGAACCATCCCCTGCGGAAGAGCAC  
CTATAACTGACGAGGTCAACCCGGGTTGCGC  
ATTGAAGAGGTGCGCAAGATCCATGCCGTGT  
GAGTACTTGGAATCTTGCTTGAATTGTTTTTG  
ATCAACGGGTTCCCTGTAAAAGTGTATGAACT  
GCCCCGTTCTGTGGTTGGAAAATTGCTATTTCC  
ACTGGATCATTAAATCTACCCTCAATGTCAAT  
CCATGTAGGAGCGTTGGGGTCAATTCCTCCCA  
TGAGGTCTTTTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAG  
CTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTC  
CAGGCGCTGGCCTGGGTGAGTTGACTGCAGG  
TTTCTCGCTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTTC  
CCATGCTCTCCCCACAATCGATGTTCTACAAG  
CTATGTATGGCCATCCTTCACCTGAAAGGCAA  
ACTTTATAGAGGATGTTTTTATAAGGGTTCT  
GTCCCCAACTTGGTCTGAAACAAACATGTTG  
AGTTTTCTCTTGGCCCCGAGAACTGCCTTCAA  
GAGATCCTCGCTGTTGCTTGGCTTGATCAAAA  
TTGACTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGG  
GCTGCCCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGAC  
TAAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGAC  
TGCTGTTTCAAGTATGACCCCCAGAACTGGGT  
GCTTGTCTTTCAGCCTTTCAGATCATTAAAG  
TTTGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGCCAA  
GGTCTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAG  
CGGAGTCTGTGACTGTTTGGCCATACAAGCC  
ATAGTTAGACTTGGCATTGTGCCAAATTGATT  
GTTCAAAAGTGATGAGTCTTTCACATCCCAA  
ACTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAG  
GCTTCTCATCCCAACTATCTGTAGGATCTGA  
GATCTTTGGTCTAGTTGCTGTGTTGTTAAGTT  
CCCCATATATACCCCTGAAGCCTGGGGCCTTT  
CAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCTCA  
AGGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTG  
CACTGAGCCTCCCCACTTTCAAAACATTCTTC  
TTTGATGTTGACTTTAAATCCACAAGAGAATG  
TACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTCTCTGTA  
GGTCTTTGTCTCTCTCTTTTCCTTCCTCATGA  
TCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTC  
CAACCCATTGAGAAGGTTGGTTGCATCCTTAA  
TGACAGCAGCCTTCACATCTGATGTGAAGCT  
CTGCAATTCTCTTCTCAATGCTTGCGTCCATT

[0589]

		GGAAGCTCTTAACTTCCTTAGACAAGGACAT CTTGTTGCTCAATGGTTTCTCAAGACAAATGC GCAATCAAATGCCTAGGATCCACTGTGCG
6	cDNA 形式的表达 pre-S2/S ORF 的 LCMV S 片段的核苷酸序列 (基因组片段是 RNA ，SEQ ID NO: 6 中的 序列显示为 DNA；然 而，将 SEQ ID NO: 6 中的全部胸腺嘧啶核 苷 ( “T” ) 替换为尿 嘧啶 ( “U” ) 提供了 RNA 序列)	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTG CGCTTTCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGC CCTATCCTACAGAAGGATGCAGTGGAATTCC ACAACCTTCCACCAAACCTCTGCAAGATCCCA GAGTGAGAGGCCTGTATTTCCCTGCTGGTGG CTCCAGTTCAGGAACAGTCAACCCTGTTCTG ACCACTGCCTCTCCCTTGTCAATCAATCTTCTC CAGGATTGGGGACCCTGCTCTGAACATGGAG AACATCACATCAGGATTCTGGGACCCCTTC TTGTGTTGCAGGCAGGGTTTTTCTTGTTGACA AGAATCCTCACAAATCCCTCAGAGTCTGGACT CTTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCTGGGGGGA ACCACAGTGTGTCTTGGCCAAAATTCTCAGT CCCCAACCTCCAATCACTACCAACCTCTTGT CCTCCAACCTTGCTCCTGGTTACAGATGGATGT GTCTGAGGAGATTTCATCATCTTCTCTTCATC CTGCTGCTGTGCCTCATCTTCTTGTTGGTTCT TCTGGACTATCAAGGAATGTTGCCAGTTTGT CCTCTGATTCCAGGATCCTCAACAACCAGCA CTGGACCATGCAGGACCTGCATGACCACTGC TCAAGGAACCTCAATGTATCCCTCCTGTTGCT GCACCAAACCTTCAGATGGAAATTGCACCTG CATTCCCATCCCATCATCCTGGGCTTTTGGAA AATTCCTTTGGGAGTGGGCCTCAGCCAGATT CTCCTGGCTCAGTTTGCTGGTGCCATTTGTTT AGTGGTTTGTGTTGGGCTTTCCCCCACTGTTTGG CTTTCAGTGATTTGGATGATGTGGTATTGGG GGCCAAGTCTGTACAGCATCTTGAGTCCCTT TTTGCCTCTGTTGCCAATTTTCTTTTGTCTTTG GGTCTACATTTAAAGAACAGCGCCTCCCTGA CTCTCCACCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGG GAGGCCCAGAGGGTCTTAGAGTGTACACAACA TTTGGGCCTCTAAAAATTAGGTCATGTGGCA GAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCTGGGAG CCTTGCTTTGGAGGCGCTTTCAAAAATGATG CAGTCCATGAGTGCACAGTGCGGGGTGATCT CTTTCTTCTTTTGTCCCTTACTATTCCAGTAT GCATCTTACACAACCAGCCATATTTGTCCCA CACTTTATCTTCATACTCCCTCGAAGCTTCCC TGGTCATTTCAACATCGATAAGCTTAATGTC CTTCCTATTTTGTGAGTCCAGAAGCTTTCTGA TGTCATCGGAGCCTTGACAGCTTAGAACCAT CCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAG GTCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAGGTCGG CAAGATCCATGCCGTGTGAGTACTTGGAATC TTGCTTGAATTGTTTTTGATCAACGGGTTCCC TGTAAGAGTGTATGAACTGCCCGTTCTGTGG TTGGAAAATTGCTATTTCCACTGGATCATTA

[0590]

		AATCTACCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAG CGTTGGGGTCAATTCCTCCCATGAGGTCTTTT AAAAGCATTGTCTGGCTGTAGCTTAAGCCCA CCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCGCTGG CCTGGGTGAGTTGACTGCAGGTTTCTCGCTT GTGAGATCAATTGTTGTGTTTTCCCATGCTCT CCCCACAATCGATGTTCTACAAGCTATGTAT GGCCATCCTTCACCTGAAAGGCAAACCTTTAT AGAGGATGTTTTCATAAGGGTTCCTGTCCCC AACTTGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTT CTCTTGGCCCCGAGAACTGCCTTCAAGAGAT CCTCGCTGTTGCTTGGCTTGATCAAAATTGAC TCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGGCTG CCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACTAAA GTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGACTGC TGTTCAGTGATGACCCCCAGAAGTGGGTGCT TGTCTTTCAGCCTTCAAGATCATTAAAGATTT GGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGCCAAGGT CTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGG AGTCTGTGACTGTTTGGCCATACAAGCCATA GTTAGACTTGGCATTGTGCCAAATTGATTGTT CAAAAGTGATGAGTCTTTCACATCCCAAAC CTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAGGCT TTCTCATCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGAT CTTTGGTCTAGTTGCTGTGTTGTTAAGTTCCC CATATATACCCCTGAAGCCTGGGGCCTTTCA GACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCTCAAG GTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTGCA CTGAGCCTCCCCACTTTCAAAACATTCTTCTT TGATGTTGACTTTAAATCCACAAGAGAATGT ACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTCTCTGTA GGTCTTTGTCATCTCTCTTTTCCTTCCTCATG ATCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGT CCAACCCATTGAGAAGGTTGGTTGCATCCTT AATGACAGCAGCCTTCACATCTGATGTGAAG CTCTGCAATTCTCTTCTCAATGCTTGCCTCCA TTGGAAGCTCTTAACTTCCTTAGACAAGGAC ATCTTGTTGCTCAATGGTTTCTCAAGACAAAT GCGCAATCAAATGCCTAGGATCCACTGTGCG
7	淋巴细胞性脉络丛脑 膜炎病毒克隆 13 片段 L, 全序列 (GenBank : DQ361066.1) (基因 组片段是 RNA, SEQ ID NO: 7 中的序列显 示为 DNA; 然而, 将 SEQ ID NO: 7 中的全 部胸腺嘧啶核苷 (“T	GCGCACCGGGGATCCTAGGCGTTTAGTTGCG CTGTTTGGTTGCACAACCTTCTTCGTGAGGCT GTCAGAAAGTGGACCTGGCTGATAGCGATGGG TCAAGGCAAGTCCAGAGAGGAGAAAGGCAC CAATAGTACAAACAGGGCCGAAATCCTACCA GATACCACCTATCTTGGCCCTTTAAGCTGCA AATCTTGCTGGCAGAAATTTGACAGCTTGGT AAGATGCCATGACCACTACCTTTGCAGGCAC TGTTTAAACCTTCTGCTGTCAGTATCCGACAG GTGTCCTCTTGTAAATATCCATTACCAACCA GATTGAAGATATCAACAGCCCCAAGCTCTCC ACCTCCCTACGAAGAGTAACACCGTCCGCC



[0591]

” ) 替换为尿嘧啶 ( “U” ) 提供了 RNA 序列)

CCGGCCCCGACAAACAGCCCAGCACAAGGG  
 AACCGCACGTCaCCCAACGCACACAGACACA  
 GCACCCAACACAGAACACGCACACACACAC  
 ACACACACACCCACACGCACGCGCCCCCACC  
 ACCGGGGGGCGCCCCCCCCCGGGGGGCGGC  
 CCCCCGGGAGCCCCGGGCGGAGCCCCACGGA  
 GATGCCCATCAGTCGATGTCCTCGGCCACCG  
 ACCCGCCcAGCCAATCGTCGCAGGACCTCCC  
 CTTGAGTCTAAACCTGCCCCCCACTgTTTCAT  
 ACATCAAAGTGCTCCTAGATTTGCTAAAACA  
 AAGTCTGCAATCCTTAAAGGCGAACCAGTCT  
 GGCAAAAGCGACAGTGGAATCAGCAGAATA  
 GATCTGTCTATACATAGTTCCTGGAGGATTA  
 CACTTATCTCTGAACCCAACAAATGTTCAAC  
 AGTTCTGAATCGATGCAGGAAGAGGTTCCCA  
 AGGACATCACTAATCTTTTCATAGCCCTCAA  
 GTCCTGCTAGAAAGACTTTTCATGTCCTTGGTC  
 TCCAGCTTCACAATGATATTTTGGACAAGGT  
 TTCTTCCTTCAAAAAGGGCACCCATCTTTACA  
 GTCAGTGGCACAGGCTCCCACTCAGGTCCAA  
 CTCTCTCAAAGTCAATAGATCTAATCCCATC  
 CAGTATTCTTTTGGAGCCCAACAACCTCAAGC  
 TCAAGAGAATCACCAAGTATCAAGGGATCTT  
 CCATGTAATCCTCAAACCTCTTCAGATCTGAT  
 ATCAAAGACACCATCGTTTACCTTGAAGACA  
 GAGTCTGTCCTCAGTAAGTGGAGGCATTTCAT  
 CCAACATTCTTCTATCTATCTCACCCTTAAAG  
 AGGTGAGAGCATGATAAAAGTTCAGCCACA  
 CCTGGATTCTGTAATTGGCACCTAACCAAGA  
 ATATCAATGAAAATTTCTTAAACAGTCAGT  
 ATTATTCTGATTGTGCGTAAAGTCCACTGAA  
 ATTGAAAACCTCCAATACCCCTTTTGTGTAGTT  
 GAGCATGTAGTCCACAGATCCTTTAAGGAT  
 TTAAATGCCTTTGGGTTTGTGTCAGGCCCTGCCT  
 AATCAACATGGCAGCATTACACACAACATCT  
 CCCATTGCGTAAGAGAACCACCCAAAACCAA  
 ACTGCAAATCATTCTTAAACATAGGCCTCTC  
 CACATTTTTGTTTACCACCTTTGAGACAAATG  
 ATTGAAAGGGGCCAGTGCCTCAGCACCATC  
 TTCAGATGGCATCATTTCTTTATGAGGGAAC  
 CATGAAAAATTGCCTAATGTCCTGGTTGTTG  
 CAACAAATTCTCGAACAAATGATTCAAAATA  
 CACCTGTTTTAAGAAGTTCTTGCAGACATCC  
 CTCGTGCTAACAACAAATTCATCAACCAGAC  
 TGGAGTCAGATCGCTGATGAGAATTGGCAAG  
 GTCAGAAAACAGAACAGTGTAATGTTTCATCC  
 CTTTCCACTTAACAACATGAGAAATGAGTG  
 ACAAGGATTCTGAGTTAATATCAATTAAC  
 ACAGAGGTCAAGGAATTTAATTCTGGGACTC  
 CACCTCATGTTTTTTGAGCTCATGTCAGACAT  
 AAATGGAAGAAGCTGATCCTCAAAGATCTTG



[0592]

GGATATAGCCGCCTCACAGATTGAATCACTT  
GGTTCAAATTCACCTTGTCTCCAGTAGCCTT  
GAGCTCTCAGGCTTTCTTGCTACATAATCAC  
ATGGGTTTAAGTGCTTAAGAGTTAGGTTCTC  
ACTGTTATTCTTCCCTTTGGTCGGTTCTGCTA  
GGACCCAAACACCCAACTCAAAAGAGTTGCT  
CAATGAAATACAAATGTAGTCCCAAAGAAG  
AGGCCTTAAAAGGCATATATGATCACGGTGG  
GCTTCTGGATGAGACTGTTTGTCAAAATGT  
ACAGCGTTATACCATCCCGATTGCAAACCTCT  
TGTCACATGATCATCTGTGGTTAGATCCTCA  
AGCAGCTTTTTGATATACAGATTTTCCCTATT  
TTTGTCTCTCACACACCTGCTTCCTAGAGTTT  
TGCAAAGGCCTATAAAGCCAGATGAGATAC  
AACTCTGGAAAGCTGACTTGTTGATTGCTTCT  
GACAGCAGCTTCTGTGCACCCCTTGTGAATT  
TACTACAAAGTTTGTCTGGAGTGTCTTGATC  
AATGATGGGATTCTTTCCTCTTGGAAGTCA  
TCACTGATGGATAAACCACCTTTTGTCTTAA  
AACCATCCTTAATGGGAACATTTTATTCAAA  
TTCAACCAGTTAACATCTGCTAACTGATTCA  
GATCTTCTTCAAGACCGAGGAGGTCTCCCAA  
TTGAAGAATGGCCTCCiTTTTATCTCTGTAA  
ATAGGTCTAAGAAAAATTCTTCATTAAATTC  
ACCATTTTTGAGCTTATGATGCAGTTTCCTTA  
CAAGCTTTCTTACAACCTTTGTTTCATTAGGA  
CACAGTTCCTCAATGAGTCTTTGTATTCTGTA  
ACCTCTAGAACCATCCAGCCAATCTTTCACA  
TCAGTGTTGGTATTCAGTAGAAATGGATCCA  
AAGGGAAATTGGCATACTTTAGGAGGTCCAG  
TGTTCTCCTTTGGATACTATTAAGTAGGGAG  
ACTGGGACGCCATTTGCGATGGCTTGATCTG  
CAATTGTATCTATTGTTTCACAAAGTTGATGT  
GGCTCTTTACACTTGACATTGTGTAGCGCTGC  
AGATACAACTTTGTGAGAAGAGGGACTTCC  
TCCCCCATACATAGAATCTAGATTTAAATT  
CTGCAGCGAACCTCCCAGCCACACTTTTTGG  
GCTGATAAATTTGTTTAAACAAGCCGCTCAGA  
TGAGATTGGAATTCCAACAGGACAAGGACTT  
CCTCCGGATCACTTACAACCAGGTCACTCAG  
CCTCCTATCAAATAAAGTGATCTGATCATCA  
CTTGATGTGTAAGCCTCTGGTCTTTTCGCCAA  
GATAACACCAATGCAGTAGTTGATGAACCTC  
TCGCTAAGCAAACCATAGAAGTCAGAAGCAT  
TATGCAAGATTCCCTGCCCCATATCAATAAG  
GCTGGATATATGGGATGGCACTATCCCCATT  
TCAAAATATTGTCTGAAAATTCTCTCAGTAA  
CAGTTGTTTCTGAACCCCTGAGAAGTTTTAG  
CTTCGACTTGACATATGATTTTCATCATTGCAT  
TCACAACAGGAAAGGGGACCTCGACAAGCT  
TATGCATGTGCCAAGTTAACAAAGTGCTAAC

[0593]

ATGATCTTTCCCGGAACGCACATACTGGTCA  
TCACCTAGTTTGTAGATTGTTGTAGAAACATTA  
AGAACAAAAATGGGCACATCATTGGTCCCCA  
TTTGCTGTGATCCATACTATAGTTTAAGAACC  
CTTCCCGCACATTGATAGTCATTGACAAGAT  
TGCATTTTCAAATTCCTTATCATTGTTTAAAC  
AGGAGCCTGAAAAGAACTTGAAAAAGACT  
CAAAATAATCTTCTATTAACCTTGTGAACATT  
TTTGTCCCTCAAATCTCCAATATAGAGTTCTCT  
ATTTCCCCCAACCTGCTCTTTATAAGATAGTG  
CAAATTTTCAGCCTTCCAGAGTCAGGACCTAC  
TGAGGTGTATGATGTTGGTGATTCTTCTGAGT  
AGAAGCACAGATTTTTCAAAGCAGCACTCAT  
ACATTgTGTCAACGACAGAGCTTTACTAAGG  
GACTCAGAATTACTTTCCCTCTCACTGATTCT  
CACGTCTTCTTCCAGTTTGTCCCAGTCAAATT  
TGAAATTCAAGCCTTGCCCTTGCATATGCCTG  
TATTTCCCTGAGTACGCATTTGCATTCAATTG  
CAACAGAATCATCTTCATGCAAGAAAACCAA  
TCATTCTCAGAAAAGAACTTTCTACAAAGGT  
TTTTTGCCATCTCATCGAGGCCACACTGATCT  
TTAATGACTGAGGTGAAATACAAAGGTGACA  
GCTCTGTGGAACCCTCAACAGCCTCACAGAT  
AAATTTTCATGTCATCATTGGTTAGACATGAT  
GGGTCAAAGTCTTCTACTAAATGGAAAGATA  
TTTCTGACAAGATAACTTTTCTTAAGTGAGCC  
ATCTTCCCTGTTAGAATAAGCTGTAAATGAT  
GTAGTCCTTTTGTATTTGTAAGTTTTTCTCCA  
TCTCCTTTGTCAATTGGCCCTCCTACCTCTTCT  
GTACCGTGCTATTGTGGTGTTGACCTTTTCTT  
CGAGACTTTTGAAGAAGCTTGTCTCTTCTTCT  
CCATCAAAACATATTTCTGCCAGGTTGTCTTC  
CGATCTCCCTGTCTCTTCTCCCTTGGAACCGA  
TGACCAATCTAGAGACTAACTTGGAACCTTT  
ATATTCATAGTCTGAGTGGCTCAACTTATACT  
TTTGTTTTCTTACGAACTCTCCGTAATTTGA  
CTCACAGCACTAACAAGCAATTTGTTAAAGT  
CATATTCCAGAAGTCGTTCTCCATTTAGATGC  
TTATTAACCACCACACTTTTGTACTAGCAAG  
ATCTAATGCTGTCGCACATCCAGAGTTAGTC  
ATGGGATCTAGGCTGTTTAGCTTCTTCTCTCC  
TTTGAAAATTAAAGTGCCGTTGTTAAATGAA  
GACACCATTAGGCTAAAGGCTTCCAGATTAA  
CACCTGGAGTTGTATGCTGACAGTCAATTTCT  
TTTACTAGTGAATCTCTTCATTTGCTCATAGA  
ACACACATTCTTCCCTCAGGAGTGATTGCTTCC  
TTGGGGTTGACAAAAAAACCAAATTGACTTT  
TGGGCTCAAAGAACTTTTCAAAACATTTTAT  
CTGATCTGTTAGCCTGTCAGGGGTCTCCTTTG  
TGATCAAATGACACAGGTATGACACATTCAA  
CATAAATTTAAATTTTGCCTCAACAACACC

[0594]

TTCTCACCAGTACCAAAAATAGTTTTATTAG  
GAATCTAAGCAGCTTATACACCACCTTCTCA  
GCAGGTGTGATCAGATCCTCCCTCAACTTAT  
CCATTAATGATGTAGATGAAAAATCTGACAC  
TATTGCCATCACCAAATATCTGACACTCTGT  
ACCTGCTTTTGATTTCTCTTTGTTGGGTTGGT  
GAGCATTAGCAACAATAGGGTCCTCAGTGCA  
ACCTCAATGTCGGTGAGACAGTCTTTCAAAT  
CAGGACATGATCTAATCCATGAAATCATGAT  
GTCTATCATATTGTATAAGACCTCATCTGAA  
AAAATTGGTAAAAAGAACCCTTTTAGGATCTG  
CATAGAAGGAAATTAAATGACCATCCGGGCC  
TTGTATGGAGTAGCACCTTGAAGATTCTCCA  
GTCTTCTGGTATAATAGGTGGTATTCTTCAGA  
GTCCAGTTTTATTACTTGGCAAAACACTTCTT  
TGCATTCTACCACTTGATATCTCACAGACCT  
ATTTGATTTTGCCTTAGTCTAGCAACTGAGCT  
AGTTTTCATACTGTTTGTTAAGGCCAGACAA  
ACAGATGATAATCTTCTCAGGCTCTGTATGTT  
CTTCAGCTGCTCTGTGCTGGGTTGGAAATTGT  
AATCTTCAAACCTTCGTATAATACATTATCGG  
GTGAGCTCCAATTTTCATAAAGTTCTCAAATT  
CAGTGAATGGTATGTGGCATTCTTGCTCAAG  
GTGTTTCAGACAGTCCGTAATGCTCGAACTC  
AGTCCCACCACTAACAGGCATTTTTGAATTT  
TGCAATGAACTCACTAATAGAtGCCCTAAAC  
AATTCCTCAAAAGACACCTTTCTAAACACCT  
TTGACTTTTTTCTATTCTCAAAAGTCTAATG  
AACTCCTCTTTAGTGCTGTGAAAGCTTACCA  
GCCTATCATTCACTACTATAGCAACAACC  
CACCCAGTGTTTATCATTTTTTAACCCTTTGA  
ATTTGACTGTTTTATCAATGAGGAAAGACA  
CAAAACATCCAGATTAAACAACGTCTCCTT  
CTAGTATTCAACAGTTTCAAACCTTTGACTTT  
GTTTAACATAGAGAGGAGCCTCTCATATTCA  
GTGCTAGTCTCACTTCCCCTTTTCGTGCCCATG  
GGTCTCTGCAGTTATGAATCTCATCAAAGGA  
CAGGATTCGACTGCCTCCCTGCTTAATGTTA  
AGATATCATCACTATCAGCAAGGTTTTTCATA  
GAGCTCAGAGAATTCCTTGATCAAGCCTTCA  
GGGTTTACTTTCTGAAAGTTTCTCTTTAATTT  
CCCACCTTTCTAAATCTCTTCTAAACCTGCTGA  
AAAGAGAGTTTATTCCAAAAACCACATCATC  
ACAGCTCATGTTGGGGTTGATGCCTTCGTGG  
CACATCCTCATAATTTTCATCATTGTGAGTTGA  
CCTCGCATCTTTCAGAATTTTCATAGAGTCCA  
TACCGGAGCGCTTGTCGATAGTAGTCTTCAG  
GGACTCACAGAGTCTAAAATATTCAGACTCT  
TCAAAGACTTTCTCATTTTGGTTAGAATACTC  
CAAAAGTTTGAATAAAAGGTCTCTAAATTTG  
AAGTTTGCCCACTCTGGCATAAAACTATTAT

[0595]

		CATAATCACAACGACCATCTACTATTGGAAC TAATGTGACACCCGCAACAGCAAGGTCTTCC CTGATGCATGCCAATTTGTTAGTGTCTCTAT AAATTTCTTCTCAAACTGGCTGGaGtGCTCC TAACAAAACACTCAAGAAGAATGAGAGAAT TGTCTATCAGCTTGTAACCATCAGGAATGAT AAGTGGTAGTCCTGGGCATACAATTCCAGAC TCCACCAAAATTGTTTCCACAGACTTATCGTC GTGGTTGTGTGTGCAGCCACTCTTGTCTGCAC TGTCTATTTCAATGCAGCGTGACAGCAACTT GAGTCCCTCAATCAGAACCATTCTGGGTTCC CTTTGTCCCAGAAAGTTGAGTTTCTGCCTTGA CAACCTCTCATCCTGTTCTATATAGTTTAAAC ATAACCTCTCAATTCTGAGATGATTTTCATCC ATTGCGCATCAAAAAGCCTAGGATCCTCGGT GCG
8	HBV HBs 蛋白衍生的 表位的氨基酸序列	VWLSVIWM
9	HBV HBs 蛋白衍生的 表位的氨基酸序列	IPQSLDSWWTSL
10	HBV HBc 蛋白衍生的 表位的氨基酸序列	MGLKFRQL
11	淋巴细胞性脉络丛脑 膜炎病毒片段 S，全序 列(基因组片段是 RNA ，SEQ ID NO: 11 中 的序列显示为 DNA； 然而，将 SEQ ID NO ：11 中的全部胸腺嘧 啶核苷（“T”）替换 为尿嘧啶（“U”）提 供了 RNA 序列)	CGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGC GCTTTCCTC TAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTAC AGAAGGATG GGTCAGATTGTGACAATGTTTGAGGCTCTGC CTCACATCA TCGATGAGGTGATCAACATTGTCATTATTGT GCTTATCGT GATCACGGGTATCAAGGCTGTCTACAATTTT GCCACCTGT GGGATATTCGCATTGATCAGTTTCCTACTTCT GGCTGGCA GGTCCTGTGGCATGTACGGTCTTAAGGGACC CGACATTTA CAAAGGAGTTTACCAATTTAAGTCAGTGGAG TTTGATATG TCACATCTGAACCTGACCATGCCCAACGCAT GTTCAGCCA ACAACTCCCACCATTACATCAGTATGGGGAC TTCTGGACT AGAATTGACCTTCACCAATGATTCCATCATC AGTCACAAC TTTTGCAATCTGACCTCTGCCTTCAACAAAA AGACCTTTG ACCACACACTCATGAGTATAGTTTCGAGCCT

[0596]

ACACCTCAG  
 TATCAGAGGGAAGTCCAAGTATAAGGCAGTA  
 TCCTGCGAC  
 TTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAAGT  
 TGACATTCT  
 CAGATCGACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTAG  
 AACCTTCAG  
 AGGTAGAGTCCTAGATATGTTTAGAAGTGGC  
 TTCGGGGGG  
 AAATACATGAGGAGTGGCTGGGGCTGGACA  
 GGCTCAGATG  
 GCAAGACCACCTGGTGTAGCCAGACGAGTTA  
 CCAATACCT  
 GATTATACAAAATAGAACCTGGGAAAACCA  
 CTGCACATAT  
 GCAGGTCCTTTTGGGATGTCCAGGATTCTCCT  
 TTCCAAG  
 AGAAGACTAAGTTCTTCACTAGGAGACTAGC  
 GGGCACATT  
 CACCTGGACTTTGTCAGACTCTTCAGGGGTG  
 GAGAATCCA  
 GGTGGTTATTGCCTGACCAAATGGATGATTC  
 TTGCTGCAG  
 AGCTTAAGTGTTTCGGGAACACAGCAGTTGC  
 GAAATGCAA  
 TGTAATCATGATGCCGAATTCTGTGACATG  
 CTGCGACTA  
 ATTGACTACAACAAGGCTGCTTTGAGTAAGT  
 TCAAAGAGG  
 ACGTAGAATCTGCCTTGCACTTATTCAAAC  
 AACAGTGAA  
 TTCTTTGATTTCAGATCAACTACTGATGAGG  
 AACCACTG  
 AGAGATCTGATGGGGGTGCCATATTGCAATT  
 ACTCAAAGT  
 TTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGGCGA  
 AACTAGTGT  
 CCCCAAGTGCTGGCTTGTCACCAATGGTTCTT  
 ACTTAAAT  
 GAGACCCACTTCAGTGATCAAATCGAACAGG  
 AAGCCGATA  
 ACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATTA  
 CATAAAGAG  
 GCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGAC  
 CTTCTGATG  
 TTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCTT  
 CCTGCACC  
 TTGTCAAATACCAACACACAGGCACATAAA  
 AGGTGGCTC  
 ATGTCCAAAGCCACACCGATTAACCAACAAA  
 GGAATTTGT

[0597]

AGTTGTGGTGCATTTAAGGTGCCTGGTGTA  
AAACCGTCT  
GGAAAAGACGCTGAAGAACAGCGCCTCCCT  
GACTCTCCAC  
CTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCC  
AGAGGGTCTT  
AGAGTGTCAACAACATTTGGGCCTCTAAAAAT  
TAGGTCATG  
TGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCT  
GGGAGCCTT  
GCTTTGGAGGCGCTTTCAAAAATGATGCAGT  
CCATGAGTG  
CACAGTGCGGGGTGATCTCTTTCTTTTGTG  
TCCCTTAC  
TATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCA  
TATTGTCC  
CACACTTTGTCTTCATACTCCCTCGAAGCTTC  
CCTGGTCA  
TTTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTTCCTA  
TTCTGTGA  
GTCCAGAAGCTTTCTGATGTCATCGGAGCCT  
TGACAGCTT  
AGAACCATCCCCTGCGGAAGAGCACCTATAA  
CTGACGAGG  
TCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAGGTGCGC  
AAGATCCAT  
GCCGTGTGAGTACTTGAATCTTGCTTGAAT  
TGTTTTTGA  
TCAACGGGTTCCCTGTAAAAGTGTATGAACT  
GCCCCGTTCT  
GTGGTTGGAAAATTGCTATTTCCACTGGATC  
ATTAAATCT  
ACCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTG  
GGGTCAATT  
CCTCCCATGAGGTCTTTTAAAAGCATTGTCTG  
GCTGTAGC  
TTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCC  
AGGCGCTGG  
CCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTTCTCGCTT  
GTGAGATCA  
ATTGTTGTGTTTTCCCATGCTCTCCCCACAAT  
CGATGTTC  
TACAAGCTATGTATGGCCATCCTTCACCTGA  
AAGGCAAAC  
TTTATAGAGGATGTTTTTCATAAGGGTTCCTGT  
CCCCAACT  
TGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTTCTCTT  
GGCCCCGA  
GAACTGCCTTCAAGAGGTCCTCGCTGTTGCT  
TGGCTTGAT  
CAAAATTGACTCTAACATGTTACCCCCATCC

[0598]

		AACAGGGCT GCCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACTAA AGTTATAGC CAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTCACT GATGACCCC CAGAACTGGGTGCTTGTCTTTCAGCCTTTCAA GATCATT AGATTTGGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGC CAAGGTCTG TGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAGT CTGTGACTG TTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTGGC ATTGTGCCA AATTGATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTTCA CATCCCCAA CTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAGG CTTTCTCAT CCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTTGG TCTAGTTGC TGTGTTGTTAAGTTCCCATATATACCCCTGA AGCCTGGG GCCTTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGC TTCTCAAG GTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTGCA CTGAGCCTC CCCACCTTTCAAAACATTCTTCTTTGATGTTGA CTTTAAAT CCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACT TCTGAGTCT CTGTAGGTCTTTGTCATCTCTCTTTTCCTTCCT CATGATC CTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCA ACCCATTCA GAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGC CTTCACATC TGATGTGAAGCTCTGCAATTCTTCTCAATG CTTGCGTC CATTGGAAGCTCTTAACTTCCTTAGACAAGG ACATCTTGT TGCTCAATGGTTTCTCAAGACAAATGCGCAA TCAAATGCC TAGGATCCACTGTGCG
12	淋巴细胞性脉络丛脑 膜炎病毒克隆 13 片段 S, 全序列 (GenBank : DQ361065.2) (基因 组片段是 RNA, SEQ ID NO: 12 中的序列显 示为 DNA; 然而, 将	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTG CGCTTTCCT CTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTA CAGAAGGAT GGGTCAGATTGTGACAATGTTTGAGGCTCTG CCTCACATC ATCGATGAGGTGATCAACATTGTCATTATTG TGCTTATCG TGATCACGGGTATCAAGGCTGTCTACAATT

[0599]

SEQ ID NO: 12 中的全部胸腺嘧啶核苷 (“T”) 替换为尿嘧啶 (“U”) 提供了 RNA 序列)	TGCCACCTG TGGGATATTCGCATTGATCAGTTTCCTACTTC TGGCTGGC AGGTCCTGTGGCATGTACGGTCTTAAGGGAC CCGACATTT ACAAAGGAGTTTACCAATTTAAGTCAGTGGA GTTTGATAT GTCACATCTGAACCTGACCATGCCCAACGCA TGTTTCAGCC AACAACTCCCACCATTACATCAGTATGGGGA CTTCTGGAC TAGAATTGACCTTCACCAATGATTCCATCAT CAGTCACAA CTTTTGCAATCTGACCTCTGCCTTCAACAAAA AGACCTTT GACCACACACTCATGAGTATAGTTTCGAGCC TACACCTCA GTATCAGAGGGAAGTCCAAGTATAAGGCAGT ATCCTGCGA CTTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAAC TTGACATTC TCAGATGCACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTA GAACCTTCA GAGGTAGAGTCCTAGATATGTTTAGAACTGC CTTCGGGGG GAAATACATGAGGAGTGGCTGGGGCTGGAC AGGCTCAGAT GGCAAGACCACCTGGTGTAGCCAGACGAGTT ACCAATACC TGATTATACAAAATAGAACCTGGGAAAACCA CTGCACATA TGCAGGTCCTTTTGGGATGTCCAGGATTCTCC TTTCCCAA GAGAAGACTAAGTTCCTCACTAGGAGACTAG CGGGCACAT TCACCTGGACTTTGTCAGACTCTTCAGGGGT GGAGAATCC AGGTGGTTATTGCCTGACCAAATGGATGATT CTTGCTGCA GAGCTTAAGTGTTTCGGGAACACAGCAGTTG CGAAATGCA ATGTAAATCATGATGAAGAATTCTGTGACAT GCTGCGACT AATTGACTACAACAAGGCTGCTTTGAGTAAG TTCAAAGAG GACGTAGAATCTGCCTTGCACTTATTCAAAA CAACAGTGA ATTCTTTGATTCAGATCAACTACTGATGAG GAACCACTT GAGAGATCTGATGGGGGTGCCATATTGCAAT TACTCAAAG
---	---



[0600]

TTTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGGCG  
AAACTAGTG  
TCCCAAGTGCTGGCTTGTACCAATGGTTCT  
TACTTAAA  
TGAGACCCACTTCAGTGACCAAATCGAACAG  
GAAGCCGAT  
AACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATT  
ACATAAAGA  
GGCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGA  
CCTTCTGAT  
GTTTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCT  
TCCTGCAC  
CTTGTCAAAATACCAACACACAGGCACATAA  
AAGGTGGCT  
CATGTCCAAAGCCACACCGATTAACCAACAA  
AGGAATTTG  
TAGTTGTGGTGCATTTAAGGTGCCTGGTGTA  
AAAACCGTC  
TGGAAGAGACGCTGAAGAACAGCGCCTCCCT  
GACTCTCCA  
CCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCC  
CAGAGGGTCT  
TAGAGTGTCAACATTTGGGCCTCTAAAAA  
TTAGGTCAT  
GTGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATC  
TGGGAGCCT  
TGCTTTGGAGGCGCTTTCAAAAATGATGCAG  
TCCATGAGT  
GCACAGTGCGGGGTGATCTCTTTCTTCTTTT  
GTCCCTTA  
CTATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCC  
ATATTTGTC  
CCACACTTTGTCTTCATACTCCCTCGAAGCTT  
CCCTGGTC  
ATTTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTTCCT  
ATTCTGTG  
AGTCCAGAAGCTTTCTGATGTCATCGGAGCC  
TTGACAGCT  
TAGAACCATCCCCTGCGGAAGAGCACCTATA  
ACTGACGAG  
GTCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAGGTCGG  
CAAGATCCA  
TGCCGTGTGAGTACTTGGAATCTTGCTTGAA  
TTGTTTTG  
ATCAACGGGTTCCCTGTAAAAGTGTATGAAC  
TGCCCGTTC  
TGTGGTTGGAATAATTGCTATTTCCTGGAT  
CATTAAATC  
TACCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTT  
GGGTCAAT  
TCCTCCCATGAGGTCTTTTAAAAGCATTGTCT

[0601]

GGCTGTAG  
 CTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTC  
 CAGGCGCTG  
 GCCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTTCTCGCT  
 TGTGAGATC  
 AATTGTTGTGTTTTCCCATGCTCTCCCCACAA  
 TCGATGTT  
 CTACAAGCTATGTATGGCCATCCTTCACCTG  
 AAAGGCAAA  
 CTTTATAGAGGATGTTTTTCATAAGGGTTCCTG  
 TCCCCAAC  
 TTGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTTCTCT  
 TGGCCCCG  
 AGAACTGCCTTCAAGAGGTCCTCGCTGTTGC  
 TTGGCTTGA  
 TCAAAATTGACTCTAACATGTTACCCCCATC  
 CAACAGGGC  
 TGCCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACTA  
 AAGTTATAG  
 CCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTTCTCAG  
 TGATGACCC  
 CCAGAACTGGGTGCTTGTCTTTCAGCCTTTCA  
 AGATCATT  
 AAGATTTGGATACTTGACTGTGTAAAGCAAG  
 CCAAGGTCT  
 GTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAG  
 TCTGTGACT  
 GTTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTGG  
 CATTGTGCC  
 AAATTGATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTTC  
 ACATCCCAA  
 ACTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAG  
 GCTTCTCA  
 TCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTTG  
 GTCTAGTTG  
 CTGTGTTGTTAAGTTCCCCATATATACCCCTG  
 AAGCCTGG  
 GGCCTTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAG  
 CTTCTCAA  
 GGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTGC  
 ACTGAGCCT  
 CCCCACTTTCAAAACATTCTTCTTTGATGTTG  
 ACTTTAAA  
 TCCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGAC  
 TTCTGAGTC  
 TCTGTAGGTCTTTGTCATCTCTCTTTTCCTTCC  
 TCATGAT  
 CCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCC  
 AACCCATTC  
 AGAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAG  
 CCTTCACAT

[0602]

		CTGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTTCTCAAT GCTTGCGT CCATTGGAAGCTCTTAACCTCCTTAGACAAG GACATCTTG TTGCTCAATGGTTTCTCAAGACAAATGCGCA ATCAAATGC CTAGGATCCACTGTGCG
13	淋巴细胞性脉络丛脑 膜炎毒株 MP 片段 L, 全序列 (基因组片段是 RNA, SEQ ID NO: 13 中的序列显示为 DNA; 然而, 将 SEQ ID NO: 13 中的全部胸 腺嘧啶核苷 (“T”) 替换为尿嘧啶 (“U” ) 提供了 RNA 序列)	GCGCACCGGGGATCCTAGGCATTTTGTGTC GCATTTTGT TGTGTTATTTGTTGCACAGCCCTTCATCGTGG GACCTTCA CAAACAAACCAAACCACCAGCCATGGGCCA AGGCAAGTCC AAAGAGGGAAGGGATGCCAGCAATACGAGC AGAGCTGAAA TTCTGCCAGACACCACCTATCTCGGACCTCT GAACTGCAA GTCATGCTGGCAGAGATTTGACAGTTTAGTC AGATGCCAT GACCACTATCTCTGCAGACACTGCCTGAACC TCCTGCTGT CAGTCTCCGACAGGTGCCCTCTCTGCAAACA TCCATTGCC AACCAAACCTGAAAATATCCACGGCCCCAAGC TCTCCACCC CCTTACGAGGAGTGACGCCCCGAGCCCCAAC ACCGACACA AGGAGGCCACCAACACAACGCCCAACACGG AACACACACA CACACACCCACACACACATCCACACACACGC GCCCCACA ACGGGGGCGCCCCCGGGGGTGGCCCCCGG GGTGCTCGG GCGGAGCCCCACGGAGAGGCCAATTAGTCG ATCTCCTCGA CCACCGACTTGGTCAGCCAGTCATCACAGGA CTTGCCCTT AAGTCTGTACTTGCCACAACCTGTTTCATAC ATCACCGTG TTCTTTGACTTACTGAAACATAGCCTACAGTC TTTGAAAG TGAACCAGTCAGGCACAAGTGACAGCGGTA CCAGTAGAAT GGATCTATCTATACACAACCTCTTGGAGAATT GTGCTAATT TCCGACCCCTGTAGATGCTCACCAGTTCTGA ATCGATGTA GAAGAAGGCTCCCAAGGACGTCATCAAAATT TCCATAACC CTCGAGCTCTGCCAAGAAAACCTCTCATATCC TTGGTCTCC

[0603]

AGTTTCACAACGATGTTCTGAACAAGGCTTC  
TTCCCTCAA  
AAAGAGCACCCATTCTCACAGTCAAGGGCAC  
AGGCTCCCA  
TTCAGGCCCAATCCTCTCAAAATCAAGGGAT  
CTGATCCCG  
TCCAGTATTTTCCTTGAGCCTATCAGCTCAAG  
CTCAAGAG  
AGTCACCGAGTATCAGGGGGTCCTCCATATA  
GTCCTCAAA  
CTCTTCAGACCTAATGTCAAAAACACCATCG  
TTCACCTTG  
AAGATAGAGTCTGATCTCAACAGGTGGAGGC  
ATTCGTCCA  
AGAACCTTCTGTCCACCTCACCTTTAAAGAG  
GTGAGAGCA  
TGATAGGAACTCAGCTACACCTGGACCTTGT  
AACTGGCAC  
TTCATAAAAAGATCAATGAAAACCTTCCTCA  
AACAAATCAG  
TGTTATTCTGGTTGTGAGTGAAATCTACTGTA  
ATTGAGAA  
CTCTAGCACTCCCTCTGTATTATTTATCATGT  
AATCCAC  
AAGTTTCTCAAAGACTTGAATGCCTTTGGAT  
TTGTCAAGC  
CTTGTTTGATTAGCATGGCAGCATTGCACAC  
AATATCTCC  
CAATCGGTAAGAGAACCATCCAAATCCAAAT  
TGCAAGTCA  
TTCCTAAACATGGGCCTCTCCATATTTTTGTT  
CACTACTT  
TTAAGATGAATGATTGGAAAGGCCCAATGC  
TTCAGCGCC  
ATCTTCAGATGGCATCATGTCTTTATGAGGG  
AACCATGAA  
AAACTTCCTAGAGTTCTGCTTGTTGCTACAA  
ATTCTCGTA  
CAAATGACTCAAAATACACTTGTTTTAAAAA  
GTTTTTGCA  
GACATCCCTTGTAATAACGACAAATTCATCA  
ACAAGGCTT  
GAGTCAGAGCGCTGATGGGAATTTACAAGAT  
CAGAAAATA  
GAACAGTGTAGTGTTTCGTCCCTCTTCCACTTA  
ACTACATG  
AGAAATGAGCGATAAAGATTCTGAATTGATA  
TCGATCAAT  
ACGCAAAGGTCAAGGAATTTGATTCTGGGAC  
TCCATCTCA  
TGTTTTTTGAGCTCATATCAGACATGAAGGG

[0604]

AAGCAGCTG  
ATCTTCATAGATTTTAGGGTACAATCGCCTC  
ACAGATTGG  
ATTACATGGTTTAAACTTATCTTGTCTCCAG  
TAGCCTTG  
AACTCTCAGGCTTCCTTGCTACATAATCACAT  
GGGTTCAA  
GTGCTTGAGGCTTGAGCTTCCCTCATTCTTCC  
CTTTCACA  
GGTTCAGCTAAGACCCAAACACCCAACTCAA  
AGGAATTAC  
TCAGTGAGATGCAAATATAGTCCCAAAGGAG  
GGGCCTCAA  
GAGACTGATGTGGTCGCAGTGAGCTTCTGGA  
TGACTTTGC  
CTGTCACAAATGTACAACATTATGCCATCAT  
GTCTGTGGA  
TTGCTGTCACATGCGCATCCATAGCTAGATC  
CTCAAGCAC  
TTTTCTAATGTATAGATTGTCCCTATTTTTAT  
TTCTCACA  
CATCTACTTCCCAAAGTTTTGCAAAGACCTA  
TAAAGCCTG  
ATGAGATGCAACTTTGAAAGGCTGACTTATT  
GATTGCTTC  
TGACAGCAACTTCTGTGCACCTCTTGGAAC  
TACTGCAG  
AGCTTGTTCTGGAGTGTCTTGATTAATGATG  
GGATTCTTT  
CCTCTTGAAAGTCATTACTGATGGATAAAC  
CACTTCTG  
CCTCAAGACCATTCTTAATGGGAACAACCTCA  
TTCAAATTC  
AGCCAATTTATGTTTGCCAATTGACTTAGATC  
CTCTTCGA  
GGCCAAGGATGTTTCCCAACTGAAGAATGGC  
TTCCTTTTT  
ATCCCTATTGAAGAGGTCTAAGAAGAATTCT  
TCATTGAAC  
TCACCATTCTTGAGCTTATGATGTAGTCTCCT  
TACAAGCC  
TTCTCATGACCTTCGTTTCACTAGGACACAAT  
TCTTCAAT  
AAGCCTTTGGATTCTGTAACCTCTAGAGCCA  
TCCAACCAA  
TCCTTGACATCAGTATTAGTGTTAAGCAAAA  
ATGGGTCCA  
AGGGAAAGTTGGCATATTTTAAGAGGTCTAA  
TGTTCTCTT  
CTGGATGCAGTTTACCAATGAACTGGAACA  
CCATTGCA

[0605]

ACAGCTTGATCGGCAATTGTATCTATTGTTTC  
 ACAGAGTT  
 GGTGTGGCTCTTTACACTTAACGTTGTGTAAT  
 GCTGCTGA  
 CACAAATTTTGTAAAAGTGGGACCTCTTCC  
 CCCACACA  
 TAAAATCTGGATTAAATTCTGCAGCAAATC  
 GCCCCACCA  
 CACTTTTCGGACTGATGAACTTGTTAAGCAA  
 GCCACTCAA  
 ATGAGAATGAAATTCCAGCAATACAAGGACT  
 TCCTCAGGG  
 TCACTATCAACCAGTTCCTCAATCTCCTATC  
 AAATAAGG  
 TGATCTGATCATCACTTGATGTGTAAGATTCT  
 GGTCTCTC  
 ACCAAAAATGACACCGATACAATAATTAATG  
 AATCTCTCA  
 CTGATTAAGCCGTAAAAGTCAGAGGCATTAT  
 GTAAGATTC  
 CCTGTCCCATGTCAATGAGACTGCTTATATG  
 GGAAGGCAC  
 TATTCCTAATTCAAAATATTCTCGAAAGATTC  
 TTTCAGTC  
 ACAGTTGTCTCTGAACCCCTAAGAAGTTTCA  
 GCTTTGATT  
 TGATATATGATTTTCATCATTGCATTACACAACA  
 GGAAAAGG  
 GACCTCAACAAGTTTGTGCATGTGCCAAGTT  
 AATAAGGTG  
 CTGATATGATCCTTTCCGGAACGCACATACT  
 GGTCAATCAC  
 CCAGTTTGAGATTTTGAAGGAGCATTAAAAA  
 CAAAAATGG  
 GCACATCATTGGCCCCCATTTGCTATGATCC  
 ATACTGTAG  
 TTCAACAACCCCTCTCGCACATTGATGGTCA  
 TTGATAGAA  
 TTGCATTTTCAAATTCTTTGTCATTGTTTAAG  
 CATGAACC  
 TGAGAAGAAGCTAGAAAAAGACTCAAAATA  
 ATCCTCTATC  
 AATCTTGTAACATTTTTGTTCTCAAATCCCC  
 AATATAAA  
 GTTCTCTGTTTCCTCCAACCTGCTCTTTGTAT  
 GATAACGC  
 AACTTCAACCTCCGGAATCAGGACCAACT  
 GAAGTGTAT  
 GACGTTGGTGACTCCTCTGAGTAAAAACATA  
 AATTCTTTA  
 AAGCAGCACTCATGCATTTTGTCAATGATAG

[0606]

AGCCTTACT  
 TAGAGACTCAGAATTACTTTCCCTTTCACTAA  
 TTCTAACA  
 TCTTCTTCTAGTTTGTCCCAGTCAAACCTTGAA  
 ATTCAGAC  
 CTTGTCTTTGCATGTGCCTGTATTTCCCTGAG  
 TATGCATT  
 TGCATTCAATTTGCAGTAGAATCATTTTCATAC  
 ACGAAAAC  
 CAATCACCCCTCTGAAAAAACTTCCTGCAGA  
 GGTTTTTTG  
 CCATTTCAATCCAGACCACATTGTTCTTTGACA  
 GCTGAAGT  
 GAAATACAATGGTGACAGTTCTGTAGAAGTT  
 TCAATAGCC  
 TCACAGATAAATTTTCATGTCATCATTGGTGA  
 GACAAGATG  
 GGTCAAAATCTTCCACAAGATGAAAAGAAAT  
 TTCTGATAA  
 GATGACCTTCCTTAAATATGCCATTTTACCTG  
 ACAATATA  
 GTCTGAAGGTGATGCAATCCTTTTGTATTTTC  
 AAACCCCA  
 CCTCATTTTCCCCTTCATTGGTCTTCTTGCTTC  
 TTTCATA  
 CCGCTTTATTGTGGAGTTGACCTTATCTTCTA  
 AATTCCTG  
 AAGAACTTGTCTCTTCTTCCCCATCAAAGC  
 ATATGTCTG  
 CTGAGTCACCTTCTAGTTTCCCAGCTTCTGTT  
 TCTTTAGA  
 GCCGATAACCAATCTAGAGACCAACTTTGAA  
 ACCTTGAC  
 TCGTAATCTGAGTGGTTCAATTTGTACTTCTG  
 CTTTCTCA  
 TGAAGCTCTCTGTGATCTGACTCACAGCACT  
 AACAAGCAA  
 TTTGTAAATCATACTCTAGGAGCCGTTCCC  
 CATTTAAA  
 TGTTTGTTAACAACCACACTTTTGTGTGCTGGC  
 AAGGTCTA  
 ATGCTGTTGCACACCCAGAGTTAGTCATGGG  
 ATCCAAGCT  
 ATTGAGCCTCTTCTCCCCTTTGAAAATCAAA  
 GTGCCATTG  
 TTGAATGAGGACACCATCATGCTAAAGGCCT  
 CCAGATTGA  
 CACCTGGGGTTGTGCGCTGACAGTCAACTTC  
 TTTCCAGT  
 GAACCTCTTCATTTGGTCATAAAAAACACAC  
 TCTTCCTCA

[0607]

GGGGTGATTGACTCTTTAGGGTTAACAAAGA  
 AGCCAAACT  
 CACTTTTAGGCTCAAAGAATTTCTCAAAGCA  
 TTTAATTTG  
 ATCTGTCAGCCTATCAGGGGTTTCCTTTGTGA  
 TTAAATGA  
 CACAGGTATGACACATTCAACATGAACTTGA  
 ACTTTGCGC  
 TCAACAGTACCTTTTCACCAGTCCCAAAAAC  
 AGTTTTGAT  
 CAAAAATCTGAGCAATTTGTACACTACTTTC  
 TCAGCAGGT  
 GTGATCAAATCCTCCTTCAACTTGTCCATCAA  
 TGATGTGG  
 ATGAGAAGTCTGAGACAATGGCCATCACTAA  
 ATACCTAAT  
 GTTTTGAACCTGTTTTTGATTCTCTTTGTTG  
 GGTGGTG  
 AGCATGAGTAATAATAGGGTTCTCAATGCAA  
 TCTCAACAT  
 CATCAATGCTGTCCTTCAAGTCAGGACATGA  
 TCTGATCCA  
 TGAGATCATGGTGTCAATCATGTTGTGCAAC  
 ACTTCATCT  
 GAGAAGATTGGTAAAAAGAACCTTTTTGGGT  
 CTGCATAAA  
 AAGAGATTAGATGGCCATTGGGACCTTGTAT  
 AGAATAACA  
 CCTTGAGGATTCTCCAGTCTTTTGATACAGCA  
 GGTGATAT  
 TCCTCAGAGTCCAATTTTATCACTTGGCAA  
 ATACCTCTT  
 TACATTCCACCACTTGATACCTTACAGAGCC  
 CAATTGGTT  
 TTGTCTTAATCTAGCAACTGAACTTGTTTTCA  
 TACTGTTT  
 GTCAAAGCTAGACAGACAGATGACAATCTTT  
 TCAAACAT  
 GCATGTTCCCTTAATTGTTCCGTATTAGGCTGG  
 AAATCATA  
 ATCTTCAAACCTTTGTATAATACATTATAGGAT  
 GAGTTCCG  
 GACCTCATGAAATTCTCAAACCTCAATAAATG  
 GTATGTGGC  
 ACTCATGCTCAAGATGTTTCAGACAGACCATA  
 GTGCCAAA  
 ACTAAGTCCCACCACTGACAAGCACCTTTGA  
 ACTTTTAAA  
 ATGAACTCATTTATGGATGTTCTAAACAAAT  
 CCTCAAGAG  
 ATACCTTTCTATACGCCTTTGACTTTCTCCTG



[0608]

TTCCTTAG  
AAGTCTGATGAACTCTTCCTTGGTGCTATGA  
AAGCTCACC  
AACCTATCATTCACTCCCATAGCAACAAC  
CAACCCAGT  
GCTTATCATTTTTTGACCCTTTGAGTTTAGAC  
TGTTTGAT  
CAACGAAGAGAGACACAAGACATCCAAATT  
CAGTAACTGT  
CTCCTTCTGGTGTTCAATAATTTAAACTTTT  
AACTTTGT  
TCAACATAGAGAGGAGCCTCTCATACTCAGT  
GCTAGTCTC  
ACTTCCTCTCTCATAACCATGGGTATCTGCTG  
TGATAAAT  
CTCATCAAAGGACAGGATTCAACTGCCTCCT  
TGCTTAGTG  
CTGAAATGTCATCACTGTCAGCAAGAGTCTC  
ATAAAGCTC  
AGAGAATTCCTTAATTAAATTTCCGGGGTTG  
ATTTTCTGA  
AAACTCCTCTTGAGCTTCCCAGTTTCCAAGTC  
TCTTCTAA  
ACCTGCTGTAAAGGGAGTTTATGCCAAGAAC  
CACATCATC  
GCAGTTCATGTTTGGGTTGACACCATCATGG  
CACATTTTC  
ATAATTTTCATCATTGTGAAATGATCTTGCATC  
TTTCAAGA  
TTTTCATAGAGTCTATACCGGAACGCTTATC  
AACAGTGGT  
CTTGAGAGATTTCGCAAAGTCTGAAGTACTCA  
GATTCCTCA  
AAGACTTTCTCATCTTGGCTAGAATACTCTA  
AAAGTTTAA  
ACAGAAGGTCTCTGAACTTGAAATTCACCCA  
CTCTGGCAT  
AAAGCTGTTATCATAATCACACCGACCATCC  
ACTATTGGG  
ACCAATGTGATACCCGCAATGGCAAGGTCTT  
CTTTGATAC  
AGGCTAGTTTATTGGTGTCTCTATAAATTTT  
TTCTCAA  
ACTAGCTGGTGTGCTTCTAACGAAGCACTCA  
AGAAGAATG  
AGGGAATTGTCAATCAGTTTATAACCATCAG  
GAATGATCA  
AAGGCAGTCCCGGGCACACAATCCCAGACTC  
TATTAGAAT  
TGCCTCAACAGATTTATCATCATGGTTGTGTA  
TGCAGCCG

[0609]

		CTCTTGTCTCAGCACTGTCTATCTCTATAACAACG CGACAAAA GTTTGAGTCCCTCTATCAATACCATTCTGGGT TCTCTTTG CCCTAAAAAGTTGAGCTTCTGCCTTGACAAC CTCTCATCT TGTTCTATGTGGTTTAAGCACAACTCTCTCAA CTCCGAAA TAGCCTCATCCATTGCGCATCAAAAAGCCTA GGATCCTCG GTGCG
14	淋巴细胞性脉络丛脑 膜炎毒株 MP 片段 S, 全序列 (基因组片段是 RNA, SEQ ID NO: 14 中的序列显示为 DNA; 然而, 将 SEQ ID NO: 14 中的全部胸 腺嘧啶核苷 (“T”) 替换为尿嘧啶 (“U” ) 提供了 RNA 序列)	CGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGC GCTTTCCTC AGCTCCGTCTTGTGGGAGAATGGGTCAAATT GTGACGATG TTTGAGGCTCTGCCTCACATCATTGATGAGG TCATTAACA TTGTCATTATCGTGCTTATTATCATCACGAGC ATCAAAGC TGTGTACAATTTGCGCCACCTGCGGGATACTT GCATTGATC AGCTTTCTTTTCTGGCTGGCAGGTCCTGTGG AATGTATG GTCTTGATGGGCCTGACATTTACAAAGGGGT TTACCGATT CAAGTCAGTGGAGTTTGACATGTCTTACCTT AACCTGACG ATGCCCAATGCATGTTGCGCAAACAACCTCCC ATCATTATA TAAGTATGGGGACTTCTGGATTGGAGTTAAC CTTCACAAA TGACTCCATCATCACCCACAACCTTTTGTAAATC TGACTTCC GCCCTCAACAAGAGGACTTTTGACCACACAC TTATGAGTA TAGTCTCAAGTCTGCACCTCAGCATTAGAGG GGTCCCCAG CTACAAAGCAGTGTCTGTGATTTTAACAAT GGCATCACT ATTCAATACAACCTGTCATTTTCTAATGCACA GAGCGCTC TGAGTCAATGTAAGACCTTCAGGGGGAGAGT CCTGGATAT GTTCAGAACTGCTTTTGGAGGAAAGTACATG AGGAGTGGC TGGGGCTGGACAGGTTTCAGATGGCAAGACTA CTTGGTGCA GCCAGACAACTACCAATATCTGATTATACA AAACAGGAC TTGGGAAAACCACTGCAGGTACGCAGGCCCT TTCGGAATG

[0610]

TCTAGAATTCTCTTCGCTCAAGAAAAGACAA  
GGTTTCTAA  
CTAGAAGGCTTGCAGGCACATTCAC TTGGAC  
TTTATCAGA  
CTCATCAGGAGTGGAGAATCCAGGTGGTTAC  
TGCTTGACC  
AAGTGGATGATCCTCGCTGCAGAGCTCAAGT  
GTTTTGGGA  
ACACAGCTGTTGCAAAGTGCAATGTAAATCA  
TGATGAAGA  
GTTCTGTGATATGCTACGACTGATTGATTAC  
AACAAGGCT  
GCTTTGAGTAAATTCAAAGAAGATGTAGAAT  
CCGCTCTAC  
ATCTGTTCAAGACAACAGTGAATTCTTTGAT  
TTCTGATCA  
GCTTTTGATGAGAAATCACCTAAGAGACTTG  
ATGGGAGTG  
CCATACTGCAATTACTCGAAATTCTGGTATCT  
AGAGCATG  
CAAAGACTGGTGAGACTAGTGTCCCAAGTG  
CTGGCTTGT  
CAGCAATGGTTCTTATTTGAATGAAACCCAT  
TTCAGCGAC  
CAAATTGAGCAGGAAGCAGATAATATGATC  
ACAGAAATGC  
TGAGAAAGGACTACATAAAAAGGCAAGGGA  
GTACCCCTCT  
AGCCTTGATGGATCTATTGATGTTTTCTACAT  
CAGCATAT  
TTGATCAGCATCTTTCTGCATCTTGTGAGGAT  
ACCAACAC  
ACAGACACATAAAGGGCGGCTCATGCCAA  
AACCACATCG  
GTTAACCAGCAAGGGAATCTGTAGTTGTGGT  
GCATTTAAA  
GTACCAGGTGTGGAAACCACCTGGAAAAGA  
CGCTGAACAG  
CAGCGCCTCCCTGACTCACACCTCGAAAGA  
GGTGGTGAG  
TCAGGGAGGCCCAGAGGGTCTTAGAGTGTTA  
CGACATTTG  
GACCTCTGAAGATTAGGTCATGTGGTAGGAT  
ATTGTGGAC  
AGTTTTCAGGTCGGGGAGCCTTGCCTTGGAG  
GCGCTTTCA  
AAGATGATACAGTCCATGAGTGCACAGTGTG  
GGGTGACCT  
CTTTCTTTTTCTTGTCCCTCACTATTCCAGTGT  
GCATCTT  
GCATAGCCAGCCATATTTGTCCCAGACTTTG

[0611]

TCCTCATAT  
 TCTCTTGAAGCTTCTTTAGTCATCTCAACATC  
 GATGAGCT  
 TAATGTCTCTTCTGTTTTGTGAATCTAGGAGT  
 TTCCTGAT  
 GTCATCAGATCCCTGACAACTTAGGACCATT  
 CCCTGTGGA  
 AGAGCACCTATTACTGAAGATGTCAGCCCAG  
 GTTGTGCAT  
 TGAAGAGGTCAGCAAGGTCCATGCCATGTGA  
 GTATTTGGA  
 GTCCTGCTTGAATTGTTTTTGATCAGTGGGTT  
 CTCTATAG  
 AAATGTATGTACTGCCCATTCTGTGGCTGAA  
 ATATTGCTA  
 TTTCTACCGGGTCATTAAATCTGCCCTCAATG  
 TCAATCCA  
 TGTAGGAGCGTTAGGGTCAATACCTCCCATG  
 AGGTCCTTC  
 AGCAACATTGTTTGGCTGTAGCTTAAGCCCA  
 CCTGAGGTG  
 GGCCCGCTGCCCCAGGCGCTGGTTTGGGTGA  
 GTTGGCCAT  
 AGGCCTCTCATTTGTCAGATCAATTGTTGTGT  
 TCTCCCAT  
 GCTCTCCCTACAACCTGATGTTCTACAAGCTAT  
 GTATGGCC  
 ACCCCTCCCCTGAAAGACAGACTTTGTAGAG  
 GATGTTCTC  
 GTAAGGATTCCCTGTCTCCAACCTGATCAGAA  
 ACAACATG  
 TTGAGTTTCTTCTTGGCCCCAAGAACTGCTTT  
 CAGGAGAT  
 CCTCACTGTTGCTTGGCTTAATTAAGATGGAT  
 TCCAACAT  
 GTTACCCCCATCTAACAAGGCTGCCCCTGCT  
 TTCACAGCA  
 GCACCGAGACTGAAATTGTAGCCAGATATGT  
 TGATGCTAG  
 ACTGCTGCTCAGTGATGACTCCCAAGACTGG  
 GTGCTTGTC  
 TTTCAGCCTTTCAAGGTCACTTAGGTTGCGGT  
 ACTTGACT  
 GTGTAAAGCAGCCCAAGGTCTGTGAGTGCTT  
 GCACAACGT  
 CATTGAGTGAGGTTTGTGATTGTTTGGCCAT  
 ACAAGCCAT  
 TGTAAAGCTTGGCATTGTGCCGAATTGATTGT  
 TCAGAAGT  
 GATGAGTCCTTCACATCCCAGACCCTCACCA  
 CACCATTG

[0612]

		CACTCTGCTGAGGTCTCCTCATTCCAACCATT TGCAGAAT CTGAGATCTTTGGTCAAGCTGTTGTGCTGTTA AGTTCCCC ATGTAGACTCCAGAAGTTAGAGGCCTTTCAG ACCTCATGA TTTTAGCCTTCAGTTTTTCAAGGTCAGCTGCA AGGGACAT CAGTTCTTCTGCACTAAGCCTCCCTACTTTTA GAACATTC TTTTTTGATGTTGACTTTAGGTCCACAAGGGA ATACACAG TTTGGTTGAGGCTTCTGAGTCTCTGTAAATCT TTGTCATC CCTCTTCTCTTTCCTCATGATCCTCTGAACAT TGCTCACC TCAGAGAAGTCTAATCCATTGAGAAGGCTGG TGGCATCCT TGATCACAGCAGCTTTCACATCTGATGTGAA GCCTTGAAG CTCTCTCCTCAATGCCTGGGTCCATTGAAAG CTTTAACT TCTTTGGACAGAGACATTTTGTCACTCAGTG GATTTCCA GTCAAATGCGCAATCAAAATGCCTAGGATCC ACTGTGCG
15	LCMV 的 MP 毒株的 NP 蛋白的氨基酸序列	MSLSKEVKSFQWTQALRRELQGFTSDVKA AVIKDATSLN GLDFSEVSNVQVRIMRKEKRDDKDLQRLRSLN QTVYSLVDL KSTSKKNVLKVGRLSAEELMSLAADLEKLKAK IMRSEPL TSGVYMGNLTAQQLDQRSQILQMVGMRRPQQ SANGVVRVW DVKDSSLNNGFGTMTSLMACMAKQSQTSL NDVVQALTD LGLLYTVKYPNLSDLERLKDHPVLGVITEQQ SSINISGY NFSLGAAVKAGAALLDGGNMLESILIKPSNSED LLKAVLG AKKKLNMFVSDQVGDRNPYENILYKVCLSGE GWPYIACRT SVVGRAWENTTIDLTNERPMANSPKPAPGAAG PPQVGLSY SQTMLLKDLMGIDPNAPTWIDIEGRFNDPVEI AIFQPQN GQYIHFYREPTDQKQFKQDSKYSHGMDLADLF NAQPGLTS SVIGALPQGMVLSCQGSDDIRKLLDSQNRDRIK LIDVEMT KEASREYEDKVWDKYGWLCKMHTGIVRDKK

[0613]

		KKEVTPHCAL MDCIIFESASKARLPDLKTVHNILPHDLIFRGPN VVTL
16	LCMV 的 MP 毒株的 GP 蛋白的氨基酸序列	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIIITSIKAVY NFAT CGILALISFLFLAGRSCGMYGLDGPDIYKGVYR FKSVEFD MSYLNLTMPNACSANNSHHYISMGTSGLELTF TNDISIITH NFCNLTSALNKRTFDHTLMSIVSSLHLSIRGVPS YKAVSC DFNNGITIQYNLSFSNAQSALSQCKTFRGRVLD MFRТАFG GKYMRSGWGWТGSDGKTTWCSQTNYQYLIHQ NRTWENHCR YAGPFGMSRILFAQEKTRFLTRRLAGTFTWTLS DSSGVEN PGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNH DEEFCMLR LIDYNKAALSFKEDVESALHLFKTTVNSLISD QLLMRNH LRDLMGVYPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKC WLVSNGSYL NETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYIKRQGSTP LALMDLL MFSTSAYLISIFLHLVRIPTHRIHKGSCPKPHR LTSKGI CSCGAFKVPGVETTWKRR
17	LCMV 的 MP 毒株的 Z 蛋白的氨基酸序列	MDEAISELRELCLNHIEQDERLSRQKLNFLGQR EPRMVLII EGLKLLSRCIEIDSADKSGCIHNHDDKSVEAILI ESGIVC PGLPLIIPDGYKLIDNSLILLECFVRSTPASFEKK FIEDT NKLACIKEDLAIAGITLVPIVDGRCDYDNSFMP EWNFKF RDLLFKLLEYSSQDEKVFESEYFRLCESLKTT VDKRSGI DSMKILKDARSFHNDEIMKMCHDGVNPNMNC DDVVLGINS LYSRFRDLETGKLKRSFQKINPGNLIKEFSELY ETLADS DDISALSKEAVESCPLMRFITADTHGYERGSET STEYERL LSMLNKVKSLKLLNTRRRQLLNLDVLCSSLIK QSKLKGS KNDKHWVGCCYGSVNDRLVSFHSTKEEFIRLL RNRKSKA YRKVSLEDLFRТSINEFILKVQRCLSVVGLSFG HYGLSEH

[0614]

	<p> LEHECHIPFIEFENFMRSNGTHPIMYYTKFEDYDF  QPNT EQ  LRNMHSLKRLSSVCLALTNSMKTSSVARLRQN  QLGSVRYQ  VVECKEVFCQVIKLDSEEHLLYQKTGESSRC  YSIQGPNG  HLISFYADPKRFFLPIFSDEV LHN MIDT MISWIR  SCPDLK  DSIDDVEIALRTLLLLMLTNPTKR NQKQVQNIR  YLVMAIV  SDFSSTSLMDK LKEDLITPAEKVVYKLLRFLIK  TVFGTGE  KVLLSAKF FMLNVSYLCHLITKETPDRLTDQI  KCFEKKF  EPKSEFGFFVNPKE SITPEEECVFYDQMKKFTG  KEVDCQR  TTPGVNLEAFSMMVSSFNNGT LIFKGEKRLNSL  DPMTNSG  CATALDLASNKSVV VNKHLNGERLLEYDFNK  LLVSAVSQI  TESFMRKQKYKLNHSDY EYKVS KLVSRLVIGS  KETEAGKL  EGDSADICFDGEEETSFFKNLEDKVNSTIKRYE  RSKKTNE  GENEVGFENTKGLHHLQTILSGKMAYLRKVIL  SEISFHLV  EDFDPSCLTNDDMKFICEAIETSTELSPLYFTSA  VKEQCG  LDEMAKNLCRKFFSEGDW FSCMKMILLQMNA  NAYSGKYRH  MQRQGLNFKFDWDKLEEDVRISERESNSESLS  KALSLTKC  MSAALKNL CFYSEESPTS YTSVGPDSGRLKFAL  SYKEQVG  GNRELYIGDLRTKM FTRLIEDYFESFSSFFSGSC  LNNDKE  FENAILSMTINVREGLLNYSMDH SKWGPM MCP  FLFLMLLQ  NLKLGDDQYVRSGKD HISTLLTWHMHKLVEV  PFPVVNAMM  KSYIKSKLKL LRGSETTVTERIFREYFELGIVPS  HISSLI  DMQGILHNASDFYGLISERFINYCIGVIFGERP  ESYTSS  DDQITLFDRLSELVDS DPEEVLVLLEFHSLS  GLLNKFI  SPKSVVGRFAAEFKSRFYVWGEEVPLLTKFVS  AALHNKVC  KEPHQLCETIDTIADQAVANGVPVSLVNCIQKR  TLDLLKY  ANFPLDPFLLNTNTDV KDWLDGSRGYRIQRLIE </p>
--	--

[0615]

		ELCPSET KVMRRLVRRLLHHKLKNGEFNEEFFLDLFNRDK KEAILQLG NILGLEEDLSQLANINWLNLNELFPLRMVLRQ KVVYPSVM TFQEERIPSLIKTLQNKLCSEFTRGAQKLLSEAI NKSAFQ SCISSGFIGLCKTLGSRVVRNKNRDNLYIRKVL EDLAMDA HVTAIHRHDGIMLYICDRQSHPEAHCDHISLLR PLLWDYI CISLSNSFELGVWVLAEPVKGKNEGSSSLKHLN PCDYVAR KPSSRLLEDKISLNHVIVSVRRLYPKIYEDQLL PFMSDM SSKNMRWSPRIKFLDLCVLIDINSESLSLISHV KWKRDE HYTVLFSDLVNSHQSDSSLVDEFVSTRDVC KNFLKQVY FESFVREFVATSRTLGSFSWPHKDMMPSEDG AEALGPFQ SFILKVVNKNMERPMFRNDLQFGFGWFSYRLG DIVCNAAM LIKQGLTNPKAFAKSLRNLWDYMINNTEGVLEF SITVDFTH NQNNTDCLRKFSLIFLVKCQLQGPVGAFLSCS HLFKGEV DRRFLDECLHLLRSDSIFKVNDGVFDIRSEEFED YMEDPL ILGDSLELELIGSRKILDGIRSLDFERIGPEWEPV PLTVR MGALFEGRSLVQNIVVKLETKDMRVFLAELEG YGNFDDVL GSLLLHRFRTGEHLQGSEISTILQELCIDRSILLV PLSLV PDWFTFKDCRLCFSKSKNTVMYETVVGKYRL KGKSCDDWL TKSVEEID
18	LCMV 的 MP 毒株的 Z 蛋白的氨基酸序列	MGQGKSKEGRDASNTSRAEILPDTTYLGPLNC KSCWQRFD SLVRCHDHYLCRHCLNLLSVSDRCPLCKHPLP TKLKIST APSSPPPYEE
19	胡宁病毒 Candid #1 毒株片段 L	GCGCACCGGGGATCCTAGGCGTAACTTCATCA TAAAATCTCAGATTCTGCTCTGAGTGTGACT TACTGCGAAGAGGCAGACAAATGGGCAACTG CAACGGGGCATCCAAGTCTAACCAGCCAGAC TCCTCAAGAGCCACACAGCCAGCCGCGAGAAT TTAGGAGGGTAGCTCACAGCAGTCTATATGGT AGATATAACTGTAAGTGCTGCTGGTTTGCTGA



[0616]

TACCAATTTGATAACCTGTAATGATCACTACCT  
TTGTTTAAGGTGCCATCAGGGTATGTTAAGGA  
ATTCAGATCTCTGCAATATCTGCTGGAAGCCC  
CT  
GCCCACCACAATCACAGTACCGGTGGAGCCA  
ACAGCACCACCACCATAGGCAGACTGCACAG  
GGTCAGACCCGACCCCCCGGGGGGCCCCCAT  
GGGGACCCCCCGTGGGGGAACCCCGGGGGT  
GATGCGCCATTAGTCAATGTCTTTGATCTCGA  
CTTTGTGCTTCAGTGGCCTGCATGTCACCCCT  
TTCAATCTGAACTGCCCTTGGGGATCTGATAT  
CAGCAGGTCAATTAAAGATCT  
GCTGAATGCCACCTTGAAATTTGAGAATTCCA  
ACCAGTCACCAAATTTATCAAGTGAACGGAT  
CAACTGCTCTTTGTGTA  
GATCATAAACGAGGACAAAGTCCTCTTGCTG  
AAATAATATTGTTGTGATGTTGTTTTAGATA  
AGGCCATAGTTGGCTT  
AATAAGGTTTCCACACTATCAATGTCCTCTAG  
TGCTCCAATTGCCTTGACTATGACATCCCCAG  
ACAACTCAACTCTATA  
TGTTGACAACCTTTCATTACCTCTGTAAAAGA  
TACCTCTTTCAAGACAAGAGGTTCTCCTGG  
GTTATCTGGCCCAATGA  
GGTCATATGCATACTTGTTACTTAGTTCAGAAT  
AAAAGTCACCAAAGTTGAACTTAACATGGCT  
CAGAATATTGTCATCA  
TTTGTCGCAGCGTAGCCTGCATCAATAAACAA  
GCCAGCTAGGTCAAAGCTCTCATGGCCTGTG  
AACAAATGGTAGGCTAGC  
GATAACCAGTGCACCATCCAACAATGAGTGG  
CTTCCCTCAGACCCAGAAACACATTGACTCAT  
TGCATCCACATTGAGCT  
CTAATTCAGGGGTACCGACATCATCCACTCCT  
AGTGAAGTGAACAATGGTGTAAGTGTACACCA  
TCTTTCTTCTAAGTTTA  
AATTTTGTGCGAACTCGTGTGTGTTCTACTTG  
AATGATCAATTTTAGTTTCACAGCTTCTTGGC  
AAGCAACATTGCGCAA  
CACAGTGTGCAGGTCCATCATGTCTTCCTGAG  
GCAACAAGGAGATGTTGTCAACAGAGACACC  
CTCAAGGAAAACCTTGA  
TATTATCAAAGCTAGAACTACATAACCCATT  
GCAATGTCTTCAACAACATTGCTCTTGATAC  
TTTATTATTCCTAACT  
GACAAGGTAAAATCTGTGAGTTCAGCTAGAT  
CTACTTGACTGTCATCTTCTAGATCTAGAACT  
TCATTGAACCAAAAGAA  
GGATTTGAGACACGATGTTGACATGACTAGT  
GGGTTTATCATCGAAGATAAGACAACCTGCAC  
CATGAAGTTCCTGCAAA

[0617]

CTTGCTGTGGGCTGATGCCAACTTCCCAATTT  
GTATACTCTGACTGTCTAACATGGGCTGAAGC  
GCAATCACTCTGTTTC  
ACAATATAAACATTATTATCTCTTACTTTCAAT  
AAGTGACTTATAATCCCTAAGTTTTTCATTCATC  
ATGTCTAGAGCCAC  
ACAGACATCTAGAACTTGAGTCTTCCACTAT  
CCAAAGATCTGTTCACCTGAAGATCATTATA  
AAGGGTGCCAAATGTT  
CTTCAAATAGTTTTGGGGTAATTTCTTCGTATAG  
AATGCAATACATGGTTCATGCCTAATTGGTCTT  
CTATCTGTCGTACT  
GCTTTGGGTTTAAACAGCCCAGAAGAAATTCTT  
ATTACATAAGACCAGAGGGGCCTGTGGACTC  
TTAATAGCAGAAAACAC  
CCACTCCCCTAACTCACAGGCATTTGTCAGCA  
CCAAAGAGAAGTAATCCACAAAATTGGTTT  
AGAAAATTGGTTAACTT  
CTTTAAGTGATTTTTGACAGTAAATAACTTTA  
GGCTTTCTCTCACAAATTCACAAAGACATG  
GCATTATTCGAGTAAAT  
ATGTCCTTTATATACAGAAATCCGCCTTTACCA  
TCCCTAACACACTTACTCCCCATACTCTTACA  
AAACCCAATGAAGCC  
TGAGGCAACAGAAGACTGAAATGCAGATTTG  
TTGATTGACTCTGCCAAGATCTTCTTCACGCC  
TTTTGTGAAATTTCTTG  
ACAGCCTGGACTGTATTGTCCTTATCAATGTT  
GGCATCTCTTCTTTCTCTAACACTCTTCGACT  
TGTCATGAGTTTGGTC  
CTCAAGACCAACCTCAAGTCCCCAAAGCTCG  
CTAAATTGACCCATCTGTAGTCTAGAGTTTGT  
CTGATTTTCATCTTCACT  
ACACCCGGCATATTGCAGGAATCCGGATAAA  
GCCTCATCCCCTCCCCTGCTTATCAAGTTGAT  
AAGGTTTTCTCTCAAAGA  
TTTTGCCTCTCTTAATGTCATTGAACACTTTCC  
TCGCGCAGTTCTTATAAACATTGTCTCCTTAT  
CATCAGAAAAAATA  
GCTTCAATTTCTCTGTAGACGGTACCCTCT  
AGACCCATCAACCCAGTCTTTGACATCTTGTT  
CTTCAATAGCTCCAAA  
CGGAGTCTCTGTATCCAGAGTATCTAATCA  
ATTGGTTGACTCTAATGGAAATCTTTGACACT  
ATATGAGTGCTAACCC  
CATTAGCAATACATTGATCACAAATTGTGTCTA  
TGGTCTCTGACAGTTGTGTTGGAGTTTACAC  
TTAACGTTGTGTAGA  
GCAGCAGACACAACTTGGTGAGTAAAGGA  
GTCTCTTCACCCATGACAAAAAATCTTGACTT  
AAACTCAGCAACAAAAGTTCCTATCACACTC

[0618]

TTTGGGCTGATAAACTTGTTTAATTTAGAAGA  
TAAGAATTCATGGAAGCACACCATTTCAGC  
AGTT  
CTGTCCTGTCTTGAACTTTTCATCACTAAGG  
CAAGGAATTTTATAAGGCTAACCTGGTCATC  
GCTGGAGGTATAAGTG  
ACAGGTATCACATCATACAATAAGTCAAGTGC  
ATAACACAGAAATTGTTTCAGTAATTAGCCCAT  
ATAAATCTGATGTGTT  
GTGCAAGATTCCCTGGCCCATGTCCAAGACA  
GACATTATATGGCTGGGGACCTGGTCCCTTGA  
CTGCAGATACTGGTGAA  
AAAACCTCTTCACCAACACTAGTACAGTCACA  
ACCCATTAAACCTAAAGATCTCTTCAATTTCC  
CTACACAGTAGGCTTCT  
GCAACATTAATTGGAACCTCAACGACCTTATG  
AAGATGCCATTTGAGAATGTTCACTACTGGTT  
CAAGATTCACCTTTGT  
TCTATCTCTGGGATTCTTCAATTCTAATGTGTA  
CAAAAAAGAAAGGAAAAGTGCTGGGCTCAT  
AGTTGGTCCCCATTTGG  
AGTGGTCATATGAACAGGACAAGTCACCATT  
GTTAACAGCCATTTTCATATCACAGATTGCAC  
GTTCGAATTCCTTTTCT  
GAATTCAAGCATGTGTATTTCACTGAACTACC  
CACAGCTTCTGAGAAGTCTTCAACTAACCTG  
GTCATCAGCTTAGTGTT  
GAGGTCTCCACATACAGTTCTCTATTTGAGC  
CAACCTGCTCCTTATAACTTAGTCCAAATTC  
AAGTTCCCTGTATTTG  
AGCTGATGCTTGTGAACTCTGTAGGAGAGTC  
GTCTGAATAGAAACATAAATTCCGTAGGGCTG  
CATTTGTAAAATAACTT  
TTGTCTAGCTTATCAGCAATGGCTTCAGAATT  
GCTTCCCTGGTACTAAGCCGAACCTCATCCT  
TTAGTCTCAGAACTTC  
ACTGGAAAAGCCCAATCTAGATCTACTTCTAT  
GCTCATAACTACCCAATTTCTGATCATAATGTC  
CTTGAATTAAAAGAT  
ACTTGAAGCATTCAAAGAATTCATCTTCTTGG  
TAGGCTATTGTTGTCAAATTTTAAATAACAAA  
CCCAAAGGGCAGATG  
TCCTGCGGTGCTTCAAGAAAATAAGTCAATTT  
AAATGGAGATAGATAAACAGCATCACATAACT  
CTTTATACACATCAGA  
CCTGAGCACATCTGGATCAAATCCTTCACCT  
CATGCATTGACACCTCTGCTTTAATCTCTCTC  
AACACTCCAAAAGGGG  
CCCACAATGACTCAAGAGACTCTCGCTCATC  
AACAGATGGATTTTTGATTCAACTTGGTGA  
TCTCAACTTTTGTCCCC

[0619]

TCACTATTAGCCATCTTGGCTAGTGTCAATTTGT  
ACGTCATTTCTAATACCCTCAAAGGCCCTTAC  
TTGATCCTCTGTAA  
ACTCTCATACATCACTGATAATTCTTCTTGATT  
GGTTCTGGTTCTTGAACCGGTGCTCACAAGA  
CCTGTTAGATTTTTTA  
ATATTAAGTAGTCCATGGAATCAGGATCAAGA  
TTATACCTGCCTTTTGTTTTAAACCTCTCAGCC  
ATAGTAGAAACGCAT  
GTTGAAACAAGTTTCTCCTTATCATAAACAGA  
AAGAATATTTCCAAGTTCGTCGAGCTTGGGGA  
TTACCACACTTTTATT  
GCTTGACAGATCCAGAGCTGTGCTAGTGATG  
TTAGGCCTGTAGGGATTGCTTTTCAGTTCACC  
TGTAACTTTAAGTCTTC  
CTCTATTGAAGAGAGAAATGCAGAAGGACAA  
AATCTCTTTACACACTCCTGGAATTTGAGTAT  
CTGAGGAAGTCTTAGCC  
TCTTTGGAAAAGAATCTGTCCAATCCTCTTAT  
CATGGTGTCTCTTGTTCAGTGTTAGACTCC  
CACTTAGAGGGGGGT  
TACAACAACACAATCAAACCTTGACTTTGGGC  
TCAATAAACTTCTCAAAACACTTTATTTGATC  
TGTCAGGCGATCAGGTG  
TCTCTTTGGTTACCAAGTGACACAGATAACTA  
ACATTTAATAGATATTTAAACCTTCTTGCAAAG  
TAAAGATCTGCATCT  
TCCCCTTCACCCAAAATTGTCTGGAAAAGTTC  
CACAGCCATCCTCTGAATCAGCACCTCTGATC  
CAGACATGCAGTCGAC  
CCTTAACTTTGACATCAAATCCACATGATGGA  
TTTGATTTGCATATGCCATCAAGAAATATCTTA  
GACCTTGTA AAAATG  
TCTGGTTCCTTTTGGAAAGGGGAACAGAGTAC  
AGCTAACACTAACAATCTTAATATTGGCCTTG  
TCATTGTCATGAGTTCG  
TGGCTAAAATCCAACCAGCTGGTCAATTCCTC  
ACACATTTCAATTAACACATCCTCCGAAAATA  
TAGGCAGGAAAAATCT  
CTTTGGATCACAGTAAAAAGAGCCTTGTTCTT  
CCAATACCCCATTTGATGGATAGATAGATAAAT  
AGCACCTTGACTTCT  
CACCTGTTTTTTGGTAAAACAAGAGACCAAA  
TGTATTCTTTGTGATGAAATCTTTGTACATA  
ACACTCTCTTAGTCTA  
ACATTCCCAAATATCTAGAATACTCTTTTCA  
TTGATTAACAATCGGGAGGAAAATGATGTCTT  
CATCGAGTTGACCAA  
TGCAAGGGAAATGGAGGACAAAATCCTAAAT  
AATTTCTTCTGCTCACCTTCCACTAAGCTGCT  
GAATGGCTGATGTCTAC

[0620]

AGATTTTCTCAAATTCCTTGTTAATAGTATATC  
TCATCACTGGTCTGTCAGAAACAAGTGCCTG  
AGCTAAAATCATCAAG  
CTATCCATATCAGGGTGTTTTATTAGTTTTTCC  
AGCTGTGACCAGAGATCTTGATGAGAGTTCT  
TCAATGTTCTGGAACA  
CGCTTGAACCCACTTGGGGCTGGTCATCAATT  
TCTTCCTTATTAGTTTAATCGCCTCCAGAATAT  
CTAGAAGTCTGTCAT  
TGACTAACATTAAACATTTGTCCAACAACATTT  
CCCGCATTTCTTAACCTTACAATTGCATCATCA  
TGCCTTTTGAAAAGA  
TCACAAAGTAAATTGAGTAAACTAAGTCCA  
GAAACAGTAAAGTGTTTCTCCTGGTGTTGAA  
AACTTTTAGACCTTTCAC  
TTTGTTACACACGGAAAGGGCTTGAAGATAA  
CACCTCTCTACAGCATCAATAGATATAGAATTC  
TCATCTGACTGGCTTT  
CCATGTTGACTTCATCTATTGGATGCAATGCG  
ATAGAGTAGACTACATCCATCAACTTGTTTGC  
ACAAAAAGGGCAGCTG  
GGCACATCACTGTCTTTGTGGCTTCCTAATAA  
GATCAAGTCATTTATAAGCTTAGACTTTTGTG  
AAAATTTGAATTTCCC  
CAACTGCTTGTCAAAAATCTCCTTCTTAAACC  
AAAACCTTAACTTTATGAGTTCTTCTCTTATG  
ACAGATTCTCTAATGT  
CTCCTCTAACCCCAACAAAGAGGGATTCAATT  
AACCTCTCATCATAACCCAAAGAATTCTTTTT  
CAAGCATTCGATGTTT  
TCTAATCCCAAGCTCTGGTTTTTTGTGTTGGA  
CAAACATATGGATCAATCGCTGGTATTCTTGTT  
CTTCAATATTAATCTC  
TTGCATAAATTTTGATTTCTTTAGGATGTGCGAT  
CAGCAACCACCGAACTCTTCAACAACCCAA  
TCAGCAAGGAATCTAT  
TGCTGTAGCTAGATCTGCCATCAACCACAGGA  
ACCAACGTAATCCCTGCCCTTAGTAGGTCGGA  
CTTTAGGTTTAAGAGC  
TTTGACATGTCACTCTTCCATTTTCTCTCAA  
CTCATCAGGATTGACCCTAACAAAGGTTTCCA  
ATAGGATGAGTGTTTT  
CCCTGTGAGTTTGAAGCCATCCGGAATGACTT  
TTGGAAGGGTGGGACATAGTATGCCATAGTCA  
GACAGGATCACATCAA  
CAAACCTTCTGATCTGAATTGATCTGACAGGCG  
TGTGCCTCACAGGACTCAAGCTCTACTAAAC  
TTGACAGAAGTTTGAAC  
CCTTCCAACAACAGAGAGCTGGGGTGATGTT  
GAGATAAAAAGATGTCCCTTTGGTATGCTAGC  
TCCTGTCTTTCTGGAAA

[0621]

		ATGCTTTCTAATAAGGCTTTTTATTTCATTTAC TGATTCCTCCATGCTCAAGTGCCGCTAGGAT CCTCGGTGCG
20	胡宁病毒 Candid #1 毒 株片段 S	GCGCACCGGGGATCCTAGGCGATTTTGTTAC GCTATAATTGTAAGTGTCTTCTGTTTGGACAA CATCAAAAACATCCATTGCACAATGGGGCAG TTCATTAGCTTCATGCAAGAAATACCAACCTT TTTGCAGGAGGCTCTGAACATTGCTCTTGTTG C AGTCAGTCTCATTGCCATCATTAAAGGGTATAG TGAACCTGTACAAAAGTGGTTTATTCCAATTC TTTGTATTCCTAGCGC TTGCAGGAAGATCCTGCACAGAAGAAGCTTT CAAAATCGGACTGCACACTGAGTTCCAGACT GTGTCCTTCTCAATGGTG GGTCTCTTTTCCAACAATCCACATGACCTACC TTTGTGTGTACCTTAAACAAGAGCCATCTTT ACATTAAGGGGGGCAA TGCTTCATTTAGATCAGCTTTGATGATATTGC AGTATTGTTGCCACAGTATGATGTTATAATACA ACATCCAGCAGATA TGAGCTGGTGTTCAAAAGTGATGATCAAATT TGGTTGTCTCAGTGGTTCATGAATGCTGTGGG ACATGATTGGCATCTA GACCCACCATTCTGTGTAGGAACCGTGCAA AGACAGAAGGCTTCATCTTTCAAGTCAACAC CTCCAAGACTGGTGTCAA TGGAATTATGCTAAGAAGTTTAAGACTGGCA TGCATCATTTATATAGAGAATATCCTGACCCTT GCTTGAATGGCAAAC TGTGCTTAATGAAGGCACAACCTACCAGTTG GCCTCTCCAATGTCCACTCGACCACGTAAACA CATTACACTTCCTTACA AGAGGTAAAAACATTCAACTTCCAAGGAGGT CCTTGAAAGCATTCTTCTCCTGGTCTTTGACA GACTCATCCGGCAAGGA TACCCCTGGAGGCTATTGTCTAGAAGAGTGGA TGCTCGTAGCAGCCAAAATGAAGTGTTTTGG CAATACTGCTGTAGCAA AATGCAATTGAATCATGACTCTGAATTCTGT GACATGTTGAGGCTCTTTGATTACAACAAAAA TGCTATCAAAACCCTA AATGATGAAACTAAGAAACAAGTAAATCTGA TGGGGCAGACAATCAATGCCCTGATATCTGAC AATTTATTGATGAAAAA CAAAATTAGGGAACTGATGAGTGTCCCTTACT GCAATTACACAAAATTTTGGTATGTCAACCAC ACACTTTCAGGACAAC ACTCATTACCAAGGTGCTGGTTAATAAAAAAC AACAGCTATTTGAACATCTCTGACTTCCGTAA TGA CTGGATATTAGAA

[0622]

AGTGACTTCTTAATTTCTGAAATGCTAAGCAA  
AGAGTATTCGGACAGGCAGGGTAAACTCCT  
TTGACTTTAGTTGACAT  
CTGTATTTGGAGCACAGTATTCTTCACAGCGT  
CACTCTTCCTTCACTTGGTGGGTATACCCTCC  
CACAGACACATCAGGG  
GCGAAGCATGCCCTTTGCCACACAGGTTGAA  
CAGCTTGGGTGGTTGCAGATGTGGTAAGTAC  
CCCAATCTAAAGAAACCA  
ACAGTTTGGCGTAGAGGACACTAAGACCTCC  
TGAGGGTCCCCACCAGCCCGGGCACTGCCCG  
GGCTGGTGTGGCCCCCAGTCCGCGGCCTGG  
CCGCGGACTGGGGAGGCACTGCTTACAGTGC  
ATAGGCTGCCTTCGGGAGGAACAGCAAGCTC  
GGTGGTAATAGAGGTGTAGGTTCTCCTCATA  
GAGCTTCCCATCTAGCACTGACTGAAACATTA  
TGCAGTCTAGCAGAGCACAGTGTGGTTCCT  
GGAGGCCAACTTGAAGGGAGTATCCTTTTCC  
CTCTTTTCTTATTGACAACCACTCCATTGTGA  
TATTTG  
CATAAGTGACCATATTTCTCCCAGACCTGTTG  
ATCAAAGTGCCTGGCTTGTTTCTAGATGTGAGCT  
TAACATCAACCAGTTT  
AAGATCTCTTCTTCCATGGAGGTCAAACAACCT  
TCCTGATGTCATCGGATCCTTGAGTAGTCACA  
ACCATGTCTGGAGGCA  
GCAAGCCGATCACGTAAGTAAAGAACTCCTGG  
CATTGCATCTTCTATGTCCTTCATTAAGATGCC  
GTGAGAGTGTCTGCTA  
CCATTTTAAACCCTTTCTCATCATGTGGTTTT  
CTGAAGCAGTGAATGTACTGCTTACCTGCAG  
GTTGGAATAATGCCAT  
CTCAACAGGGTCAGTGGCTGGTCTTCAATG  
TCGAGCCAAAGGGTGTGGTGGGGTCGAGTT  
TCCCCACTGCCTCTCTGA  
TGACAGCTTCTTGTATCTCTGTCAAGTTAGCC  
AATCTCAAATTCTGACCGTTTTTTTCCGGCTG  
TCTAGGACCAGCAACT  
GGTTTCCTTGTGATCAATACTTGTGTTGTC  
CCATGACCTGCCTGTGATTGTGATCTAGAAC  
CAATATAAGGCCAACC  
ATCGCCAGAAAGACAAAGTTTGTACAAAAGG  
TTTTCATAAGGATTCTATTGCCTGGTTTCTCA  
TCAATAAACATGCCTT  
CTCTTCGTTTAAACCTGAATGGTTGATTTTATGA  
GGGAAGAGAAGTTTTCTGGGGTGAATCTGAT  
TGTTTCCAACATGTTT  
CCACCATCAAGAATAGATGCTCCAGCCTTTAC  
TGCAGCTGAAAGACTGAAGTTGTAACCAGAA  
ATATTGATGGAGCTTTC  
ATCTTTAGTCACAATCTGAAGGCAGTCATGTT

[0623]

		CCTGAGTCAGTCTGTCAAGGTCACCTAAGTTT GGATACTTCACAGTGT ATAGAAGCCCAAGTGAGGTTAAAGCTTGTAT GACACTGTTTATTGTCTCACCTCCTTGAACAG TCATGCATGCAATTGTC AATGCAGGAACAGAGCCAACTGATTGTTTA GCTTTGAAGGGTCTTTAACATCCCATATCCTC ACCACACCATTTCCTCC AGTCCCTTGCTGTTGAAATCCCAGTGTTCTCA ATATCTCTGATCTTTTAGCAAGTTGTGACTGG GACAAGTTACCCATGT AAACCCCTGAGAGCCTGTCTCTGCTCTTCTT ATCTTGTTTTTTAATTTCTCAAGGTCAGACGC CAACTCCATCAGTTCA TCCCTCCCCAGATCTCCCACCTTGAAAAGTGT GTTTCGTTGAACACTCCTCATGGACATGAGTC TGCAACCTCTTTATT CAGGTCCCTCAACTTGTTGAGGTCTTCTTCCC CCTTTTAGTCTTTCTGAGTGCCCGCTGCACC TGTGCCACTTGTTGA AGTCGATGCTGTCAGCAATTAGCTTGGCGTCC TTCAAACATCTGACTTGACAGTCTGAGTGA ATTGGCTCAAACCTCTC CTTAAGGACTGAGTCCATCTAAAGCTTGGAA CCTCCTTGAGTGTTGCCATGCCAGAAGTTCT GGTGATTTTGATCTAGAA TAGAGTTGCTCAGTGAAAGTGTTAGACACTAT GCCTAGGATCCACTGTGCG
21	LCMV 的克隆 13 毒株的 NP 蛋白的氨基酸序列(GenBank Accession No. ABC96002.1; GI:86440166)	MSLSKEVKSFWTQALRRELQSFTSDVKA AVI KDATNLLNGLDFSEVSNVQRIMRKEKRDDKDL QRLRSLNQTVHSLVDLKSTSKKNVLKVGRLSA EELMSLAADLEKLKAKIMRSERPQASGVYMG NLTTQQLDQRSQILQIVGMRKPQQGASGVVRV WDVKDSSLNQNFGTMPSLTMAKMAKQSQT LNDVVQALDGLLTVKYPNLNDRERLKD HPVLGVITEQQSSINISGYNFSLGA AVKAGAAL LDGGMLESILIKPSNEDLLKAVLGAKRKL MFVSDQVGDRNPYENILYKVCLSGEGWPYIAC RTSIVGRAWENTTIDLTSEKPAVNSPRPAPGAAG PPQVGLSYSQTMMLKDLMGIDPNAPT WIDIEG RFNDPVEIAIFQPQNGQFIHFYREPVDQKQFKQ DSKYSHGMDLADLFNAQPGLTSSVIGALPQGM VLSCQGSDDIRKLLDSQNRKDIKLIDVEMTREA SREYEDKVWDKYGWLCKMHTGIVRDKKKKEI TPHCALMDCIIFESASKARLPDLKTVHNILPHD LIFRGPNVVT
22	LCMV 的克隆 13 毒株的 GP 蛋白的氨基酸序列 (GenBank Accession No.	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVILVITGIKAVY NFATCGIFALISFLLLAGRSCGMYGLKGPDIYKG VYQFKSVEFDMSHLNLTMPNACSANN SHHYIS MGTSGLLELFTNDSIISHNFCNLTS AFNKKTFDH



[0624]

	ABC96001.2; GI:116563462)	TLMSIVSSLHLSIRGNSNYKAVSCDFNNGITIQY NLTFSDAQSAQSQCRTRFRGRVLDMFRTAFGGK YMRSGWGWGTGSDGKTTWCSQTSYQYLIIQNR TWENHCTYAGPFGMSRILLSQEKTFLTRRLAG TFTWTLSDSSGVENPGGYCLTKWMILAAELKC FGNTAVAKCNVNHDEEFCDMLRLIDYNKAALS KFKEDVESALHLFKTTVNSLISDQLLMRNHLR DLMGVPCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCWL VTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYI KRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLVSIFLHLVKIPT HRHIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVPGVKT VWKRR
23	LCMV 的克隆 13 毒株 的 L 蛋白的氨基酸序列 (GenBank Accession No. ABC96004.1; GI:86440169)	MDEIISELRELCLNYIEQDERLSRQKLNFLGQRE PRMVLIEGLKLLSRCIEIDSADKSGCTHNHDDK SVETILVESGIVCPGLPLIIPDGYKLIDNSLILLEC FVRSTPASFEKKFIEDTNKLACIREDLAVAGVTL VPIVDGRCDYDNSFMPEWANFKFRDLLFKLLE YSNQNEKVFESEYFRLCESLKTIDKRSKMDS MKILKDARSTHNDIMRMCHGINPNMSCDDV VFGINSLSRFRDLESGLKRNFKVNPGLI KEFSELYENLADSDDLTSLREAVESCPLMRFIT AETHGHERGSETSTEYERLLSMLNKVKSLL NTRRRQLLNLDVLCSSLIKQSKFKGLKNDKH WVGCCYSSVNDRLVSFHSTKEEFIRLLNRKKS KVFRKVSFEELFRASISEFIAKIQKCLLVGLSFE HYGLSEHLEQECHIPFTEFENFMKIGAHPIIMYY TKFEDYNFQPSTEQLKNIQSLRRLSSVCLALTN MKTSSVARLRQNQIGSVRYQVVECKEVFCQVI KLDSEYHLLYQKTGESSRCYSIQGPDGHLISFY ADPKRFFLPISDEVLYNMIDIMISWIRSCPDLK DCLTDIEVALRTLMLTNPTKRNQKQVQSVR YLVMAIVSDFSSTSLMDKLREDLITPAEKVVYK LLRFLIKTIFGTGEKVLLSAKFKFMLNVSYLCH LITKETPDRLTDQIKCFEKFFEPKSQFGFFVNP EAITPEEECVFYEQMKRFTSKEIDCQHTTPGVN LEAFSLMVSSFNNGTLIFKGEKKLNSLDPMTNS GCATALDLASNKSVVNKHLNGERLLEYDFNK LLVSAVSQITESFVRKQKYKLSHSDYKYVSKL VSRLVIGSKGEETGRSEDNLAEICFDGEEETSFF KSLEEKVNTTIARYRRGRRANDKGDGEKLTNT KGLHHLQLILTGKMAHLRKVILSEISFHLVEDF DPSCLTNDMDKFICEAVEGSTELSPYFTSVIKD QCGLDEMAKNLCRKFFSENDWFSCMKMILLQ MNANAYSGKYRHMQRQGLNFKFDWDKLEED VRISERESNSESLSKALSLTQCMSAALKNLFCY SEESPTSYSVGPDSGRLKFALSYKEQVGGNRE LYIGDLRTKMFTRLIEDYFESFSSFFSGSCLNND KEFENAILSMTINVREGFLNYSMDHSGWGP MCPFLFLMFLQNLKLGDDQYVRSKGDHVSSTL TWHMHKLVEVPFPVNNAMMKSYVSKLKLRL GSETTVTERIFRQYFEMGIVPSHISLIDMGQGI

[0625]

		<p>LHNASDFYGLLSERFINYCIGVIFGERPEAYTSS  DDQITLFDRLSDLVVSDPEEVVLVLEFQSHLS  GLLNKFISPKSVAGRFAAEFKSRFYVWGEEVPL  LTKFVSAALHNVKCKEPHQLCETIDTIADQAIA  NGVPVSLVNSIQRRTLDLLKYANFPLDPFLLNT  NTDVKDWDGSRGYRIQRLIEELCPNETKVVR  KLVRKLHHKLKNGEFNEEFFLDLFDNRDKKEAIL  QLGDLLGLEEDLNQLADVNWLNLNEMFPLRM  VLRQKVVPVPSVMTFQEERIPSLIKTLQNKLCCK  FTRGAQKLLSEAINKSAFQSCISSGFIGLCKTLG  SRCVRNKNRENLYIKKLEDLTTDDHVTRVCN  RDGITLYICDKQSHPEAHRDHICLLRPLLWDYIC  ISLSNSFELGVWVLAEPKKGKNNSENLTCLKHLN  PCDYVARKPESSRLLEDKVNLNQVIQSVRRLYP  KIFEDQLLPFMSDMSSKNMRWSPRIKFLDLCVL  IDINSESLSLISHVVKWKRDEHYTVLFSDLANS  HQRSDSSLVDEFVSTRDVCKNFLKQVYFESF  VREFVATRTLGNFSWFPKEMMPSEDGAEAL  GPFQSFVSKVVNKNVERPMFRNDLQFGFGWFS  YRMGDVVCNAAMLIRQGLTNPKAFLSKDLW  DYMLNYTKGVLEFSISVDFTHNQNTDCLRKF  SLIFLVRCLQNPQVAELLSCHLFLKGEIDRRML  DECLHLLRTDSVFKVNDGVFDIRSEEFEDYME  DPLILGDSLELELLGSKRILDGIRSIDFERVGPE  WEPVPLTVKMGALFEGRNLVQNIIVKLETKDM  KVFLAGLEGYEKISDVLGNLFLHRFRTGEHLLG  SEISVILQELCIDRSILLIPLSLLPDWFAFKDCRL  CFSKSRSTLMYETVGGFRFLKGRSCDDWLGG  VAEDID</p>
24	LCMV 的克隆 13 毒株的 Z 蛋白的氨基酸序列 (GenBank Accession No. ABC96003.1; GI:86440168)	<p>MGQGKSREEKGTNSTNRAEILPDTTYLGPLSC  KSCWQKFDSLVRCHDHYLCHHCLNLLSVSDR  CPLCKYPLPTRLKISTAPSSPPPYEE</p>
25	LCMV 的 WE 毒株的 GP 蛋白的氨基酸序列	<p>MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIHLSIKAVY  NFATCGILALVSFLFLAGRSCGMYGLNGPDIYK  GVYQFKSVEFDMSHLNLTMPNACSANNSHHYI  SMGSSGLELTFTNDSILNHNFCNLTSFNNKTF  DHTLMSIVSSLHLSIRGNSNHKAVSCDFNNGITI  QYNLSFSDPQSAISQCRTFRGRVLDMFRTAFGG  KYMRSWGWAGSDGKTTWCSQTSYQYLIQN  RTWENHCRYAGPFGMSRILFAQEKTKFLTRRLA  GTFTWTLSDSSGVENPGGYCLTKWMILAAELK  CFGNTAVAKCNVNHDEEFCMDLRLIDYNKAAL  SKFKQDVESALHVFKTTVNSLISDQLLMRNHL  RDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCW  LVTNGSYLNETHFSDQIEQADNMITEMLRKD  YIKRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLISIFLHLVKI  PTHRHIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVPV  KTIWKRR</p>

[0626]	26 HBV HBe 抗原的核苷酸序列 (GenBank Accession No. E15688.1; GI: 5710371)	ATGGACATTGACACGTATAAAGAATTTGGAGC TACTGTGGAGTTACTCTCGTTTTTGCCTTCTG ACTTCTTTCCCTCCGTCAGAGATCTCCTAGAC ACCGCCTCAGCTCTGTATCGAGAAGCCTTAG AGTCTCCTGAGCATTGCTCACCTACCATACT GCACTCAGGCAAGCCATTCTCTGCTGGGGGG AATTGATGACTCTAGCTACCTGGGTGGGTAAT AATTTGGAAGATCCAGCATCCAGGGATCTAGT AGTCAATTATGTTAATACTAACATGGGTTTAA AGATCAGGCAACTATTGTGGTTTCATATATCTT GCCTTACTTTTGGGAAGAGAGACTGTACTTGAA TATTTGGTCTCTTTCGGAGTGTGGATTTCGCAC TCCTCCAGCCTATAGACCACCAAATGCCCTTA TCTTATCAACACTTCCGGAACTACTGTTGTT TAA
--------	--	--

## 7. 实施例

[0627] 7.1沙粒病毒载体基因组/载体构建体的设计

[0628] 基于已建立的方法(美国专利申请公开No.US 2010/0297172A1;和),设计了表达相应的HBV抗原或其某些结构域的、基于LCMV和胡宁病毒(JUNV)的疫苗载体(附图1)。

[0629] 7.2针对乙型肝炎病毒的疫苗

[0630] 针对乙型肝炎病毒(HBV)的候选疫苗包括基于rLCMV和rJUNV(Junin疫苗毒株 Candid#1)的载体,其表达pre-S2/S(rLCMV/pre-S2/S、rJUNV/Pre-S2/S)、HBc(rLCMV/HBc、rJUNV/HBc)、由全长HBs和HBcORFs(rLCMV/HBsHBc)以及HBe(rLCMV/HBe、rJUNV/HBe)组成的融合蛋白。载体将是复制缺陷性的(r2LCMV,也称为rLCMV、r2JUNV,还称为rJUNV)和复制感受态的三片段化构建体(r3LCMV,r3 JUNV;参见,例如Emonet et al.,2009,PNAS,106(9):3473-3478),其中转基因以所谓的“人工”方式布置(r3LCMV<sup>art</sup>,r3JUNV<sup>art</sup>)。在同源或异源的首次免疫-强化疫苗接种中,小鼠(例如,C57BL/6小鼠)用这些构建体之一或其组合免疫。通过腹膜内的、肌肉内的或静脉内的途径进行施用。剂量将在10<sup>4</sup>到10<sup>7</sup>病灶形成单位(FFU)的范围内。在免疫后7到100天的时间点,测量血液和/或脾脏中的HBV特异性CD8<sup>+</sup> T细胞。例如,通过使用MHC I类四聚体与抗CD8抗体组合,可以测量T细胞,以鉴定针对HBV衍生表位的CD8<sup>+</sup> T细胞反应的量级。

[0631] 在补充的方法中,通过细胞内细胞因子分析的方式,使用合成肽来选择性地直接在体外刺激血液和/或脾脏衍生的CD8<sup>+</sup> T细胞。细胞内细胞因子分析衡量生产干扰素(IFN)- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 和/或白细胞介素(IL)-2的CD8<sup>+</sup> T细胞的频率。CD107a的表面表达充当流式细胞术(FACS)中细胞溶解脱粒作用的标志物。分析肽特异性,包括:HBs衍生的表位VWLSVIWM(SEQ ID NO:8)、HBs衍生的表位IPQSLDSWWTSL(SEQ ID NO:9)和HBc衍生的表位MGLKFRQL(SEQ ID NO:10)。

[0632] 7.3表达HBV抗原的基于复制缺陷性沙粒病毒的载体的

[0633] 免疫原性

[0634] 通过静脉内途径,C57BL/6小鼠(每组5只小鼠)用10<sup>5</sup>FFU的rLCMV/HBs-HBc(组1)、rLCMV/HBc(组3)、rLCMV/Pre-S2(组4),或用10<sup>4</sup>FFU的rLCMV/HBs-HBc(组2)免疫一次。对照组未治疗。免疫后10天,通过使用MHC I类多聚体测量血液中的CD8<sup>+</sup> T细胞。与HBs衍生的

表位VWLSVIWM复合的H-2K<sup>b</sup> dextramers,以及与HBc衍生的表位MGLKFRQL复合的H-2K<sup>b</sup> dextramers用于与抗CD8a抗体组合,来鉴定乙型肝炎病毒特异性CD8<sup>+</sup> T细胞。计数的细胞表示为外周血中总的CD8<sup>+</sup>B220<sup>-</sup>T细胞库的百分比。

[0635] 如附图3所示,结果表明,用rLCMV/HBsHBc、rLCMV/HBc和rLCMV/Pre-S2接种诱导了针对各自载体表达的抗原的实质性抗原特异性CD8<sup>+</sup> T细胞反应。用rLCMV/HBs-HBc接种诱导的抗HBs和抗HBc CD8<sup>+</sup> T细胞反应显示了清楚的剂量依赖性。与rLCMV/HBc免疫相比,rLCMV/HBs-HBc免疫时更高频率的抗HBc CD8<sup>+</sup> T细胞表明,与HBs融合产生了HBc的放大的免疫原性。

[0636] 与用rLCMV/HBs-HBc免疫后相比,用rLCMV/Pre-S2免疫后的抗HBs CD8<sup>+</sup> T细胞频率稍微更高,提出了抗HBc CD8<sup>+</sup> T细胞反应与抗HBs反应竞争抗原可用性的可能性。

[0637] 7.4表达HBV抗原的基于减毒复制感受态沙粒病毒的载体的免疫原性

[0638] 通过静脉内途径,C57BL/6小鼠(每组5只小鼠)用10<sup>5</sup>FFU的r3LCMV/HBs-HBc(组1)、r3LCMV/HBc(组2)、r3LCMV/Pre-S2(组3),或用10<sup>5</sup>FFU的rLCMV/HBs-HBc(组4)免疫一次。对照小鼠没有免疫接种。免疫后8天,通过使用MHC I类多聚体测量血液中的HBs和HBc表位特异性CD8<sup>+</sup> T细胞。与HBs衍生的表位VWLSVIWM复合的H-2K<sup>b</sup> dextramers,以及与HBc衍生的表位MGLKFRQL复合的H-2K<sup>b</sup> dextramers用于与抗CD8a抗体组合,来鉴定乙型肝炎病毒特异性CD8<sup>+</sup> T细胞。计数的细胞按两种不同的方式表示,外周血中总的CD8<sup>+</sup>B220<sup>-</sup>T细胞库的百分比(附图4A),或血液中循环淋巴细胞的百分比(附图4B)。

[0639] 如附图4所示,结果表明,所有基于r3LCMV的构建体以及复制缺陷性rLCMV/HBs-HBc参考载体都是免疫原性的,引发了分别针对它们载体化的抗原的表位特异性CD8<sup>+</sup> T细胞。此外,当作为循环淋巴细胞的百分比计数表位特异性CD8<sup>+</sup> T细胞时,复制性的r3LCMV/HBs-HBc显示了比它的复制缺陷性对应物rLCMV/HBs-HBc更有免疫原性。

[0640] 等价物和通过引用合并:本文描述的实施方式意图仅仅是示范性的,本领域技术人员将认识到,或能够确定不超出常规实验的、本文描述的具体过程的许多等价物。所有这样的等价物被认为处在本发明的范围内,由以下实施方式所覆盖。本文引用的所有参考文献(包括专利申请、专利和公开物)为了所有目的通过将它们完全引用来合并在本文中,其程度与具体地和单独地指示为了所有目的通过将其完全引用来合并每个单独的参考文献(例如,公开物或专利或专利申请)相同。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 霍欧奇帕生物科技股份有限公司
- [0003] <120> 针对乙型肝炎病毒的疫苗
- [0004] <130> 13194-014-228
- [0005] <140> TBA
- [0006] <141> 2016-11-03
- [0007] <150> 62/250,639
- [0008] <151> 2015-11-04
- [0009] <160> 26
- [0010] <170> PatentIn version 3.5
- [0011] <210> 1
- [0012] <211> 846
- [0013] <212> DNA
- [0014] <213> 人工序列
- [0015] <220>
- [0016] <223> HBV pre-S2/S ORF
- [0017] <400> 1
- [0018] atgcagtgga attccacaac cttccaccaa actctgcaag atcccagagt gagaggcctg 60
- [0019] tatttccctg ctggtggctc cagttcagga acagtcaacc ctgttctgac cactgcctct 120
- [0020] cccttgatcat caatcttctc caggattggg gacctgctc tgaacatgga gaacatcaca 180
- [0021] tcaggattcc tgggaccctc tcttgtgtg caggcagggt ttttcttgtt gacaagaatc 240
- [0022] ctcaaatcc ctgagagtct ggactcttgg tggacttctc tcaattttct ggggggaacc 300
- [0023] acagtgtgtc ttggccaaaa ttctcagtc ccaacctcca atcactcacc aacctcttgt 360
- [0024] cctccaactt gtcctgggta cagatggatg tgtctgagga gattcatcat ctctctctc 420
- [0025] atctgctgc tgtgcctcat cttcttgttg gttcttcttg actatcaagg aatgttgcca 480
- [0026] gtttgcctc tgattccagg atcctcaaca accagcactg gaccatgcag gacctgcatg 540
- [0027] accactgctc aaggaacctc aatgtatccc tctgttgct gcaccaaacc ttcagatgga 600
- [0028] aattgcacct gcattcccat cccatcatcc tgggcttttg gaaaattcct ttgggagtgg 660
- [0029] gcctcagcca gattctcctg gctcagttg ctggtgcat ttgttcagt gtttgttggg 720
- [0030] ctttccccca ctgtttggt ttcagtgatt tggatgatgt ggtattgggg gccaaagtctg 780
- [0031] tacagcatct tgagtcctt tttgcctctg ttgccaat tcttttctct ttgggtctac 840
- [0032] atttaa 846
- [0033] <210> 2
- [0034] <211> 552
- [0035] <212> DNA
- [0036] <213> 人工序列
- [0037] <220>
- [0038] <223> HBV HBc ORF
- [0039] <400> 2
- [0040] atggacattg acccttaca agaatttga gcaactgtg agttgctctc ctttttgcct 60
- [0041] tctgacttct ttccttcagt gagagatctt cttgacactg cctcagctct gtacaggga 120

[0042]	gccttggagt ctctgagca ttgttcacct caccacactg cactcaggca agcaattctt	180
[0043]	tgctgggggg aactcatgac tctggcaacc tgggtgggtg tcaatttga agatccagcc	240
[0044]	tcaagagacc ttgtggtcag ttatgtcaac acaacatgg gctgaagtt caggcaactc	300
[0045]	ttgtggtttc acatttcttg tctcacitit ggaagagaaa cagtcattga gtatttgggtg	360
[0046]	tcttttggag tgtggatcag gactcctcca gcttacagac caccaaagtc cccaatcctg	420
[0047]	tcaacacttc cagagaccac tgttgtcaga agaagaggca ggtccccag aagaagaact	480
[0048]	ccctcaccaa gaagaagaag gtctcaatct cccagaagga gaagatctca atcaaggga	540
[0049]	tctcaatggt ag	552
[0050]	<210>	3
[0051]	<211>	1719
[0052]	<212>	DNA
[0053]	<213>	人工序列
[0054]	<220>	
[0055]	<223>	HBV HBs-HBc 融合蛋白 ORF
[0056]	<400>	3
[0057]	atggggcaga atctttccac cagcaatcct ctgggattct ttccagacca ccagttggat	60
[0058]	ccagccttca gagcaaacac tgcaaatcca gattgggact tcaatcccaa caaggacacc	120
[0059]	tggccagatg ccaacaaggt gggagctgga gcatttgggc tgggtttcac cccacccat	180
[0060]	ggaggccttt tgggtggag ccctcaggct cagggcattc tgcaaacctt gccagcaaat	240
[0061]	ccacctctg cctccacca caggcagtc ggaaggcagc ccacctct gtctccacct	300
[0062]	ttgagaaca ctcatcctca ggccatgcag tggaattcca caaccttcca ccaactctg	360
[0063]	caagatccca gaggagagg cctgtatttc cctgctgggt gctccagtc aggaacagtc	420
[0064]	aacctgttc tgaccactgc ctctcccttg tcatcaatct tctccaggat tggggaccct	480
[0065]	gctctgaaca tggagaacat cacatcagga ttcttgggac cccttcttgt gttgcaggca	540
[0066]	gggtttttct ttttgacaag aatcctcaca atcctcaga gtctggactc ttggtggact	600
[0067]	tctctcaatt ttctggggg aaccacagtg tgtcttggcc aaaatttctca gtcccaacc	660
[0068]	tccaatcact caccaacctc ttgtcctcca acttgtctg gttacagatg gatgtgtctg	720
[0069]	aggagattca tcatcttct ctctcatctg ctgctgtgcc tcatcttctt gttggttctt	780
[0070]	ctggactatc aaggaatgt gccagtttgt cctctgattc caggatctc aacaaccagc	840
[0071]	actggaccat gcaggacct catgaccact gctcaaggaa cctcaatgta tccctctgt	900
[0072]	tgctgcacca aaccttcaga tggaaattgc acctgcattc ccatccatc atcctgggct	960
[0073]	tttgaaaat tcctttggga gtgggcctca gccagattct cctggctcag tttgctgggtg	1020
[0074]	ccatttgctc agtggtttgt tgggctttcc cccactgtt ggctttcagt gatttggatg	1080
[0075]	atgtgtatt gggggccaag tctgtacagc atcttgagtc cttttttgcc tctgttgcca	1140
[0076]	attttctttt gtctttgggt ctacattatg gacattgacc cttacaaaga atttgagca	1200
[0077]	actgtggagt tgctctcctt tttgccttct gacttcttcc cttcagtgag agatcttctt	1260
[0078]	gacactgcct cagctctgta cagggaagcc ttggagtctc ctgagcattg ttacactcac	1320
[0079]	cacactgcac tcaggcaagc aattctttgc tggggggaac tcatgactct ggcaacctgg	1380
[0080]	gtgggtgtca atttggaaga tccagcctca agagacctg tggtcagtta tgtcaacaca	1440
[0081]	aacatgggcc tgaagttcag gcaactcttg tggtttcaca tttcttgtct cacttttga	1500
[0082]	agagaacacag tcattgagta tttggtgtct tttggagtgt ggatcaggac tctccagct	1560
[0083]	tacagaccac caaatgcccc aatcctgtca acacttccag agaccactgt tgtcagaaga	1620

[0084] agaggcaggt cccccagaag aagaactccc tcaccaagaa gaagaaggtc tcaatctccc 1680  
 [0085] agaaggagaa gatctcaatc aagggaatct caatgttag 1719  
 [0086] <210> 4  
 [0087] <211> 3599  
 [0088] <212> DNA  
 [0089] <213> 人工序列  
 [0090] <220>  
 [0091] <223> 表达HBV HBs-HBc融合蛋白的LCMV S片段的cDNA  
 [0092] <400> 4  
 [0093] gcgcaccggg gatcctaggc tttttggatt gcgctttcct ctagatcaac tgggtgtcag 60  
 [0094] gccctatcct acagaaggat ggggcagaat ctttccacca gcaatcctct gggattcttt 120  
 [0095] ccagaccacc agttggatcc agccttcaga gcaaacactg caaatccaga ttgggacttc 180  
 [0096] aatcccaaca aggacacctg gccagatgcc aacaaggtag gagctggagc atttgggctg 240  
 [0097] ggtttcaccc caccatctgg aggccttttg gggtaggagc ctcaggctca gggcattctg 300  
 [0098] caaactttgc cagcaaatcc acctcctgcc tccaccaaca ggcagtcagg aaggcagccc 360  
 [0099] acccctctgt ctccacctt gagaaacact catcctcagg ccatgcagtg gaattccaca 420  
 [0100] accttcacc aaactctgca agatcccaga gtgagaggcc tgtatttccc tgcgtgtggc 480  
 [0101] tccagttcag gaacagtcaa ccctgtctg accactgcct ctcccttgct atcaatcttc 540  
 [0102] tccaggattg gggaccctgc tctgaacatg gagaacatca catcaggatt cctgggacct 600  
 [0103] cttcttgtgt tgcaggcagg gtttttcttg ttgacaagaa tcttcacaat ccctcagagt 660  
 [0104] ctggactctt ggtggacttc tctcaatttt ctggggggaa ccacagtgtg tcttgccaa 720  
 [0105] aattctcagt cccaacctc caatcactca ccaacctctt gtcctccaac ttgtcctggt 780  
 [0106] tacagatgga tgtgtctgag gagattcatc atcttctct tcatcctgct gctgtgcctc 840  
 [0107] atcttcttgt tggttcttct ggactatcaa ggaatgttgc cagtttgtcc tctgattcca 900  
 [0108] ggatcctcaa caaccagcac tggaccatgc aggacctgca tgaccactgc tcaaggaacc 960  
 [0109] tcaatgtatc cctcctgttg ctgcacaaa cttcagatg gaaattgcac ctgcattccc 1020  
 [0110] atcccatcat cctgggcttt tggaaaattc ctttgggagt gggcctcagc cagattctcc 1080  
 [0111] tggctcagtt tgctgtgcc atttgttcag tggttgttg ggctttcccc cactgtttgg 1140  
 [0112] ctttcagtga tttggatgat gtggtattgg gggccaagtc tgtacagcat cttgagtccc 1200  
 [0113] ttttgcctc tgttgccaat tttcttttgt ctttgggtct acattatgga cattgacctt 1260  
 [0114] tacaagaat ttggagcaac tgtggagttg ctctccttt tgccttctga cttctttcct 1320  
 [0115] tcagttagag atcttcttga cactgcctca gctctgtaca gggaagcctt ggagtctcct 1380  
 [0116] gagcattgtt cacctacca cactgcactc aggcaagcaa ttctttgctg gggggaactc 1440  
 [0117] atgactctgg caacctgggt ggggtgtcaat ttggaagatc cagcctcaag agaccttggt 1500  
 [0118] gtcagttatg tcaacacaaa catgggcctg aagttcaggc aactcttggt gtttcacatt 1560  
 [0119] tcttgtctca cttttggaag agaaacagtc attgagtatt tgggtgtctt tggagtgtgg 1620  
 [0120] atcaggactc ctccagctta cagaccacca aatgccccaa tctgttcaac acttcagag 1680  
 [0121] accactgttg tcagaagaag aggcaggtec ccagaagaa gaactccctc accaagaaga 1740  
 [0122] agaaggtctc aatctcccag aaggagaaga tctcaatcaa gggaatctca atgttagaga 1800  
 [0123] acagcgctc cctgactctc cacctcgaag gaggtggaga gtcaggaggg ccagagggt 1860  
 [0124] cttagagtgt cacaacattt gggcctctaa aaattaggtc atgtggcaga atgttgtgaa 1920  
 [0125] cagttttcag atctgggagc cttgcttttg aggcgcttcc aaaaatgatg cagtccatga 1980

[0126]	gtgcacagtg cggggtgatc tctttcttct ttttgtccct tactattcca gtatgcatct	2040
[0127]	tacacaacca gccatatttg tcccacactt tatcttcata ctccctcgaa gcttccctgg	2100
[0128]	tcatttcaac atcgataagc ttaatgtcct tectattttg tgagtccaga agctttctga	2160
[0129]	tgtcatcgga gccttgacag cttagaacca tcccctgcgg aagagcacct ataactgacg	2220
[0130]	aggtcaaccc gggttgcgca ttgaagaggt cggcaagatc catgccgtgt gagtacttgg	2280
[0131]	aatcttgctt gaattgtttt tgatcaacgg gttccctgta aaagtgtatg aactgcccgt	2340
[0132]	tctgtggttg gaaaattgct atttccactg gatcattaaa tctaccctca atgtcaatcc	2400
[0133]	atgtaggagc gttggggtea attcctccca tgaggctctt taaaagcatt gtctggctgt	2460
[0134]	agcttaagcc cacctgaggt ggacctgctg ctccaggcgc tggcctgggt gagttgactg	2520
[0135]	caggtttctc gcttgtgaga tcaattgttg tgttttccca tgctctcccc acaatcgatg	2580
[0136]	ttctacaagc tatgtatggc catccttcac ctgaaaggca aactttatag aggatgtttt	2640
[0137]	cataagggtt cctgtcccca acttggtctg aaacaaacat gttgagtttt ctcttgcccc	2700
[0138]	cgagaactgc cttcaagaga tcctcgctgt tgcttggtt gatcaaaatt gactctaaca	2760
[0139]	tgttaccccc atccaacagg gctgccccgt ccttcacggc agcaccaaga ctaaagttat	2820
[0140]	agccagaaat gttgatgctg gactgctgtt cagtgatgac cccagaaact ggggtgcttgt	2880
[0141]	ctttcagcct ttcaagatca ttaagatttg gatacttgac tgtgtaaagc aagccaaggt	2940
[0142]	ctgtgagcgc ttgtacaacg tcattgagcg gagtctgtga ctgtttggcc atacaagcca	3000
[0143]	tagttagact tggcattgtg ccaaattgat tgttcaaaag tgatgagtct ttcacatccc	3060
[0144]	aaactcttac cacaccactt gcacctgct gaggccttct catcccaact atctgtagga	3120
[0145]	tctgagatct ttggtctagt tgctgtgttg ttaagttccc catatatacc cctgaagcct	3180
[0146]	ggggcctttc agacctcatg atcttggcct tcagcttctc aaggctcagcc gcaagagaca	3240
[0147]	tcagttcttc tgcactgagc ctccccactt tcaaaacatt cttctttgat gttgacttta	3300
[0148]	aatccacaag agaattgaca gtctgggtga gacttctgag tctctgtagg tctttgtcat	3360
[0149]	ctctcttttc ctctctcatg atcctctgaa cattgtctgac ctgagagaag tccaacccat	3420
[0150]	tcagaagggt ggttgcaccc ttaatgacag cagccttcac atctgatgtg aagctctgca	3480
[0151]	attctcttct caatgcttgc gtccattgga agctcttaac ttccttagac aaggacatct	3540
[0152]	tgttgtctca tggtttctca agacaaatgc gcaatcaaat gcctaggatc cactgtgcg	3599
[0153]	<210> 5	
[0154]	<211> 2432	
[0155]	<212> DNA	
[0156]	<213> 人工序列	
[0157]	<220>	
[0158]	<223> 表达HBc ORF的LCMV S 片段的cDNA	
[0159]	<400> 5	
[0160]	gcgcaccggg gatcctaggc tttttggatt gcgctttcct ctagatcaac tgggtgtcag	60
[0161]	gccctatcct acagaaggat ggacattgac cttacaaag aatttggagc aactgtggag	120
[0162]	ttgtctcct ttttgccttc tgacttcttt cttcagtga gagatcttct tgacactgcc	180
[0163]	tcagctctgt acaggaagc cttggagtct cctgagcatt gttcacctca ccacactgca	240
[0164]	ctcaggcaag caattctttg ctggggggaa ctcatgactc tggcaacctg ggtgggtgtc	300
[0165]	aatttgaag atccagcctc aagagacctt gtggtcagtt atgtcaacac aaacatgggc	360
[0166]	ctgaagttca ggcaactctt gtggtttcac atttcttgtc tcacttttgg aagagaaaca	420
[0167]	gtcattgagt atttgggtgc ttttggagtg tggatcagga ctctccagc ttacagacca	480



[0168]	ccaaatgccc caatcctgtc aacacttcca gagaccactg ttgtcagaag aagaggcagg	540
[0169]	tccccagaa gaagaactcc ctcaccaaga agaagaaggt ctcaatctcc cagaaggaga	600
[0170]	agatctcaat caagggaatc tcaatgttag agaacagcgc ctccctgact ctccacctcg	660
[0171]	aaagaggtag agagtcaggg aggccagag ggtcttagag tgtcacaaca tttgggcctc	720
[0172]	taaaaattag gtcatgtggc agaattgtgt gaacagtttt cagatctggg agccttgctt	780
[0173]	tggaggcgct ttcaaaaatg atgcagtcca tgagtgcaca gtgcgggggtg atctctttct	840
[0174]	tctttttgtc ctttactatt ccagtatgca tcttacacaa ccagccatat ttgtcccaca	900
[0175]	ctttatcttc atactccctc gaagcttccc tggtcatttc aacatcgata agcttaatgt	960
[0176]	ccttcctatt ttgtgagtc agaagctttc tgatgtcatc ggagccttga cagcttagaa	1020
[0177]	ccatccccctg cggaagagca cctataactg acgagggtcaa cccgggttgc gcattgaaga	1080
[0178]	ggtcggcaag atccatgccg tgtgagtact tggaatcttg cttgaattgt ttttgatcaa	1140
[0179]	cgggttcctt gtaaaagtgt atgaactgcc cgttctgttg ttggaaaatt gctatttcca	1200
[0180]	ctggatcatt aaatctaccc tcaatgtcaa tccatgtagg agcgttgggg tcaattcctc	1260
[0181]	ccatgaggtc ttttaaaagc attgtctggc tgtagcttaa gccacactga ggtggacctg	1320
[0182]	ctgtccagg cgctggcctg ggtgagtga ctgcaggttt ctgcttctg agatcaattg	1380
[0183]	ttgtgttttc ccatgtctc cccacaatcg atgttctaca agctatgtat ggccatcctt	1440
[0184]	cacctgaaag gcaaaactta tagaggatgt tttcataagg gttcctgtcc ccaacttgg	1500
[0185]	ctgaaacaaa catgttgagt tttctcttg ccccgagaac tgccttcaag agatcctcgc	1560
[0186]	tgttgcttgg cttgatcaaa attgactcta acatgttacc cccatccaac agggctgccc	1620
[0187]	ctgccttcac ggcagacca agactaaagt tatagccaga aatgttgatg ctggactgct	1680
[0188]	gttcagtgat gacccccaga actgggtgct tgtctttcag cttttcaaga tcattaagat	1740
[0189]	ttggatactt gactgtgtaa agcaagccaa ggtctgtgag cgcttgatca acgtcattga	1800
[0190]	gcgaggtctg tgactgtttg gccatacaag ccatagttag acttggcatt gtgccaaatt	1860
[0191]	gattgttcaa aagtgatgag tctttcacat cccaaactct taccacacca cttgcacct	1920
[0192]	gctgaggett tctcatccca actatctgta ggatctgaga tctttgtct agttgctgtg	1980
[0193]	ttgttaagtt ccccatatat acccctgaag cctggggcct ttcagacctc atgatcttgg	2040
[0194]	ccttcagctt ctcaaggta gccgcaagag acatcagttc ttctgcactg agcctcccca	2100
[0195]	ctttcaaaac attcttcttt gatgttgact ttaaattccac aagagaatgt acagtctggt	2160
[0196]	tgagacttct gagtctctgt aggtctttgt catctctctt ttccttctc atgatectct	2220
[0197]	gaacattgct gacctcagag aagtccaacc cattcagaag gttggttgca tccttaatga	2280
[0198]	cagcagcctt cacatctgat gtgaagctct gcaattctct tctcaatgct tgcgtccatt	2340
[0199]	ggaagctctt aacttcctta gacaaggaca tcttggtgct caatggtttc tcaagacaaa	2400
[0200]	tgcgcaatca aatgcctagg atccactgtg cg	2432
[0201]	<210> 6	
[0202]	<211> 2726	
[0203]	<212> DNA	
[0204]	<213> 人工序列	
[0205]	<220>	
[0206]	<223> 表达pre-S2/S ORF的LCMV S 片段的cDNA	
[0207]	<400> 6	
[0208]	gcgaccggg gatcctaggc tttttggatt gcgctttcct ctagatcaac tgggtgtcag	60
[0209]	gccctatcct acagaaggat gcagtggaat tccacaacct tccacaaac tctgcaagat	120

[0210]	cccagagtga gaggcctgta tttccctgct ggtggctcca gttcaggaac agtcaaccct	180
[0211]	gtttctgacca ctgcctctcc cttgtcatca atctttctcca ggattgggga ccctgctctg	240
[0212]	aacatggaga acatcacatc aggattcctg ggaccccttc ttgtgttgca ggcagggttt	300
[0213]	ttcttgttga caagaatcct cacaatccct cagagtctgg actcttgggt gacttctctc	360
[0214]	aattttctgg ggggaaccac agtgtgtctt ggccaaaatt ctcagtcctc aacctccaat	420
[0215]	cactcaccaa cctcttgtcc tccaacttgt cctggttaca gatggatgtg tctgaggaga	480
[0216]	ttcatcatct tctcttcat cctgctgctg tgcctcatct tcttgttgggt tcttctggac	540
[0217]	tatcaaggaa tgttgccagt ttgtcctctg attccaggat cctcaacaac cagcactgga	600
[0218]	ccatgcagga cctgcatgac cactgctcaa ggaacctcaa tgtatccctc ctgttgctgc	660
[0219]	accaaaccct cagatggaaa ttgcacctgc attcccatcc catcatcctg ggcttttggg	720
[0220]	aaattccttt gggagtgggc ctgagccaga ttctcctggc tcagtttgcgt ggtgccattt	780
[0221]	gttcagtgggt ttgttgggt ttccccact gtttggcttt cagtgtttg gatgatgtgg	840
[0222]	tattgggggc caagtctgta cagcatcttg agtccctttt tgcctctgtt gccaattttc	900
[0223]	ttttgtcttt gggctctacat ttaaagaaca gcgcctccct gactctccac ctcgaaagag	960
[0224]	gtggagagtc agggaggccc agagggtctt agagtgtcac aacatttggg cctctaaaaa	1020
[0225]	ttaggtcatg tggcagaatg ttgtgaacag ttttcagatc tgggagcctt gctttggagg	1080
[0226]	cgctttcaaa aatgatgcag tccatgagtg cacagtgcgg ggtgatctct ttcttctttt	1140
[0227]	tgtcccttac tattccagta tgcacttac acaaccagcc atatttgtcc cacactttat	1200
[0228]	cttcatactc cctcgaagct tccctggta tttcaacatc gataagctta atgtccttcc	1260
[0229]	tattttgtga gtccagaagc tttctgatgt catcgagacc ttgacagctt agaaccatcc	1320
[0230]	cctgcggaag agcacctata actgacgagg tcaaccggg ttgcgcattg aagaggtcgg	1380
[0231]	caagatccat gccgtgtgag tacttggaa cttgcttgaa ttgtttttga tcaacgggtt	1440
[0232]	ccctgtaaaa gtgtatgaac tgcccgttct gtggttgga aattgctatt tccactggat	1500
[0233]	cattaaatct accctcaatg tcaatccatg taggagcgtt ggggtcaatt cctcccatga	1560
[0234]	ggtcttttaa aagcattgtc tggtctgagc ttaagccac ctgaggtgga cctgctgctc	1620
[0235]	caggcgtgg cctgggtgag ttgactgcag gtttctcgt tgtgagatca attgttgtgt	1680
[0236]	tttcccatgc tctcccaca atcgatgttc tacaagctat gtatggccat ccttcacctg	1740
[0237]	aaaggcaaac tttatagagg atgtttcat aagggttctt gtcccaaact tggcttga	1800
[0238]	caaacatgtt gaggtttctc ttggccccga gaactgcctt caagagatcc tgcgtgttgc	1860
[0239]	ttgcttgat caaaattgac tctaacatgt taccctcatc caacagggtt gccctgcct	1920
[0240]	tcacggcagc accaagacta aagttatagc cagaaatgtt gatgctggac tgctgttcag	1980
[0241]	tgatgacccc cagaactggg tgcttgtctt tcagccttc aagatcatta agatttggat	2040
[0242]	acttgactgt gtaaagcaag ccaaggctctg tgagcgttg tacaacgtca ttgagcggag	2100
[0243]	tctgtgactg tttggccata caagccatag ttagacttgg cattgtgcca aattgattgt	2160
[0244]	tcaaaagtga tgagtcttcc acatccaaa ctcttaccac accacttgca ccctgctgag	2220
[0245]	gctttctcat cccaactatc tgtaggatct gagatcttgg gtctagtgtc tgtgttggt	2280
[0246]	agttcccat atataccct gaagcctggg gcctttcaga cctcatgac ttggccttca	2340
[0247]	gcttctcaag gtcagccga agagacatca gttcttctgc actgagcctc cccactttca	2400
[0248]	aaacattctt ctttgatgtt gactttaaat ccacaagaga atgtacagtc tggttgagac	2460
[0249]	ttctgagtct ctgtaggtct ttgtcatctc tcttttctt cctcatgac ctctgaacat	2520
[0250]	tgctgacctc agagaagtcc aaccattca gaaggttgggt tgcacctta atgacagcag	2580
[0251]	ccttcacatc tgatgtgaag ctctgcaatt ctcttctcaa tgcttgcgtc cattggaagc	2640

[0252] tcttaacttc cttagacaag gacatcttgt tgctcaatgg tttctcaaga caaatgcgca 2700  
 [0253] atcaaatgcc taggatccac tgtgcg 2726  
 [0254] <210> 7  
 [0255] <211> 7229  
 [0256] <212> DNA  
 [0257] <213> 人工序列  
 [0258] <220>  
 [0259] <223> 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒克隆13片段L  
 [0260] (GenBank: DQ361066.1)  
 [0261] <400> 7  
 [0262] gcgcaccggg gatcctagge gtttagttgc gctgttttgt tgcacaactt tcttcgtgag 60  
 [0263] gctgtcagaa gtggacctgg ctgatatcga tgggtcaagg caagtccaga gaggagaaag 120  
 [0264] gcaccaatag tacaacagg gccgaaatcc taccagatac cacctatctt ggccctttaa 180  
 [0265] gctgcaaate ttgctggcag aaatttgaca gcttggttaag atgccatgac cactaccttt 240  
 [0266] gcaggcactg tttaaacctt ctgctgtcag tatccgacag gtgtcctctt tgtaaataac 300  
 [0267] cattaccaac cagattgaag atatcaacag cccaagctc tccacctccc tacgaagagt 360  
 [0268] aacaccgtcc ggccccggcc ccgacaaaca gccagcaca agggaaccgc acgtcaccca 420  
 [0269] acgcacacag acacagcacc caacacagaa cagcacaca cacacacaca cacaccaca 480  
 [0270] cgcacgcgcc cccaccaccg gggggcgccc cccccgggg ggcgggcccc cgaggagccc 540  
 [0271] ggaggagccc caggagatg cccatcagtc gatgtcctcg gccaccgacc cgccagcca 600  
 [0272] atcgtcgcag gacctccct tgagtctaaa cctgcccccc actgtttcat acatcaaagt 660  
 [0273] gtccttagat ttgctaaaac aaagtctgca atccttaaag gcgaaccagt ctggcaaaag 720  
 [0274] cgacagtgga atcagcagaa tagatctgtc tatacatagt tcctggagga ttacacttat 780  
 [0275] ctctgaaccc acaaatgtt caccagttct gaatcgtatg aggaagaggt tccaaggac 840  
 [0276] atcactaatc ttttcatagc cctcaagtcc tgctagaaag actttcatgt ccttggtctc 900  
 [0277] cagcttcaca atgatatttt ggacaagggt tcttccttca aaaagggcac ccatctttac 960  
 [0278] agtcagtggc acaggctccc actcaggctc aactctctca aagtcaatag atctaatacc 1020  
 [0279] atccagtatt cttttggagc ccaacaactc aagctcaaga gaatcaccaa gtatcaaggg 1080  
 [0280] atcttccatg taatctcaa actcttcaga tetgatatac aagacaccat cgttcacctt 1140  
 [0281] gaagacagag tctgtcctca gtaagtggag gcattcatcc aacattcttc tatctatctc 1200  
 [0282] acccttaaag aggtgagagc atgataaaag ttcagccaca cctggattct gtaattggca 1260  
 [0283] cctaaccaag aatatcaatg aaaatttcct taaacagtca gtattattct gattgtgcgt 1320  
 [0284] aaagtccact gaaattgaaa actccaatac cccttttgtg tagttgagca tgtagtccca 1380  
 [0285] cagatccctt aaggatttaa atgcctttgg gtttgtcagg ccctgcctaa tcaacatggc 1440  
 [0286] agcattacac acaacatctc ccattcggtg agagaaccac ccaaaaccaa actgcaaatac 1500  
 [0287] attcctaaac ataggcctct ccacattttt gttcaccacc tttgagacaa atgattgaaa 1560  
 [0288] ggggcccagt gcctcagcac catcttcaga tggcatcatt tctttatgag ggaaccatga 1620  
 [0289] aaaattgcct aatgtcctgg ttgttgcaac aaattctcga acaaatgatt caaaatacac 1680  
 [0290] ctgttttaag aagttcttgc agacatccct cgtgctaaca acaaatcat caaccagact 1740  
 [0291] ggagtcagat cgctgatgag aattggcaag gtcagaaaac agaacagtgt aatgttcatc 1800  
 [0292] cttttccac ttaacaacat gagaaatgag tgacaaggat tctgagttaa tatcaattaa 1860  
 [0293] aacacagagg tcaaggaatt taattctggg actccacctc atgttttttg agctcatgtc 1920

[0294]	agacataaat ggaagaagct gatcctcaaa gatcttggga tatagccgcc tcacagattg	1980
[0295]	aatcacttgg ttcaaattca ctttgtcctc cagtagcctt gagctctcag gctttcttgc	2040
[0296]	tacataatca catgggttta agtgcttaag agttaggttc tcaactgttat tcttcccttt	2100
[0297]	ggtcggttct gctaggaccc aaacacccaa ctcaaaagag ttgctcaatg aaatacaaat	2160
[0298]	gtagtcccaa agaagaggcc ttaaaaggca tatatgatca cggtagggctt ctggatgaga	2220
[0299]	ctgtttgtca caaatgtaca gcgttatacc atcccgattg caaactcttg tcacatgac	2280
[0300]	atctgtggtt agatcctcaa gcagcttttt gatatacaga ttttccctat ttttgtttct	2340
[0301]	cacacacctg cttcctagag ttttgcaaag gcctataaag ccagatgaga tacaactctg	2400
[0302]	gaaagctgac ttgttgattg cttctgacag cagcttctgt gcacccttg tgaatttact	2460
[0303]	acaaagtttg ttctggagtg tcttgatcaa tgatgggatt ctttccctct ggaaagtc	2520
[0304]	cactgatgga taaaccacct tttgtcttaa aaccatcctt aatgggaaca tttcattcaa	2580
[0305]	attcaaccag ttaacatctg ctaactgatt cagatcttct tcaagaccga ggaggtctcc	2640
[0306]	caattgaaga atggcctcct ttttatctct gttaaataag tctaagaaaa attcttcatt	2700
[0307]	aaattcacca tttttgagct tatgatgcag tttccttaca agctttctta caacctttgt	2760
[0308]	ttcattagga cacagttcct caatgagtct ttgtattctg taacctctag aaccatccag	2820
[0309]	ccaatctttc acatcagtgt tggatttcag tagaaatgga tccaaaggga aattggcata	2880
[0310]	ctttaggagg tccagtgttc tcccttggat actattaact agggagactg ggacgccatt	2940
[0311]	tgcatggct tgatctgcaa ttgtatctat tgtttcacaa agttgatgtg gctctttaca	3000
[0312]	cttgacattg tgtagcgtg cagatacaaa ctttgtgaga agagggactt cctccccca	3060
[0313]	tacatagaat ctagatttaa attctgcagc gaacctcca gccacacttt ttgggctgat	3120
[0314]	aaatttgttt aacaagccgc tcagatgaga ttggaattcc aacaggacaa ggacttcctc	3180
[0315]	cggatcactt acaaccaggt cactcagcct cctatcaaat aaagtgatct gatcatcact	3240
[0316]	tgatgtgtaa gcctctggtc tttcgccaaa gataacacca atgcagtagt tgatgaacct	3300
[0317]	ctcgctaagc aaaccataga agtcagaagc attatgcaag attccctgcc ccatatcaat	3360
[0318]	aaggctggat atatgggatg gcactatccc catttcaaaa tattgtctga aaattctctc	3420
[0319]	agtaacagtt gtttctgaac ccctgagaag ttttagcttc gacttgacat atgatttcat	3480
[0320]	cattgcattc acaacaggaa aggggacctc gacaagctta tgcatgtgcc aagttaacaa	3540
[0321]	agtgctaaca tgatctttcc cggaacgcac atactggtca tcacctagt ttgagattttg	3600
[0322]	tagaaacatt aagaacaaaa atgggcacat catttggtccc catttgctgt gatccatact	3660
[0323]	atagtttaag aaccttccc gcacattgat agtcattgac aagattgcat tttcaaattc	3720
[0324]	cttatcattg tttaaacagg agcctgaaaa gaaacttgaa aaagactcaa aataatcttc	3780
[0325]	tattaacctt gtgaacattt ttgtcctcaa atctccaata tagagtcttc tatttcccc	3840
[0326]	aacctgctct ttataagata gtgcaaattt cagccttcca gagtcaggac ctactgaggt	3900
[0327]	gtatgatgtt ggtgattctt ctgagtagaa gcacagattt ttcaaagcag cactcataca	3960
[0328]	ttgtgtcaac gacagagctt tactaaggga ctcagaatta ctttccctct cactgattct	4020
[0329]	cacgtcttct tccagtttgt cccagtcaaa tttgaaattc aagccttgcc tttgcatatg	4080
[0330]	cctgtatttc cctgagtacg catttgcatc catttgcaac agaactcatct tcatgcaaga	4140
[0331]	aaaccaatca ttctcagaaa agaactttct acaaaggttt tttgccatct catcgaggcc	4200
[0332]	acactgatct ttaatgactg aggtgaaata caaaggtgac agctctgttg aacctcaac	4260
[0333]	agcctcacag ataaatttca tgtcatcatt ggtagacat gatgggtcaa agtcttctac	4320
[0334]	taaatgaaa gatatttctg acaagataac ttttcttaag tgagccatct tccctgttag	4380
[0335]	aataagctgt aatgatgta gtccctttgt atttgtaagt ttttctccat ctcccttgtc	4440

[0336] attggccctc ctacctcttc tgtaccgtgc tatttggttg ttgacctttt cttcgagact 4500  
 [0337] tttgaagaag cttgtctctt cttctccatc aaaacatatt tctgccaggt tgtcttccga 4560  
 [0338] tctccctgtc tcttctccct tggaaccgat gaccaatcta gagactaact tggaaacttt 4620  
 [0339] atattcatag tctgagtggc tcaacttata cttttgtttt cttacgaaac tctccgtaat 4680  
 [0340] ttgactcaca gcactaaca gcaatttggt aaagtcatat tccagaagtc gttctccatt 4740  
 [0341] tagatgctta ttaaccacca cacttttggt actagcaaga tctaattgtg tcgcacatcc 4800  
 [0342] agagttagtc atgggatcta ggctgttttag cttcttctct cttttgaaa ttaaagtgcc 4860  
 [0343] gttgttaaat gaagacacca ttaggctaaa ggcttccaga ttaacacctg gagttgtatg 4920  
 [0344] ctgacagtca atttctttac tagtgaatct cttcatttgc tcatagaaca cacattcttc 4980  
 [0345] ctcaggagtg attgcttcct tgggggtgac aaaaaacca aattgacttt tgggctcaa 5040  
 [0346] gaacttttca aaacatttta tctgatctgt tagcctgtca ggggtctcct ttgtgatcaa 5100  
 [0347] atgacacagg tatgacacat tcaacataaa tttaaatttt gcactcaaca acaccttctc 5160  
 [0348] accagtacca aaaatagttt ttattaggaa tctaagcagc ttataacca cttctcagc 5220  
 [0349] aggtgtgatc agatcctccc tcaacttata cattaatgat gtagatgaaa aatctgacac 5280  
 [0350] tattgccatc accaaatata tgacactctg tacctgcttt tgatttctct ttgttgggtt 5340  
 [0351] ggtgagcatt agcaacaata gggctctcag tgcaacctca atgtcgggtg gacagtcttt 5400  
 [0352] caaatcagga catgatctaa tccatgaaat catgatgtct atcatattgt ataagacctc 5460  
 [0353] atctgaaaaa atttgtaaaa agaacctttt aggatctgca tagaaggaaa ttaaatgacc 5520  
 [0354] atccgggcct tgtatggagt agcacctga agattctcca gtcttctggt ataatagggt 5580  
 [0355] gtattcttca gagtccagtt ttattacttg gcaaaacact tctttgcatt ctaccacttg 5640  
 [0356] atatctcaca gacctatctt gattttgcct tagtctagca actgagctag ttttcatact 5700  
 [0357] gtttgtaag gccagacaaa cagatgataa tcttctcagg ctctgtatgt tcttcagctg 5760  
 [0358] ctctgtctg ggttggaat tgtaatcttc aaacttcgta taatacata tcgggtgagc 5820  
 [0359] tccaattttc ataaagtctt caaattcagt gaatgggtatg tggcattctt gctcaagggt 5880  
 [0360] ttcagacagt ccgtaatgtc cgaaactcag tcccaccact aacaggcatt tttgaatttt 5940  
 [0361] tgcaatgaac tactaatag atgccctaaa caattctca aaagacacct ttctaaacac 6000  
 [0362] ctttgacttt tttctattcc tcaaaagtct aatgaactcc tctttagtgc tgtgaaagct 6060  
 [0363] taccagccta tcattcacac tactatagca acaaccacc cagtgtttat cattttttaa 6120  
 [0364] cctttgaaat ttcgactgtt ttatcaatga ggaaagacac aaaacatcca gatttaacaa 6180  
 [0365] ctgtctcctt ctagtattca acagtttcaa actcttgact ttgtttaaca tagagaggag 6240  
 [0366] cctctcatat tcagtctag tctcacttcc ctttctgtgc ccatgggtct ctgcagttat 6300  
 [0367] gaatctcatc aaaggacagg attcgactgc ctccctgctt aatgttaaga tatcatcact 6360  
 [0368] atcagcaagg ttttcataga gctcagagaa ttccttgatc aagccttcag ggtttacttt 6420  
 [0369] ctgaaagttt ctctttaatt tccactttc taaatctctt ctaaacctgc tgaaaagaga 6480  
 [0370] gtttattcca aaaaccacat catcacagct catgttgggg ttgatgcctt cgtggcacat 6540  
 [0371] cctcataatt tcatcattgt gagttgacct cgcacttctc agaattttca tagagtccat 6600  
 [0372] accggagcgc ttgtcgatag tagtcttcag ggactcacag agtctaaaat attcagactc 6660  
 [0373] ttcaaagact ttctcatttt ggtagaata ctccaaaagt ttgaataaaa ggtctctaaa 6720  
 [0374] tttgaagttt gccactctg gcataaaact attatcataa tcacaacgac catctactat 6780  
 [0375] tggaactaat gtgacacccg caacagcaag gtcttccctg atgcatgcca atttgtagt 6840  
 [0376] gtctcttata aatttcttct caaaactggc tggagtgtc ctaacaaaac actcaagaag 6900  
 [0377] aatgagagaa ttgtctatca gcttgtaacc atcaggaatg ataagtggta gtcttgggca 6960

[0378] tacaattcca gactccacca aaattgtttc cacagactta tcgtcgtggt tgtgtgtgca 7020  
 [0379] gccactcttg tctgcactgt ctatttcaat gcagcgtgac agcaacttga gtccctcaat 7080  
 [0380] cagaaccatt ctgggttccc ttgtgtccag aaagttgagt ttctgccttg acaacctctc 7140  
 [0381] atcctgttct atatagttaa aacataactc tctcaattct gagatgattt catccattgc 7200  
 [0382] gcatcaaaaa gcctaggatc ctcggtgcg 7229  
 [0383] <210> 8  
 [0384] <211> 8  
 [0385] <212> PRT  
 [0386] <213> 人工序列  
 [0387] <220>  
 [0388] <223> HBV HBs蛋白衍生的表位  
 [0389] <400> 8  
 [0390] Val Trp Leu Ser Val Ile Trp Met  
 [0391] 1 5  
 [0392] <210> 9  
 [0393] <211> 12  
 [0394] <212> PRT  
 [0395] <213> 人工序列  
 [0396] <220>  
 [0397] <223> HBV HBs蛋白衍生的表位  
 [0398] <400> 9  
 [0399] Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu  
 [0400] 1 5 10  
 [0401] <210> 10  
 [0402] <211> 8  
 [0403] <212> PRT  
 [0404] <213> 人工序列  
 [0405] <220>  
 [0406] <223> HBV HBc蛋白衍生的表位  
 [0407] <400> 10  
 [0408] Met Gly Leu Lys Phe Arg Gln Leu  
 [0409] 1 5  
 [0410] <210> 11  
 [0411] <211> 3376  
 [0412] <212> DNA  
 [0413] <213> 人工序列  
 [0414] <220>  
 [0415] <223> 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒片段 S, 全cDNA序列  
 [0416] <400> 11  
 [0417] cgcaccgggg atcctaggct ttttggattg cgctttcctc tagatcaact ggggtgtcagg 60  
 [0418] ccctatccta cagaaggatg ggtagattg tgacaatgtt tgaggctctg cctcacatca 120  
 [0419] tcgatgaggt gatcaacatt gtcattattg tgcttatcgt gatcacgggt atcaaggetg 180

[0420]	tctacaattt	tgccacctgt	gggatattcg	cattgatcag	tttctactt	ctggctggca	240
[0421]	ggctctgtgg	catgtacggt	cttaagggtg	cgcacattta	caaaggagt	taccaattta	300
[0422]	agtcagtggg	gtttgatatg	tcacatctga	acctgacct	gccaacgca	tgttcagcca	360
[0423]	acaactccca	ccattacatc	agtatgggga	cttctggact	agaattgacc	ttcaccaatg	420
[0424]	attccatcat	cagtcacaac	ttttgcaatc	tgacctctgc	cttcaacaaa	aagacctttg	480
[0425]	accacacact	catgagtata	gtttcgagcc	tacacctcag	tatcagaggg	aactccaact	540
[0426]	ataaggcagt	atcctgcgac	ttcaacaatg	gcataacct	ccaatacaac	ttgacattct	600
[0427]	cagatcgaca	aagtgtctag	agccagtgtg	gaaccttcag	aggtagagtc	ctagatatgt	660
[0428]	ttagaactgc	cttcgggggg	aaatacatga	ggagtggctg	gggctggaca	ggctcagatg	720
[0429]	gcaagaccac	ctgggttagc	cagacgagtt	accaatacct	gattatacaa	aatagaacct	780
[0430]	gggaaaacca	ctgcacatat	gcaggtcctt	ttgggatgtc	caggattctc	ctttcccaag	840
[0431]	agaagactaa	gttcttcact	aggagactag	cgggcacatt	cacctggact	ttgtcagact	900
[0432]	cttcaggggt	ggagaatcca	ggtggttatt	gcctgaccaa	atggatgatt	cttgcctcag	960
[0433]	agcttaagtg	tttcgggaac	acagcagttg	cgaaatgcaa	tgtaaactcat	gatgccgaat	1020
[0434]	tctgtgacat	gctgcgacta	attgactaca	acaaggctgc	tttgagtaag	ttcaaagagg	1080
[0435]	acgtagaatc	tgcttgcac	ttattcaaaa	caacagtga	ttctttgatt	tcagatcaac	1140
[0436]	tactgatgag	gaaccacttg	agagatctga	tgggggtgcc	atattgcaat	tactcaaagt	1200
[0437]	tttggctact	agaacatgca	aagaccggcg	aaactagtgt	ccccaagtgc	tggcttgtca	1260
[0438]	ccaatgggtt	ttacttaaat	gagaccctct	tcagtgatca	aatcgaacag	gaagccgata	1320
[0439]	acatgattac	agagatgttg	aggaaggatt	acataaagag	gcaggggagt	acccccctag	1380
[0440]	cattgatgga	ccttctgatg	ttttccacat	ctgcatactc	agtcagcatc	ttcctgcacc	1440
[0441]	ttgtcaaaat	accaacacac	aggcacataa	aaggtggctc	atgtccaaag	ccacaccgat	1500
[0442]	taaccaacaa	aggaatttgt	agttgtggtg	catttaaggt	gcctgggtga	aaaaccgtct	1560
[0443]	ggaaaagacg	ctgaagaaca	gcgcctccct	gactctccac	ctcgaaagag	gtggagagtc	1620
[0444]	agggaggccc	agagggtcct	agagtgtcac	aacatttggg	cctctaaaaa	ttaggctcatg	1680
[0445]	tggcagaatg	ttgtgaacag	ttttcagatc	tgggagcctt	gctttggagg	cgctttcaaa	1740
[0446]	aatgatgcag	tccatgagtg	cacagtgcgg	ggtgatctct	ttcttctttt	tgtcccttac	1800
[0447]	tattccagta	tgcatcttac	acaaccagcc	atatttgtcc	cacactttgt	cttcatactc	1860
[0448]	cctcgaagct	tccttggtca	tttcaacatc	gataagctta	atgtccttcc	tattctgtga	1920
[0449]	gtccagaagc	tttctgatgt	catcgagacc	ttgacagctt	agaacctacc	cctgcggaag	1980
[0450]	agcacctata	actgacgagg	tcaaccgggg	ttgcgcattg	aagaggtcgg	caagatccat	2040
[0451]	gccgtgtgag	tacttggaat	cttgcttgaa	ttgtttttga	tcaacgggtt	ccctgtaaaa	2100
[0452]	gtgtatgaac	tgcccgttct	gtgggttgaa	aattgtctatt	tccactggat	cattaaatct	2160
[0453]	acctcaatg	tcaatccatg	taggagcggt	ggggtcaatt	cctcccatga	ggtcttttaa	2220
[0454]	aagcattgtc	tggctgtagc	ttaagccac	ctgaggtgga	cctgctgctc	caggcgctgg	2280
[0455]	cctgggtgaa	ttgactgcag	gtttctcgct	tgtgagatca	attgttgtgt	tttcccatgc	2340
[0456]	tctccccaca	atcgaatgtc	tacaagctat	gtatggccat	ccttcacctg	aaaggcaaac	2400
[0457]	tttatagagg	atgttttcat	aagggttcct	gtccccaaact	tggctctgaaa	caaacatgtt	2460
[0458]	gagttttctc	ttggccccga	gaactgcctt	caagaggtcc	tcgctgttgc	ttggcttgat	2520
[0459]	caaaattgac	tctaacatgt	tacccccatc	caacagggtc	gcccctgcct	tcacggcagc	2580
[0460]	accaagacta	aagttatagc	cagaaatgtt	gatgctggac	tgctgttcag	tgatgacccc	2640
[0461]	cagaactggg	tgcttgtctt	tcagccttcc	aagatcatta	agatttggat	acttgactgt	2700

[0462] gtaaagcaag ccaaggtctg tgagcgcttg tacaacgtca ttgagcggag tctgtgactg 2760  
 [0463] tttggccata caagccatag ttagacttgg cattgtgcca aattgattgt tcaaaagtga 2820  
 [0464] tgagtctttc acatcccaaa ctcttaccac accacttgca cctgtctgag gctttctcat 2880  
 [0465] cccaactatc tgtaggatct gagatctttg gtctagttgc tgtgttgta agttcccat 2940  
 [0466] atatacccct gaagcctggg gcctttcaga cctcatgac ttggccttca gcttctcaag 3000  
 [0467] gtcagccgca agagacatca gttcttctgc actgagcctc cccactttca aaacattctt 3060  
 [0468] ctttgatgtt gactttaaat ccacaagaga atgtacagtc tggttgagac ttctgagtct 3120  
 [0469] ctgtaggtct ttgtcatctc tcttttccct cctcatgac ctctgaacat tgctgacctc 3180  
 [0470] agagaagtcc aaccattca gaaggttggg tgcaccta atgacagcag cttcacatc 3240  
 [0471] tgatgtgaag ctctgcaatt ctcttctcaa tgcttgctc cattggaagc tcttaacttc 3300  
 [0472] cttagacaag gacatcttgt tgctcaatgg tttctcaaga caaatgcgca atcaaatgcc 3360  
 [0473] taggatccac tgtgcg 3376  
 [0474] <210> 12  
 [0475] <211> 3377  
 [0476] <212> DNA  
 [0477] <213> 人工序列  
 [0478] <220>  
 [0479] <223> 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒克隆13片段S, 全cDNA序列 (GenBank: DQ361065.2)  
 [0480] <400> 12  
 [0481] gcgcaccggg gatcctaggg tttttggatt gcgctttcct ctagatcaac tgggtgtcag 60  
 [0482] gccctatcct acagaaggat gggtcagatt gtgacaatgt ttgaggctct gcctcacatc 120  
 [0483] atcgatgagg tgatcaacat tgtcattatt gtgcttatcg tgatcacggg tatcaaggct 180  
 [0484] gtctacaatt ttgccacctg tgggatattc gcattgatca gtttctact tctggctggc 240  
 [0485] aggtcctgtg gcatgtacgg tcttaaggga cccgacattt acaaaggagt ttaccaattt 300  
 [0486] aagtcagtgg agtttgatat gtcacatctg aacctgacca tgcccaacgc atgttcagcc 360  
 [0487] aacaactccc accattacat cagtatgggg acttctggac tagaattgac cttaccaat 420  
 [0488] gattccatca tcagtacaaa cttttgcaat ctgacctctg cttcaacaa aaagacctt 480  
 [0489] gaccacacac tcatgagtat agtttcgagc ctacacctca gtatcagagg gaactccaac 540  
 [0490] tataaggcag tatcctgcga cttcaacaat ggcataacca tccaatacaa cttgacattc 600  
 [0491] tcagatgcac aaagtgtca gagccagtgt agaaccttca gaggtagagt cctagatatg 660  
 [0492] tttagaactg ccttcggggg gaaatacatg aggagtggct ggggctggac aggctcagat 720  
 [0493] ggcaagacca cctggtgtag ccagacgagt taccaatacc tgattatata aaatagaacc 780  
 [0494] tgggaaaacc actgcacata tgcaggtcct tttgggatgt ccaggattct cttttccaa 840  
 [0495] gagaagacta agttcctcac taggagacta gcgggcacat tcacctggac tttgtcagac 900  
 [0496] tcttcagggg tggagaatcc aggtggttat tgcctgacca aatggatgat tcttgctgca 960  
 [0497] gagcttaagt gtttcgggaa cacagcagtt gcgaaatgca atgtaaatca tgatgaagaa 1020  
 [0498] ttctgtgaca tgctgcgact aattgactac aacaaggctg ctttgagtaa gttcaaagag 1080  
 [0499] gacgtagaat ctgccttga cttattcaaa acaacagtga attctttgat ttcagatcaa 1140  
 [0500] ctactgatga ggaaccactt gagagatctg atgggggtgc catattgcaa ttactcaaag 1200  
 [0501] ttttggtacc tagaacatgc aaagaccggc gaaactagtg tcccaagtg ctggcttgtc 1260  
 [0502] accaatgggt cttacttaaa tgagaccac ttcagtgacc aaatcgaaca ggaagccgat 1320



[0503]	aacatgatta cagagatggt gaggaaggat tacataaaga ggcaggggag taccccccta	1380
[0504]	gcattgatgg accttctgat gttttccaca tctgcatatc tagtcagcat cttcctgcac	1440
[0505]	cttgtcaaaa taccaacaca caggcacata aaaggtggct catgtccaaa gccacaccga	1500
[0506]	ttaaccaaca aaggaatttg tagttgtggt gcatttaagg tgcctggtgt aaaaaccgtc	1560
[0507]	tggaaaagac gctgaagaac agcgctctcc tgactctcca cctcgaaaga ggtggagagt	1620
[0508]	cagggaggcc cagagggtct tagagtgtca caacatttgg gcctctaaaa attaggtcat	1680
[0509]	gtggcagaat gttgtgaaca gttttcagat ctgggagcct tgctttggag gcgctttcaa	1740
[0510]	aaatgatgca gtccatgagt gcacagtgcg gggtgatctc tttcttcttt ttgtccctta	1800
[0511]	ctattccagt atgcatctta cacaaccagc catatttgtc ccacactttg tcttcatact	1860
[0512]	ccctcgaagc ttccctggtc atttcaacat cgataagctt aatgtccttc ctattctgtg	1920
[0513]	agtccagaag ctttctgatg tcatcggagc cttgacagct tagaaccatc ccctgcggaa	1980
[0514]	gagcacctat aactgacgag gtcaaccggg gttgcgcatt gaagaggtcg gcaagatcca	2040
[0515]	tgccgtgtga gtacttgaa tcttgcttga attgtttttg atcaacgggt tccctgtaaa	2100
[0516]	agtgtatgaa ctgcccgttc tgtggttga aaattgctat ttccactgga tcattaaatc	2160
[0517]	taccctcaat gtcaatccat gtaggagcgt tggggtcaat tcctcccatg aggtctttta	2220
[0518]	aaagcattgt ctggctgtag ctttaagccca cctgaggtgg acctgctgct ccaggcgtg	2280
[0519]	gcctgggtga attgactgca ggtttctcgc ttgtgagatc aattgtttgt ttttcccatg	2340
[0520]	ctctccccac aatcgatggt ctacaagcta tgtatggcca tccttcacct gaaaggcaaa	2400
[0521]	ctttatagag gatgttttca taagggttcc tgtccccaac ttggtctgaa acaaacatgt	2460
[0522]	tgagttttct cttggccccg agaactgcct tcaagaggtc ctgctgttg cttggcttga	2520
[0523]	tcaaaattga ctctaacatg ttacccccat ccaacagggc tgcccctgcc ttcacggcag	2580
[0524]	caccaagact aaagttag ccagaaatgt tgatgctgga ctgctgttca gtgatgacct	2640
[0525]	ccagaactgg gtgcttgtct ttcagccttt caagatcatt aagatttga tacttgactg	2700
[0526]	tgtaaagcaa gccaaaggct gtgagcgctt gtacaacgtc attgagcgga gtctgtgact	2760
[0527]	gtttggccat acaagccata gttagacttg gcattgtgcc aaattgattg ttcaaaagt	2820
[0528]	atgagtcttt cacatcccaa actcttacca caccacttgc accctgctga ggctttctca	2880
[0529]	tccaactat ctgtaggac tgagatcttt ggtctagtgt ctgtgttgtt aagttcccca	2940
[0530]	tatatacccc tgaagcctgg ggcctttcag acctcatgat cttggccttc agcttctcaa	3000
[0531]	ggtcagccgc aagagacatc agttctctg cactgagcct cccactttc aaaacattct	3060
[0532]	tctttgatgt tgactttaaa tccacaagag aatgtacagt ctggttgaga cttctgagtc	3120
[0533]	tctgtaggtc tttgtcatct ctcttttct tctcatgat cctctgaaca ttgctgacct	3180
[0534]	cagagaagtc caaccattc agaaggttgg ttgcatcctt aatgacagca gccttcacat	3240
[0535]	ctgatgtgaa gctctgcaat tctcttctca atgcttgcgt ccattggaag ctcttaactt	3300
[0536]	cccttagaaa ggacatcttg ttgctcaatg gtttctcaag acaaatgcgc aatcaaatgc	3360
[0537]	ctaggatcca ctgtgcg	3377
[0538]	<210>	13
[0539]	<211>	7205
[0540]	<212>	DNA
[0541]	<213>	人工序列
[0542]	<220>	
[0543]	<223>	淋巴细胞性脉络丛脑膜炎毒株MP片段L, 全cDNA序列
[0544]	<400>	13

[0545]	gcgcaccggg gatcctaggc atttttgttg cgcattttgt tgtgttattt gttgcacagc	60
[0546]	ccttcacgtt gggacattca caaacaacc aaaccaccag ccatgggcca aggcaagtcc	120
[0547]	aaagaggga gggatgccag caatacgagc agagctgaaa ttctgccaga caccacctat	180
[0548]	ctcggacctc tgaactgcaa gtcattgctg cagagatttg acagtttagt cagatgccat	240
[0549]	gaccactatc tctgcagaca ctgcctgaac ctctgctgt cagtctccga caggtgccct	300
[0550]	ctctgaaac atccattgcc aaccaaactg aaaatatcca cggccccaag ctctccacc	360
[0551]	ccttacgagg agtgacgccc cgagcccaa caccgacaca aggaggccac caacacaacg	420
[0552]	cccaacacgg aacacacaca cacacacca cacacacac caccacacg cgccccaca	480
[0553]	acgggggccc cccccgggg gtggccccc ggggtgctcg gcggagcccc acggagaggc	540
[0554]	caattagtcg atctctcga ccaccgactt ggtagccag tcatcacagg acttgccctt	600
[0555]	aagtctgtac ttgccacaa ctgtttcata catcaccgtg ttctttgact tactgaaaca	660
[0556]	tagcctacag tctttgaaag tgaaccagtc aggcacaagt gacagcggta ccagtagaat	720
[0557]	ggatctatct atacacaact cttggagaat tgtgctaatt tccgaccct gtagatgtc	780
[0558]	accagttctg aatcgatgta gaagaaggct cccaaggacg tcatcaaat ttccataacc	840
[0559]	ctcgagctct gccaaagaaa ctctcatatc cttggtctcc agtttcacaa cgatgttctg	900
[0560]	aacaaggctt ctccctcaa aaagagcacc cattctcaca gtcaaggga caggctccca	960
[0561]	ttcaggccca atcctctcaa aatcaaggga tctgatcccg tccagtattt tcttgagcc	1020
[0562]	tatcagctca agctcaagag agtcaccgag tatcagggg tctccatat agtctcaaa	1080
[0563]	ctcttcagac ctaatgtcaa aaacaccatc gttcacctg aagatagagt ctgatctcaa	1140
[0564]	caggtggagg cattcgtcca agaacctct gtccacctca ctttaaaaga ggtgagagca	1200
[0565]	tgataggaac tcagctacac ctggacctg taactggcac ttactaaaa agatcaatga	1260
[0566]	aaacttctc aaacaatcag tgttattctg gttgtgagt aaatctact taattgagaa	1320
[0567]	ctctagcact ccctctgtat tatttatcat gtaatccac aagtttctca aagacttgaa	1380
[0568]	tgcttttga tttgtcaagc cttgtttgat tagcatggca gcattgcaca caatatctc	1440
[0569]	caatcggtaa gagaaccatc caaatccaaa ttgcaagtca ttctaaaca tgggcctctc	1500
[0570]	catatttttg ttactactt ttaagatgaa tgattggaaa ggcccaatg cttcagcgcc	1560
[0571]	atcttcagat ggcatcatgt ctttatgagg gaacctgaa aaacttcta gagttctgct	1620
[0572]	tgttgtaca aattctcgta caaatgactc aaaatacact tgttttaaaa agtttttgca	1680
[0573]	gacatccctt gtactaacga caaattcatc aacaaggctt gactcagagc gctgatggga	1740
[0574]	atttacaaga tcagaaaata gaacagtgtg gtgttcgtcc ctcttccact taactacatg	1800
[0575]	agaaatgagc gataaagatt ctgaattgat atcgatcaat acgcaaagg caaggaattt	1860
[0576]	gattctggga ctccatctca tgttttttga gctcatatca gacatgaagg gaagcagctg	1920
[0577]	atcttcagat attttagggt acaatgcct cacagattgg attacatggt ttaacttat	1980
[0578]	cttgctctcc agtagcctg aactctcagg ctctcttct acataatcac atgggttcaa	2040
[0579]	gtgcttgagg cttgagctc cctcattctt ccttttcaca gggtcagcta agacccaaac	2100
[0580]	acccaactca aaggaattac tcagttagat gcaaatatag tcccaaagga ggggcctcaa	2160
[0581]	gagactgatg tggctgcagt gagcttctg atgactttgc ctgtcacaaa tgtacaacat	2220
[0582]	tatgccatca tgtctgtgga ttgctgtcac atgcgcaccc atagctagat cctcaagcac	2280
[0583]	ttttctaata tatagattgt ccctatttt atttctcaca catctacttc ccaaagtttt	2340
[0584]	gcaaagacct ataaagcctg atgagatgca actttgaaag gctgacttat tgattgcttc	2400
[0585]	tgacagcaac ttctgtgcac ctcttgtaa cttactgcag agcttgttct ggagtgtctt	2460
[0586]	gattaatgat gggattcttt cctcttgaa agtcattact gatggataaa ccactttctg	2520

[0587]	cctcaagacc attcttaatg ggaacaactc attcaaattc agccaattta tgtttgccaa	2580
[0588]	ttgacttaga tcctcttcga ggccaaggat gtttcccaac tgaagaatgg cttccttttt	2640
[0589]	atccctattg aagaggtcta agaagaattc ttcatgtaac tcaccattct tgagcttatg	2700
[0590]	atgtagtctc cttacaagcc ttctcatgac cttcgtttca ctaggacaca attcttcaat	2760
[0591]	aagcctttgg attctgtaac ctctagagcc atccaaccaa tccttgacat cagtattagt	2820
[0592]	gttaagcaaa aatgggtcca agggaaagt ggcatatttt aagaggtcta atgttctctt	2880
[0593]	ctggatgcag ttaccaatg aaactggaac accatttgca acagcttgat cggcaattgt	2940
[0594]	atctattgtt tcacagagtt ggtgtggctc ttacactta acgttgtgta atgctgctga	3000
[0595]	cacaaatttt gttaaaagt ggacctctc ccccccacaca taaaatctgg atttaaattc	3060
[0596]	tgcagcaaat cgccccacca cacttttcgg actgatgaac ttgttaagca agccactcaa	3120
[0597]	atgagaatga aattccagca atacaaggac ttctcaggg tcaactatcaa ccagttcact	3180
[0598]	caatctccta tcaaataagg tgatctgac atcacttgat gtgtaagatt ctggtctctc	3240
[0599]	acaaaaatg acaccgatac aataattaat gaatctctca ctgattaagc cgtaaaagtc	3300
[0600]	agaggcatta tgtaagattc cctgtcccat gtcaatgaga ctgcttatat gggaaggcac	3360
[0601]	tattcctaatt tcaaaatatt ctgaaagat tctttcagtc acagttgtct ctgaaccctt	3420
[0602]	aagaagtttc agctttgatt tgatatatga ttcatcatt gcattcacia caggaaaagg	3480
[0603]	gacctcaaca agtttgtgca tgtgccaagt taataagggt ctgatatgat cctttccgga	3540
[0604]	acgcacatac tggatcatcac ccagtttgag attttgaagg agcattaaaa acaaaaatgg	3600
[0605]	gcacatcatt ggccccatt tgctatgac catactgtag ttcaacaacc cctctcgac	3660
[0606]	attgatggtc attgatagaa ttgcattttc aaattccttg tcattgttta agcatgaacc	3720
[0607]	tgagaagaag ctagaaaaag actcaaaata atcctctatc aatcttgtaa acatttttgt	3780
[0608]	tctcaaatcc ccaatataaa gttctctgtt tctccaacc tgctctttgt atgataacgc	3840
[0609]	aaacttcaac cttccggaat caggaccaac tgaagtgtat gacgttggtg actcctctga	3900
[0610]	gtaaaaacat aaattcttta aagcagcact catgcatttt gtcaatgata gacccctact	3960
[0611]	tagagactca gaattacttt ccttttcaat aattctaaca tcttcttcta gtttgtecca	4020
[0612]	gtcaaaactg aaattcagac cttgtctttg catgtgcctg tatttccctg agtatgcatt	4080
[0613]	tgcatcatt tgtagtagaa tcattttcat acacgaaaac caatcacctt ctgaaaaaaa	4140
[0614]	cttctgcag aggttttttg ccatttcac cagaccacat tgttctttga cagctgaagt	4200
[0615]	gaaatacaat ggtgacagtt ctgtagaagt ttcaatagcc tcacagataa atttcatgtc	4260
[0616]	atcattggtg agacaagatg ggtcaaaatc ttccacaaga tgaaaagaaa tttctgataa	4320
[0617]	gatgaccttc cttaaatatg ccattttacc tgacaatata gtctgaaggt gatgcaatcc	4380
[0618]	ttttgtattt tcaaacccca cctcattttc cccttcattg gtcttcttgc ttctttcata	4440
[0619]	ccgctttatt gtggagtga ctttatcttc taaattcttg aagaaacttg tctcttcttc	4500
[0620]	cccatcaaag catatgtctg ctgagtcacc ttctagtctt ccagcttctg tttctttaga	4560
[0621]	gccgataacc aatctagaga ccaactttga aacctgttac tcgtaatctg agtggttcaa	4620
[0622]	tttgtacttc tgctttctca tgaagctctc tgtgatctga ctcacagcac taacaagcaa	4680
[0623]	tttgttaaaa tcatactcta ggagccgttc ccattttaa tgtttgttaa caaccacact	4740
[0624]	tttgttctg gcaaggtcta atgctgttgc acaccagag ttagtcatgg gatccaagct	4800
[0625]	attgagcttc ttctccctt tgaaaaatca agtgccattg ttgaatgagg acaccatcat	4860
[0626]	gctaaaggcc tccagattga cacctgggggt tgtgcgctga cagtcaactt ctttccagt	4920
[0627]	gaacttcttc atttggtcat aaaaaacaca ctcttctca ggggtgattg actctttagg	4980
[0628]	gttaacaaag aagccaaact cacttttagg ctcaaagaat ttctcaaagc atttaatttg	5040

[0629]	atctgtcagc ctatcagggg tttcctttgt gattaaatga cacaggtatg acacattcaa	5100
[0630]	catgaacttg aactttgcgc tcaacagtac cttttcacca gtcccaaaaa cagttttgat	5160
[0631]	caaaaatctg agcaatttgt acactacttt ctacagcaggt gtgatcaaat cctccttcaa	5220
[0632]	cttgtccatc aatgatgtgg atgagaagtc tgagacaatg gccatcacta aataccta	5280
[0633]	gttttgaacc tgtttttgat tcctctttgt tgggttggtg agcatgagta ata	5340
[0634]	tctcaatgca atctcaacat catcaatgct gtccttcaag tcaggacatg atctgatcca	5400
[0635]	tgagatcatg gtgtcaatca tgttgtgcaa cacttcatct gagaagattg gtaaaaagaa	5460
[0636]	cctttttggg tctgcataaa aagagattag atggccattg ggaccttgta tagaataaca	5520
[0637]	ccttgaggat tctccagtct tttgatacag caggtgatat tcctcagagt ccaattttat	5580
[0638]	cacttgcaa aatacctctt tacattccac cacttgatac cttacagagc ccaattggtt	5640
[0639]	ttgtcttaat ctagcaactg aacttgtttt catactgttt gtcaaagcta gacagacaga	5700
[0640]	tgacaatctt ttcaaactat gcatgttcct taattgttcc gtattaggtt ggaaatcata	5760
[0641]	atcttcaaac tttgtataat acattatagg atgagttccg gacctcatga aattctcaa	5820
[0642]	ctcaataaat ggtatgtggc actcatgctc aagatgttca gacagaccat agtgcccaa	5880
[0643]	actaagtccc accactgaca agcacctttg aactttttaa atgaactcat ttatggatgt	5940
[0644]	tctaaacaaa tctcaagag atacctttct atacgccttt gactttctcc tgttccttag	6000
[0645]	aagtctgatg aactcttctt tgggtctatg aaagctcacc aacctatcat tcacactccc	6060
[0646]	atagcaacaa ccaaccagt gcttatcatt ttttgaccct ttgagtttag actgtttgat	6120
[0647]	caacgaagag agacacaaga catccaaatt cagtaactgt ctcttctggt tgttcaataa	6180
[0648]	ttttaacttt ttaactttgt tcaacataga gaggagctc tcatactcag tgctagtctc	6240
[0649]	acttctctc tcataacat gggatctgct tgtgataaat ctcatcaaag gacaggttc	6300
[0650]	aactgcctcc ttgcttagtg ctgaaatgct atcactgtca gcaagagtct cataaagctc	6360
[0651]	agagaattcc ttaattaaat ttccggggtt gattttctga aaactcctct tgagcttccc	6420
[0652]	agtttccaag tctcttctaa acctgctgta aaggagttt atgccaagaa ccacatcatc	6480
[0653]	gcagttcatg tttgggttga caccatcatg gcacattttc ataatttcat cattgtgaaa	6540
[0654]	tgatcttgca tctttcaaga ttttcataga gtctataccg gaacgcttat caacagtgg	6600
[0655]	cttgagagat tcgcaaagtc tgaagtactc agattcctca aagactttct catcttggct	6660
[0656]	agaatactct aaaagttaa acagaaggtc tctgaacttg aaattcaccc actctggcat	6720
[0657]	aaagctgtta tcataatcac accgaccatc cactattggg accaatgtga taccgcaat	6780
[0658]	ggcaaggtct tctttgatac aggctagttt attggtgtcc tctataaatt tcttctcaa	6840
[0659]	actagctggt gtgcttctaa cgaagcactc aagaagaatg aggggaattgt caatcagttt	6900
[0660]	ataacatca ggaatgatca aaggcagtc cgggcacaca atcccagact ctattagaat	6960
[0661]	tgctcaaca gatttatcat catggttgtg tatgcagccg ctcttgtcag cactgtctat	7020
[0662]	ctctatacaa cgcgacaaaa gtttgagtcc ctctatcaat accattctgg gttctctttg	7080
[0663]	ccctaaaaag ttgagcttct gccttgacaa cctctcatct tgttctatgt ggtttaagca	7140
[0664]	caactctctc aactccgaaa tagcctcatc cattgcgcat caaaaagcct aggatcctcg	7200
[0665]	gtgcg	7205
[0666]	<210>	14
[0667]	<211>	3359
[0668]	<212>	DNA
[0669]	<213>	人工序列
[0670]	<220>	

[0671] <223> 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎毒株MP片段S, 全cDNA序列

[0672] <400> 14

[0673] cgcaccgggg atcctagget ttttgattg cgctttcctc agctccgtct tgtgggagaa 60

[0674] tgggtcaa at tgtgacgatg tttgaggctc tgcctcacat cattgatgag gtcattaaca 120

[0675] ttgtcattat cgtgcttatt atcatcacga gcatcaaagc tgtgtacaat ttcgccacct 180

[0676] gcgggatact tgcattgatc agctttcttt ttctggctgg caggctcctgt ggaatgtatg 240

[0677] gtcttgatgg gcctgacatt tacaaagggg tttaccgatt caagtcagtg gagtttgaca 300

[0678] tgtcttacct taacctgacg atgcccattg catgttcggc aaacaactcc catcattata 360

[0679] taagtattgg gacttctgga ttggagttaa ctttcacaaa tgactccatc atcaccaca 420

[0680] acttttgtaa tctgacttcc gccctcaaca agaggacttt tgaccacaca cttatgagta 480

[0681] tagtctcaag tctgcacctc agcattagag ggggtccccag ctacaaagca gtgtcctgtg 540

[0682] attttaacaa tggcatcact attcaataca acctgtcatt ttctaataca cagagcgctc 600

[0683] tgagtcaatg taagacctc agggggagag tcctggatat gttcagaact gcttttgag 660

[0684] gaaagtacat gaggagtggc tggggctgga cagggtcaga tggcaagact acttggtgca 720

[0685] gccagacaaa ctaccaatat ctgattatac aaaacaggac ttgggaaaac cactgcagg 780

[0686] acgcaggccc tttcggaatg tctagaattc tcttcgtca agaaaagaca aggtttctaa 840

[0687] ctagaaggct tgcaggcaca ttcacttga ctttatcaga ctcacagga gtggagaatc 900

[0688] cagggtggtta ctgcttgacc aagtggatga tcctcgtgc agagctcaag tgttttgga 960

[0689] acacagctgt tgcaaagtgc aatgtaaatc atgatgaaga gttctgtgat atgctacgac 1020

[0690] tgattgatta caacaaggct gctttgagta aattcaaaga agatgtagaa tccgctctac 1080

[0691] atctgttcaa gacaacagtg aattctttga tttctgatca gcttttgatg agaaatcacc 1140

[0692] taagagactt gatgggagtg ccatactgca attactgaa attctggtat ctagagcatg 1200

[0693] caaagactgg tgagactagt gtcccaagt gctggctgt cagcaatggt tcttatttga 1260

[0694] atgaaacca tttcagcgac caaattgagc aggaagcaga taatatgatc acagaaatgc 1320

[0695] tgagaaagga ctacataaaa aggcaaggga gtaccctct agccttgatg gatctattga 1380

[0696] tgttttctac atcagcatat ttgatcagca tctttctgca tcttgtagg ataccaacac 1440

[0697] acagacacat aaaggcggc tcatgccc aaaccacatcg gttaccagc aagggaatct 1500

[0698] gtagttgtgg tgcatttaa gtaccagtg tggaaaccac ctggaaaaga cgctgaacag 1560

[0699] cagcgctcc ctgactcacc acctcgaaag aggtggtgag tcagggagc ccagagggtc 1620

[0700] ttagagtgtt acgacattg gacctctgaa gattaggtca tgtggtagga tattgtggac 1680

[0701] agttttcagg tcggggagcc ttgccttga ggcgcttca aagatgatac agtccatgag 1740

[0702] tgcacagtgt ggggtgacct ctttctttt cttgtccctc actattccag tgtgcatctt 1800

[0703] gcatagccag ccatatttgt ccagacttt gtctcatat tctcttgag cttctttagt 1860

[0704] catctcaaca tcgatgagct taatgtctt tctgttttga gaatctagga gtttctgat 1920

[0705] gtcacagat ccctgacaac ttaggacct tccctgtgga agagcaccta ttactgaaga 1980

[0706] tgtcagccca ggttgtgat tgaagagtc agcaaggtcc atgccatgt agtatttga 2040

[0707] gtctgcttg aattgtttt gatcagtggg ttctctatag aaatgtatgt actgccatt 2100

[0708] ctgtggctga aatattgcta tttctaccg gtcattaaat ctgccctcaa tgtcaatcca 2160

[0709] tgtaggagcg ttaggtcaa tacctccat gaggtcctc agcaacattg tttggctgta 2220

[0710] gcttaagccc acctgaggtg ggccgctgc ccaggcgct ggtttgggt agttggccat 2280

[0711] aggcctctca tttgtcagat caattgtgt gttctccat gctctcccta caactgatgt 2340

[0712] tctacaagct atgtatggc accctcccc tgaaagacag actttgtaga ggatgttctc 2400

[0713]	gtaaggattc ctgtctccaa cctgatcaga aacaaacatg ttgagtttct tcttggcccc	2460
[0714]	aagaactgct ttcaggagat cctcactgtt gcttggctta attaagatgg attccaacat	2520
[0715]	gttaccceca tctaacaagg ctgccctgc tttcacagca gcaccgagac tgaaattgta	2580
[0716]	gccagatatg ttgatgctag actgctgctc agtgatgact cccaagactg ggtgcttgtc	2640
[0717]	tttcagcctt tcaaggcac ttaggttcgg gtacttgact gtgtaaagca gcccaaggtc	2700
[0718]	tgtgagtgtc tgcacaacgt cattgagtga ggtttgtgat tgtttggcca tacaagccat	2760
[0719]	tgttaaagctt ggcattgtgc cgaattgatt gttcagaagt gatgagtcct tcacatccca	2820
[0720]	gaccctcacc acaccatttg cactctgctg aggtctcctc attccaacca tttgcagaat	2880
[0721]	ctgagatctt tggtaagct gttgtgctgt taagttcccc atgtagactc cagaagttag	2940
[0722]	aggcctttca gacctcatga ttttagcctt cagtttttca aggtcagctg caagggacat	3000
[0723]	cagttcttct gactaagcc tccctacttt tagaacattc ttttttgatg ttgactttag	3060
[0724]	gtccacaagg gaatacacag tttggttgag gcttctgagt ctctgtaaat ctttgtcatc	3120
[0725]	cctcttctct ttcctcatga tcctctgaac attgctcacc tcagagaagt ctaatccatt	3180
[0726]	cagaaggctg gtggcatcct tgatcacagc agctttcaca tctgatgtga agccttgaag	3240
[0727]	ctctctcctc aatgcctggg tccattgaaa gcttttaact tctttggaca gagacatttt	3300
[0728]	gtcactcagt ggatttccaa gtcaaatgcg caatcaaaat gcctaggatc cactgtgcg	3359
[0729]	<210> 15	
[0730]	<211> 558	
[0731]	<212> PRT	
[0732]	<213> 人工序列	
[0733]	<220>	
[0734]	<223> LCMV的MP毒株的NP蛋白	
[0735]	<400> 15	
[0736]	Met Ser Leu Ser Lys Glu Val Lys Ser Phe Gln Trp Thr Gln Ala Leu	
[0737]	1 5 10 15	
[0738]	Arg Arg Glu Leu Gln Gly Phe Thr Ser Asp Val Lys Ala Ala Val Ile	
[0739]	20 25 30	
[0740]	Lys Asp Ala Thr Ser Leu Leu Asn Gly Leu Asp Phe Ser Glu Val Ser	
[0741]	35 40 45	
[0742]	Asn Val Gln Arg Ile Met Arg Lys Glu Lys Arg Asp Asp Lys Asp Leu	
[0743]	50 55 60	
[0744]	Gln Arg Leu Arg Ser Leu Asn Gln Thr Val Tyr Ser Leu Val Asp Leu	
[0745]	65 70 75 80	
[0746]	Lys Ser Thr Ser Lys Lys Asn Val Leu Lys Val Gly Arg Leu Ser Ala	
[0747]	85 90 95	
[0748]	Glu Glu Leu Met Ser Leu Ala Ala Asp Leu Glu Lys Leu Lys Ala Lys	
[0749]	100 105 110	
[0750]	Ile Met Arg Ser Glu Arg Pro Leu Thr Ser Gly Val Tyr Met Gly Asn	
[0751]	115 120 125	
[0752]	Leu Thr Ala Gln Gln Leu Asp Gln Arg Ser Gln Ile Leu Gln Met Val	
[0753]	130 135 140	
[0754]	Gly Met Arg Arg Pro Gln Gln Ser Ala Asn Gly Val Val Arg Val Trp	

[0755]	145	150	155	160
[0756]	Asp Val Lys Asp Ser Ser Leu Leu Asn Asn Gln Phe Gly Thr Met Pro			
[0757]		165	170	175
[0758]	Ser Leu Thr Met Ala Cys Met Ala Lys Gln Ser Gln Thr Ser Leu Asn			
[0759]		180	185	190
[0760]	Asp Val Val Gln Ala Leu Thr Asp Leu Gly Leu Leu Tyr Thr Val Lys			
[0761]		195	200	205
[0762]	Tyr Pro Asn Leu Ser Asp Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys His Pro Val			
[0763]		210	215	220
[0764]	Leu Gly Val Ile Thr Glu Gln Gln Ser Ser Ile Asn Ile Ser Gly Tyr			
[0765]		225	230	235
[0766]	Asn Phe Ser Leu Gly Ala Ala Val Lys Ala Gly Ala Ala Leu Leu Asp			
[0767]		245	250	255
[0768]	Gly Gly Asn Met Leu Glu Ser Ile Leu Ile Lys Pro Ser Asn Ser Glu			
[0769]		260	265	270
[0770]	Asp Leu Leu Lys Ala Val Leu Gly Ala Lys Lys Lys Leu Asn Met Phe			
[0771]		275	280	285
[0772]	Val Ser Asp Gln Val Gly Asp Arg Asn Pro Tyr Glu Asn Ile Leu Tyr			
[0773]		290	295	300
[0774]	Lys Val Cys Leu Ser Gly Glu Gly Trp Pro Tyr Ile Ala Cys Arg Thr			
[0775]		305	310	315
[0776]	Ser Val Val Gly Arg Ala Trp Glu Asn Thr Thr Ile Asp Leu Thr Asn			
[0777]		325	330	335
[0778]	Glu Arg Pro Met Ala Asn Ser Pro Lys Pro Ala Pro Gly Ala Ala Gly			
[0779]		340	345	350
[0780]	Pro Pro Gln Val Gly Leu Ser Tyr Ser Gln Thr Met Leu Leu Lys Asp			
[0781]		355	360	365
[0782]	Leu Met Gly Gly Ile Asp Pro Asn Ala Pro Thr Trp Ile Asp Ile Glu			
[0783]		370	375	380
[0784]	Gly Arg Phe Asn Asp Pro Val Glu Ile Ala Ile Phe Gln Pro Gln Asn			
[0785]		385	390	395
[0786]	Gly Gln Tyr Ile His Phe Tyr Arg Glu Pro Thr Asp Gln Lys Gln Phe			
[0787]		405	410	415
[0788]	Lys Gln Asp Ser Lys Tyr Ser His Gly Met Asp Leu Ala Asp Leu Phe			
[0789]		420	425	430
[0790]	Asn Ala Gln Pro Gly Leu Thr Ser Ser Val Ile Gly Ala Leu Pro Gln			
[0791]		435	440	445
[0792]	Gly Met Val Leu Ser Cys Gln Gly Ser Asp Asp Ile Arg Lys Leu Leu			
[0793]		450	455	460
[0794]	Asp Ser Gln Asn Arg Arg Asp Ile Lys Leu Ile Asp Val Glu Met Thr			
[0795]		465	470	475
[0796]	Lys Glu Ala Ser Arg Glu Tyr Glu Asp Lys Val Trp Asp Lys Tyr Gly			

[0797]	485							490							495						
[0798]	Trp	Leu	Cys	Lys	Met	His	Thr	Gly	Ile	Val	Arg	Asp	Lys	Lys	Lys	Lys					
[0799]	500							505							510						
[0800]	Glu	Val	Thr	Pro	His	Cys	Ala	Leu	Met	Asp	Cys	Ile	Ile	Phe	Glu	Ser					
[0801]	515							520							525						
[0802]	Ala	Ser	Lys	Ala	Arg	Leu	Pro	Asp	Leu	Lys	Thr	Val	His	Asn	Ile	Leu					
[0803]	530							535							540						
[0804]	Pro	His	Asp	Leu	Ile	Phe	Arg	Gly	Pro	Asn	Val	Val	Thr	Leu							
[0805]	545							550							555						
[0806]	<210> 16																				
[0807]	<211> 498																				
[0808]	<212> PRT																				
[0809]	<213> 人工序列																				
[0810]	<220>																				
[0811]	<223> LCMV的MP毒株的GP蛋白																				
[0812]	<400> 16																				
[0813]	Met	Gly	Gln	Ile	Val	Thr	Met	Phe	Glu	Ala	Leu	Pro	His	Ile	Ile	Asp					
[0814]	1			5			10			15											
[0815]	Glu	Val	Ile	Asn	Ile	Val	Ile	Ile	Val	Leu	Ile	Ile	Ile	Thr	Ser	Ile					
[0816]	20							25							30						
[0817]	Lys	Ala	Val	Tyr	Asn	Phe	Ala	Thr	Cys	Gly	Ile	Leu	Ala	Leu	Ile	Ser					
[0818]	35							40							45						
[0819]	Phe	Leu	Phe	Leu	Ala	Gly	Arg	Ser	Cys	Gly	Met	Tyr	Gly	Leu	Asp	Gly					
[0820]	50			55			60														
[0821]	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Gly	Val	Tyr	Arg	Phe	Lys	Ser	Val	Glu	Phe	Asp					
[0822]	65			70			75							80							
[0823]	Met	Ser	Tyr	Leu	Asn	Leu	Thr	Met	Pro	Asn	Ala	Cys	Ser	Ala	Asn	Asn					
[0824]	85							90							95						
[0825]	Ser	His	His	Tyr	Ile	Ser	Met	Gly	Thr	Ser	Gly	Leu	Glu	Leu	Thr	Phe					
[0826]	100							105							110						
[0827]	Thr	Asn	Asp	Ser	Ile	Ile	Thr	His	Asn	Phe	Cys	Asn	Leu	Thr	Ser	Ala					
[0828]	115							120							125						
[0829]	Leu	Asn	Lys	Arg	Thr	Phe	Asp	His	Thr	Leu	Met	Ser	Ile	Val	Ser	Ser					
[0830]	130			135			140														
[0831]	Leu	His	Leu	Ser	Ile	Arg	Gly	Val	Pro	Ser	Tyr	Lys	Ala	Val	Ser	Cys					
[0832]	145			150			155							160							
[0833]	Asp	Phe	Asn	Asn	Gly	Ile	Thr	Ile	Gln	Tyr	Asn	Leu	Ser	Phe	Ser	Asn					
[0834]	165							170							175						
[0835]	Ala	Gln	Ser	Ala	Leu	Ser	Gln	Cys	Lys	Thr	Phe	Arg	Gly	Arg	Val	Leu					
[0836]	180							185							190						
[0837]	Asp	Met	Phe	Arg	Thr	Ala	Phe	Gly	Gly	Lys	Tyr	Met	Arg	Ser	Gly	Trp					
[0838]	195			200			205														



[0839]	Gly Trp Thr Gly Ser Asp Gly Lys Thr Thr Trp Cys Ser Gln Thr Asn		
[0840]	210	215	220
[0841]	Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Arg Thr Trp Glu Asn His Cys Arg		
[0842]	225	230	235 240
[0843]	Tyr Ala Gly Pro Phe Gly Met Ser Arg Ile Leu Phe Ala Gln Glu Lys		
[0844]	245	250	255
[0845]	Thr Arg Phe Leu Thr Arg Arg Leu Ala Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu		
[0846]	260	265	270
[0847]	Ser Asp Ser Ser Gly Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Lys		
[0848]	275	280	285
[0849]	Trp Met Ile Leu Ala Ala Glu Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val		
[0850]	290	295	300
[0851]	Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg		
[0852]	305	310	315 320
[0853]	Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Glu Asp Val		
[0854]	325	330	335
[0855]	Glu Ser Ala Leu His Leu Phe Lys Thr Thr Val Asn Ser Leu Ile Ser		
[0856]	340	345	350
[0857]	Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro		
[0858]	355	360	365
[0859]	Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly		
[0860]	370	375	380
[0861]	Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Ser Asn Gly Ser Tyr Leu		
[0862]	385	390	395 400
[0863]	Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met		
[0864]	405	410	415
[0865]	Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr		
[0866]	420	425	430
[0867]	Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu		
[0868]	435	440	445
[0869]	Ile Ser Ile Phe Leu His Leu Val Arg Ile Pro Thr His Arg His Ile		
[0870]	450	455	460
[0871]	Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Ser Lys Gly Ile		
[0872]	465	470	475 480
[0873]	Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Glu Thr Thr Trp Lys		
[0874]	485	490	495
[0875]	Arg Arg		
[0876]	<210> 17		
[0877]	<211> 2209		
[0878]	<212> PRT		
[0879]	<213> 人工序列		
[0880]	<220>		

[0881]	<223> LCMV的MP毒株的L蛋白																			
[0882]	<400> 17																			
[0883]	Met	Asp	Glu	Ala	Ile	Ser	Glu	Leu	Arg	Glu	Leu	Cys	Leu	Asn	His	Ile				
[0884]	1				5					10					15					
[0885]	Glu	Gln	Asp	Glu	Arg	Leu	Ser	Arg	Gln	Lys	Leu	Asn	Phe	Leu	Gly	Gln				
[0886]					20				25				30							
[0887]	Arg	Glu	Pro	Arg	Met	Val	Leu	Ile	Glu	Gly	Leu	Lys	Leu	Leu	Ser	Arg				
[0888]					35				40				45							
[0889]	Cys	Ile	Glu	Ile	Asp	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Gly	Cys	Ile	His	Asn	His				
[0890]		50					55				60									
[0891]	Asp	Asp	Lys	Ser	Val	Glu	Ala	Ile	Leu	Ile	Glu	Ser	Gly	Ile	Val	Cys				
[0892]	65					70					75				80					
[0893]	Pro	Gly	Leu	Pro	Leu	Ile	Ile	Pro	Asp	Gly	Tyr	Lys	Leu	Ile	Asp	Asn				
[0894]					85				90				95							
[0895]	Ser	Leu	Ile	Leu	Leu	Glu	Cys	Phe	Val	Arg	Ser	Thr	Pro	Ala	Ser	Phe				
[0896]					100				105				110							
[0897]	Glu	Lys	Lys	Phe	Ile	Glu	Asp	Thr	Asn	Lys	Leu	Ala	Cys	Ile	Lys	Glu				
[0898]					115				120				125							
[0899]	Asp	Leu	Ala	Ile	Ala	Gly	Ile	Thr	Leu	Val	Pro	Ile	Val	Asp	Gly	Arg				
[0900]		130					135				140									
[0901]	Cys	Asp	Tyr	Asp	Asn	Ser	Phe	Met	Pro	Glu	Trp	Val	Asn	Phe	Lys	Phe				
[0902]	145					150					155				160					
[0903]	Arg	Asp	Leu	Leu	Phe	Lys	Leu	Leu	Glu	Tyr	Ser	Ser	Gln	Asp	Glu	Lys				
[0904]					165				170				175							
[0905]	Val	Phe	Glu	Glu	Ser	Glu	Tyr	Phe	Arg	Leu	Cys	Glu	Ser	Leu	Lys	Thr				
[0906]					180				185				190							
[0907]	Thr	Val	Asp	Lys	Arg	Ser	Gly	Ile	Asp	Ser	Met	Lys	Ile	Leu	Lys	Asp				
[0908]					195				200				205							
[0909]	Ala	Arg	Ser	Phe	His	Asn	Asp	Glu	Ile	Met	Lys	Met	Cys	His	Asp	Gly				
[0910]		210					215					220								
[0911]	Val	Asn	Pro	Asn	Met	Asn	Cys	Asp	Asp	Val	Val	Leu	Gly	Ile	Asn	Ser				
[0912]	225					230					235				240					
[0913]	Leu	Tyr	Ser	Arg	Phe	Arg	Arg	Asp	Leu	Glu	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Arg				
[0914]					245				250				255							
[0915]	Ser	Phe	Gln	Lys	Ile	Asn	Pro	Gly	Asn	Leu	Ile	Lys	Glu	Phe	Ser	Glu				
[0916]					260				265				270							
[0917]	Leu	Tyr	Glu	Thr	Leu	Ala	Asp	Ser	Asp	Asp	Ile	Ser	Ala	Leu	Ser	Lys				
[0918]					275				280				285							
[0919]	Glu	Ala	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Leu	Met	Arg	Phe	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr				
[0920]		290					295					300								
[0921]	His	Gly	Tyr	Glu	Arg	Gly	Ser	Glu	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Glu	Arg	Leu				
[0922]	305					310					315				320					

[0923]	Leu Ser Met Leu Asn Lys Val Lys Ser Leu Lys Leu Leu Asn Thr Arg		
[0924]		325	330 335
[0925]	Arg Arg Gln Leu Leu Asn Leu Asp Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ile		
[0926]		340	345 350
[0927]	Lys Gln Ser Lys Leu Lys Gly Ser Lys Asn Asp Lys His Trp Val Gly		
[0928]		355	360 365
[0929]	Cys Cys Tyr Gly Ser Val Asn Asp Arg Leu Val Ser Phe His Ser Thr		
[0930]		370	375 380
[0931]	Lys Glu Glu Phe Ile Arg Leu Leu Arg Asn Arg Arg Lys Ser Lys Ala		
[0932]		385	390 395 400
[0933]	Tyr Arg Lys Val Ser Leu Glu Asp Leu Phe Arg Thr Ser Ile Asn Glu		
[0934]		405	410 415
[0935]	Phe Ile Leu Lys Val Gln Arg Cys Leu Ser Val Val Gly Leu Ser Phe		
[0936]		420	425 430
[0937]	Gly His Tyr Gly Leu Ser Glu His Leu Glu His Glu Cys His Ile Pro		
[0938]		435	440 445
[0939]	Phe Ile Glu Phe Glu Asn Phe Met Arg Ser Gly Thr His Pro Ile Met		
[0940]		450	455 460
[0941]	Tyr Tyr Thr Lys Phe Glu Asp Tyr Asp Phe Gln Pro Asn Thr Glu Gln		
[0942]		465	470 475 480
[0943]	Leu Arg Asn Met His Ser Leu Lys Arg Leu Ser Ser Val Cys Leu Ala		
[0944]		485	490 495
[0945]	Leu Thr Asn Ser Met Lys Thr Ser Ser Val Ala Arg Leu Arg Gln Asn		
[0946]		500	505 510
[0947]	Gln Leu Gly Ser Val Arg Tyr Gln Val Val Glu Cys Lys Glu Val Phe		
[0948]		515	520 525
[0949]	Cys Gln Val Ile Lys Leu Asp Ser Glu Glu Tyr His Leu Leu Tyr Gln		
[0950]		530	535 540
[0951]	Lys Thr Gly Glu Ser Ser Arg Cys Tyr Ser Ile Gln Gly Pro Asn Gly		
[0952]		545	550 555 560
[0953]	His Leu Ile Ser Phe Tyr Ala Asp Pro Lys Arg Phe Phe Leu Pro Ile		
[0954]		565	570 575
[0955]	Phe Ser Asp Glu Val Leu His Asn Met Ile Asp Thr Met Ile Ser Trp		
[0956]		580	585 590
[0957]	Ile Arg Ser Cys Pro Asp Leu Lys Asp Ser Ile Asp Asp Val Glu Ile		
[0958]		595	600 605
[0959]	Ala Leu Arg Thr Leu Leu Leu Leu Met Leu Thr Asn Pro Thr Lys Arg		
[0960]		610	615 620
[0961]	Asn Gln Lys Gln Val Gln Asn Ile Arg Tyr Leu Val Met Ala Ile Val		
[0962]		625	630 635 640
[0963]	Ser Asp Phe Ser Ser Thr Ser Leu Met Asp Lys Leu Lys Glu Asp Leu		
[0964]		645	650 655

[0965]	Ile Thr Pro Ala Glu Lys Val Val Tyr Lys Leu Leu Arg Phe Leu Ile
[0966]	660 665 670
[0967]	Lys Thr Val Phe Gly Thr Gly Glu Lys Val Leu Leu Ser Ala Lys Phe
[0968]	675 680 685
[0969]	Lys Phe Met Leu Asn Val Ser Tyr Leu Cys His Leu Ile Thr Lys Glu
[0970]	690 695 700
[0971]	Thr Pro Asp Arg Leu Thr Asp Gln Ile Lys Cys Phe Glu Lys Phe Phe
[0972]	705 710 715 720
[0973]	Glu Pro Lys Ser Glu Phe Gly Phe Phe Val Asn Pro Lys Glu Ser Ile
[0974]	725 730 735
[0975]	Thr Pro Glu Glu Glu Cys Val Phe Tyr Asp Gln Met Lys Lys Phe Thr
[0976]	740 745 750
[0977]	Gly Lys Glu Val Asp Cys Gln Arg Thr Thr Pro Gly Val Asn Leu Glu
[0978]	755 760 765
[0979]	Ala Phe Ser Met Met Val Ser Ser Phe Asn Asn Gly Thr Leu Ile Phe
[0980]	770 775 780
[0981]	Lys Gly Glu Lys Arg Leu Asn Ser Leu Asp Pro Met Thr Asn Ser Gly
[0982]	785 790 795 800
[0983]	Cys Ala Thr Ala Leu Asp Leu Ala Ser Asn Lys Ser Val Val Val Asn
[0984]	805 810 815
[0985]	Lys His Leu Asn Gly Glu Arg Leu Leu Glu Tyr Asp Phe Asn Lys Leu
[0986]	820 825 830
[0987]	Leu Val Ser Ala Val Ser Gln Ile Thr Glu Ser Phe Met Arg Lys Gln
[0988]	835 840 845
[0989]	Lys Tyr Lys Leu Asn His Ser Asp Tyr Glu Tyr Lys Val Ser Lys Leu
[0990]	850 855 860
[0991]	Val Ser Arg Leu Val Ile Gly Ser Lys Glu Thr Glu Ala Gly Lys Leu
[0992]	865 870 875 880
[0993]	Glu Gly Asp Ser Ala Asp Ile Cys Phe Asp Gly Glu Glu Glu Thr Ser
[0994]	885 890 895
[0995]	Phe Phe Lys Asn Leu Glu Asp Lys Val Asn Ser Thr Ile Lys Arg Tyr
[0996]	900 905 910
[0997]	Glu Arg Ser Lys Lys Thr Asn Glu Gly Glu Asn Glu Val Gly Phe Glu
[0998]	915 920 925
[0999]	Asn Thr Lys Gly Leu His His Leu Gln Thr Ile Leu Ser Gly Lys Met
[1000]	930 935 940
[1001]	Ala Tyr Leu Arg Lys Val Ile Leu Ser Glu Ile Ser Phe His Leu Val
[1002]	945 950 955 960
[1003]	Glu Asp Phe Asp Pro Ser Cys Leu Thr Asn Asp Asp Met Lys Phe Ile
[1004]	965 970 975
[1005]	Cys Glu Ala Ile Glu Thr Ser Thr Glu Leu Ser Pro Leu Tyr Phe Thr
[1006]	980 985 990

[1007]	Ser Ala Val Lys Glu Gln Cys Gly Leu Asp Glu Met Ala Lys Asn Leu
[1008]	995 1000 1005
[1009]	Cys Arg Lys Phe Phe Ser Glu Gly Asp Trp Phe Ser Cys Met Lys
[1010]	1010 1015 1020
[1011]	Met Ile Leu Leu Gln Met Asn Ala Asn Ala Tyr Ser Gly Lys Tyr
[1012]	1025 1030 1035
[1013]	Arg His Met Gln Arg Gln Gly Leu Asn Phe Lys Phe Asp Trp Asp
[1014]	1040 1045 1050
[1015]	Lys Leu Glu Glu Asp Val Arg Ile Ser Glu Arg Glu Ser Asn Ser
[1016]	1055 1060 1065
[1017]	Glu Ser Leu Ser Lys Ala Leu Ser Leu Thr Lys Cys Met Ser Ala
[1018]	1070 1075 1080
[1019]	Ala Leu Lys Asn Leu Cys Phe Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Thr Ser
[1020]	1085 1090 1095
[1021]	Tyr Thr Ser Val Gly Pro Asp Ser Gly Arg Leu Lys Phe Ala Leu
[1022]	1100 1105 1110
[1023]	Ser Tyr Lys Glu Gln Val Gly Gly Asn Arg Glu Leu Tyr Ile Gly
[1024]	1115 1120 1125
[1025]	Asp Leu Arg Thr Lys Met Phe Thr Arg Leu Ile Glu Asp Tyr Phe
[1026]	1130 1135 1140
[1027]	Glu Ser Phe Ser Ser Phe Phe Ser Gly Ser Cys Leu Asn Asn Asp
[1028]	1145 1150 1155
[1029]	Lys Glu Phe Glu Asn Ala Ile Leu Ser Met Thr Ile Asn Val Arg
[1030]	1160 1165 1170
[1031]	Glu Gly Leu Leu Asn Tyr Ser Met Asp His Ser Lys Trp Gly Pro
[1032]	1175 1180 1185
[1033]	Met Met Cys Pro Phe Leu Phe Leu Met Leu Leu Gln Asn Leu Lys
[1034]	1190 1195 1200
[1035]	Leu Gly Asp Asp Gln Tyr Val Arg Ser Gly Lys Asp His Ile Ser
[1036]	1205 1210 1215
[1037]	Thr Leu Leu Thr Trp His Met His Lys Leu Val Glu Val Pro Phe
[1038]	1220 1225 1230
[1039]	Pro Val Val Asn Ala Met Met Lys Ser Tyr Ile Lys Ser Lys Leu
[1040]	1235 1240 1245
[1041]	Lys Leu Leu Arg Gly Ser Glu Thr Thr Val Thr Glu Arg Ile Phe
[1042]	1250 1255 1260
[1043]	Arg Glu Tyr Phe Glu Leu Gly Ile Val Pro Ser His Ile Ser Ser
[1044]	1265 1270 1275
[1045]	Leu Ile Asp Met Gly Gln Gly Ile Leu His Asn Ala Ser Asp Phe
[1046]	1280 1285 1290
[1047]	Tyr Gly Leu Ile Ser Glu Arg Phe Ile Asn Tyr Cys Ile Gly Val
[1048]	1295 1300 1305

[1049]	Ile Phe Gly Glu Arg Pro Glu Ser Tyr Thr Ser Ser Asp Asp Gln
[1050]	1310 1315 1320
[1051]	Ile Thr Leu Phe Asp Arg Arg Leu Ser Glu Leu Val Asp Ser Asp
[1052]	1325 1330 1335
[1053]	Pro Glu Glu Val Leu Val Leu Leu Glu Phe His Ser His Leu Ser
[1054]	1340 1345 1350
[1055]	Gly Leu Leu Asn Lys Phe Ile Ser Pro Lys Ser Val Val Gly Arg
[1056]	1355 1360 1365
[1057]	Phe Ala Ala Glu Phe Lys Ser Arg Phe Tyr Val Trp Gly Glu Glu
[1058]	1370 1375 1380
[1059]	Val Pro Leu Leu Thr Lys Phe Val Ser Ala Ala Leu His Asn Val
[1060]	1385 1390 1395
[1061]	Lys Cys Lys Glu Pro His Gln Leu Cys Glu Thr Ile Asp Thr Ile
[1062]	1400 1405 1410
[1063]	Ala Asp Gln Ala Val Ala Asn Gly Val Pro Val Ser Leu Val Asn
[1064]	1415 1420 1425
[1065]	Cys Ile Gln Lys Arg Thr Leu Asp Leu Leu Lys Tyr Ala Asn Phe
[1066]	1430 1435 1440
[1067]	Pro Leu Asp Pro Phe Leu Leu Asn Thr Asn Thr Asp Val Lys Asp
[1068]	1445 1450 1455
[1069]	Trp Leu Asp Gly Ser Arg Gly Tyr Arg Ile Gln Arg Leu Ile Glu
[1070]	1460 1465 1470
[1071]	Glu Leu Cys Pro Ser Glu Thr Lys Val Met Arg Arg Leu Val Arg
[1072]	1475 1480 1485
[1073]	Arg Leu His His Lys Leu Lys Asn Gly Glu Phe Asn Glu Glu Phe
[1074]	1490 1495 1500
[1075]	Phe Leu Asp Leu Phe Asn Arg Asp Lys Lys Glu Ala Ile Leu Gln
[1076]	1505 1510 1515
[1077]	Leu Gly Asn Ile Leu Gly Leu Glu Glu Asp Leu Ser Gln Leu Ala
[1078]	1520 1525 1530
[1079]	Asn Ile Asn Trp Leu Asn Leu Asn Glu Leu Phe Pro Leu Arg Met
[1080]	1535 1540 1545
[1081]	Val Leu Arg Gln Lys Val Val Tyr Pro Ser Val Met Thr Phe Gln
[1082]	1550 1555 1560
[1083]	Glu Glu Arg Ile Pro Ser Leu Ile Lys Thr Leu Gln Asn Lys Leu
[1084]	1565 1570 1575
[1085]	Cys Ser Lys Phe Thr Arg Gly Ala Gln Lys Leu Leu Ser Glu Ala
[1086]	1580 1585 1590
[1087]	Ile Asn Lys Ser Ala Phe Gln Ser Cys Ile Ser Ser Gly Phe Ile
[1088]	1595 1600 1605
[1089]	Gly Leu Cys Lys Thr Leu Gly Ser Arg Cys Val Arg Asn Lys Asn
[1090]	1610 1615 1620

[1091]	Arg Asp Asn Leu Tyr Ile Arg Lys Val Leu Glu Asp Leu Ala Met
[1092]	1625 1630 1635
[1093]	Asp Ala His Val Thr Ala Ile His Arg His Asp Gly Ile Met Leu
[1094]	1640 1645 1650
[1095]	Tyr Ile Cys Asp Arg Gln Ser His Pro Glu Ala His Cys Asp His
[1096]	1655 1660 1665
[1097]	Ile Ser Leu Leu Arg Pro Leu Leu Trp Asp Tyr Ile Cys Ile Ser
[1098]	1670 1675 1680
[1099]	Leu Ser Asn Ser Phe Glu Leu Gly Val Trp Val Leu Ala Glu Pro
[1100]	1685 1690 1695
[1101]	Val Lys Gly Lys Asn Glu Gly Ser Ser Ser Leu Lys His Leu Asn
[1102]	1700 1705 1710
[1103]	Pro Cys Asp Tyr Val Ala Arg Lys Pro Glu Ser Ser Arg Leu Leu
[1104]	1715 1720 1725
[1105]	Glu Asp Lys Ile Ser Leu Asn His Val Ile Gln Ser Val Arg Arg
[1106]	1730 1735 1740
[1107]	Leu Tyr Pro Lys Ile Tyr Glu Asp Gln Leu Leu Pro Phe Met Ser
[1108]	1745 1750 1755
[1109]	Asp Met Ser Ser Lys Asn Met Arg Trp Ser Pro Arg Ile Lys Phe
[1110]	1760 1765 1770
[1111]	Leu Asp Leu Cys Val Leu Ile Asp Ile Asn Ser Glu Ser Leu Ser
[1112]	1775 1780 1785
[1113]	Leu Ile Ser His Val Val Lys Trp Lys Arg Asp Glu His Tyr Thr
[1114]	1790 1795 1800
[1115]	Val Leu Phe Ser Asp Leu Val Asn Ser His Gln Arg Ser Asp Ser
[1116]	1805 1810 1815
[1117]	Ser Leu Val Asp Glu Phe Val Val Ser Thr Arg Asp Val Cys Lys
[1118]	1820 1825 1830
[1119]	Asn Phe Leu Lys Gln Val Tyr Phe Glu Ser Phe Val Arg Glu Phe
[1120]	1835 1840 1845
[1121]	Val Ala Thr Ser Arg Thr Leu Gly Ser Phe Ser Trp Phe Pro His
[1122]	1850 1855 1860
[1123]	Lys Asp Met Met Pro Ser Glu Asp Gly Ala Glu Ala Leu Gly Pro
[1124]	1865 1870 1875
[1125]	Phe Gln Ser Phe Ile Leu Lys Val Val Asn Lys Asn Met Glu Arg
[1126]	1880 1885 1890
[1127]	Pro Met Phe Arg Asn Asp Leu Gln Phe Gly Phe Gly Trp Phe Ser
[1128]	1895 1900 1905
[1129]	Tyr Arg Leu Gly Asp Ile Val Cys Asn Ala Ala Met Leu Ile Lys
[1130]	1910 1915 1920
[1131]	Gln Gly Leu Thr Asn Pro Lys Ala Phe Lys Ser Leu Arg Asn Leu
[1132]	1925 1930 1935

[1133]	Trp Asp Tyr Met Ile Asn Asn Thr Glu Gly Val Leu Glu Phe Ser		
[1134]	1940	1945	1950
[1135]	Ile Thr Val Asp Phe Thr His Asn Gln Asn Asn Thr Asp Cys Leu		
[1136]	1955	1960	1965
[1137]	Arg Lys Phe Ser Leu Ile Phe Leu Val Lys Cys Gln Leu Gln Gly		
[1138]	1970	1975	1980
[1139]	Pro Gly Val Ala Glu Phe Leu Ser Cys Ser His Leu Phe Lys Gly		
[1140]	1985	1990	1995
[1141]	Glu Val Asp Arg Arg Phe Leu Asp Glu Cys Leu His Leu Leu Arg		
[1142]	2000	2005	2010
[1143]	Ser Asp Ser Ile Phe Lys Val Asn Asp Gly Val Phe Asp Ile Arg		
[1144]	2015	2020	2025
[1145]	Ser Glu Glu Phe Glu Asp Tyr Met Glu Asp Pro Leu Ile Leu Gly		
[1146]	2030	2035	2040
[1147]	Asp Ser Leu Glu Leu Glu Leu Ile Gly Ser Arg Lys Ile Leu Asp		
[1148]	2045	2050	2055
[1149]	Gly Ile Arg Ser Leu Asp Phe Glu Arg Ile Gly Pro Glu Trp Glu		
[1150]	2060	2065	2070
[1151]	Pro Val Pro Leu Thr Val Arg Met Gly Ala Leu Phe Glu Gly Arg		
[1152]	2075	2080	2085
[1153]	Ser Leu Val Gln Asn Ile Val Val Lys Leu Glu Thr Lys Asp Met		
[1154]	2090	2095	2100
[1155]	Arg Val Phe Leu Ala Glu Leu Glu Gly Tyr Gly Asn Phe Asp Asp		
[1156]	2105	2110	2115
[1157]	Val Leu Gly Ser Leu Leu Leu His Arg Phe Arg Thr Gly Glu His		
[1158]	2120	2125	2130
[1159]	Leu Gln Gly Ser Glu Ile Ser Thr Ile Leu Gln Glu Leu Cys Ile		
[1160]	2135	2140	2145
[1161]	Asp Arg Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ser Leu Val Pro Asp Trp		
[1162]	2150	2155	2160
[1163]	Phe Thr Phe Lys Asp Cys Arg Leu Cys Phe Ser Lys Ser Lys Asn		
[1164]	2165	2170	2175
[1165]	Thr Val Met Tyr Glu Thr Val Val Gly Lys Tyr Arg Leu Lys Gly		
[1166]	2180	2185	2190
[1167]	Lys Ser Cys Asp Asp Trp Leu Thr Lys Ser Val Val Glu Glu Ile		
[1168]	2195	2200	2205
[1169]	Asp		
[1170]	<210> 18		
[1171]	<211> 90		
[1172]	<212> PRT		
[1173]	<213> 人工序列		
[1174]	<220>		



[1175]	<223> LCMV的MP毒株的Z蛋白
[1176]	<400> 18
[1177]	Met Gly Gln Gly Lys Ser Lys Glu Gly Arg Asp Ala Ser Asn Thr Ser
[1178]	1 5 10 15
[1179]	Arg Ala Glu Ile Leu Pro Asp Thr Thr Tyr Leu Gly Pro Leu Asn Cys
[1180]	20 25 30
[1181]	Lys Ser Cys Trp Gln Arg Phe Asp Ser Leu Val Arg Cys His Asp His
[1182]	35 40 45
[1183]	Tyr Leu Cys Arg His Cys Leu Asn Leu Leu Leu Ser Val Ser Asp Arg
[1184]	50 55 60
[1185]	Cys Pro Leu Cys Lys His Pro Leu Pro Thr Lys Leu Lys Ile Ser Thr
[1186]	65 70 75 80
[1187]	Ala Pro Ser Ser Pro Pro Pro Tyr Glu Glu
[1188]	85 90
[1189]	<210> 19
[1190]	<211> 7115
[1191]	<212> DNA
[1192]	<213> 人工序列
[1193]	<220>
[1194]	<223> 胡宁病毒Candid No.1 L 片段
[1195]	<400> 19
[1196]	gcgcaccggg gatcctaggc gtaacttcat cattaatac tcagattctg ctctgagtgt 60
[1197]	gacttactgc gaagaggcag acaaatgggc aactgcaacg gggcatccaa gtctaaccag 120
[1198]	ccagactcct caagagccac acagccagcc gcagaattta ggagggtagc tcacagcagt 180
[1199]	ctatatggta gatataactg taagtgtctg tggtttgctg ataccaattt gataacctgt 240
[1200]	aatgatcact acctttgttt aaggtgccat cagggtatgt taaggaattc agatctctgc 300
[1201]	aatatctgct ggaagcccct gccaccaca atcacagtac cggtggagcc aacagcacca 360
[1202]	ccaccatagg cagactgcac agggtcagac cgcaccccc ggggggcccc catggggacc 420
[1203]	ccccgtggg gaaccccggt ggtgatgcgc cattagtcaa tgtctttgat ctgactttg 480
[1204]	tgttcagtgc gctgcatgt caccctttc aatctgaact gcccttggg atctgatatc 540
[1205]	agcaggtcat ttaaagatct gctgaatgcc accttgaaat ttgagaattc caaccagtca 600
[1206]	ccaaatttat caagtgaacg gatcaactgc tctttgtgta gatcataaac gaggacaaag 660
[1207]	tcctcttgct gaaataatat tgtttgatgat gttgttttta gataaggcca tagttggctt 720
[1208]	aataagggtt ccacactatc aatgtcctct agtgcctcaa ttgccttgac tatgacatcc 780
[1209]	ccagacaact caactctata tgttgacaac ctttcattac ctctgtaaaa gataccctct 840
[1210]	ttcaagacaa gaggttctcc tgggttatct ggcccaatga ggtcatatgc atacttgta 900
[1211]	cttagttcag aataaaagtc accaaagttg aacttaacat ggctcagaat attgtcatca 960
[1212]	tttgtcgcag cgtagcctgc atcaataaac aagccagcta ggtcaaagct ctcatggcct 1020
[1213]	gtgaacaatg gtaggctagc gataaccagt gcaccatcca acaatgagtg gcttcctca 1080
[1214]	gaccagaaa cacattgact cattgcatcc acattcagct ctaattcagg ggtaccgaca 1140
[1215]	tcatccactc ctagtgaact gacaatggtg taactgtaca ccatctttct tctaagttta 1200
[1216]	aattttgtcg aaactcgtgt gtgttctact tgaatgatca attttagttt cacagcttct 1260

[1217]	tggcaagcaa cattgcgcaa cacagtgtgc aggtccatca tgtcttcctg aggcaacaag	1320
[1218]	gagatgttgt caacagagac accctcaagg aaaaccttga tattatcaaa gctagaaact	1380
[1219]	acataacceca ttgcaatgtc ttcaacaaac attgctcttg atactttatt attcctaact	1440
[1220]	gacaaggtaa aatctgtgag ttcagctaga tctacttgac tgtcatcttc tagatctaga	1500
[1221]	acttcattga accaaaagaa ggatttgaga cagcatgttg acatgactag tgggtttatc	1560
[1222]	atcgaagata agacaacttg caccatgaag ttctgcgaaa cttgctgtgg gctgatgcca	1620
[1223]	acttcccaat ttgtatactc tgactgtcta acatgggctg aagcgcaatc actctgtttc	1680
[1224]	acaatataaa cattattatc tcttactttc aataagtgac ttataatccc taagttttca	1740
[1225]	ttcatcatgt ctagagccac acagacatct agaaacttga gtcttccact atccaaagat	1800
[1226]	ctgttcactt gaagatcatt cataaagggt gccaaatgtt cttcaaatag tttggggtaa	1860
[1227]	tttcttcgta tagaatgcaa tacatggttc atgcctaatt ggtcttctat ctgtcgtact	1920
[1228]	gctttgggtt taacagccca gaagaaatc ttattacata agaccagagg ggctgttgga	1980
[1229]	ctcttaatag cagaaaacac ccactccct aactcacagg catttgtcag caccaaagag	2040
[1230]	aagtaatccc acaaaattgg tttagaaaat tggttaactt ctttaagtga tttttgacag	2100
[1231]	taaataactt taggctttct ctcacaaatt ccacaaagac atggcattat tcgagtaa	2160
[1232]	atgtccttta tatacagaaa tccgccttta ccctccctaa cacacttact cccatactc	2220
[1233]	ttacaaaacc caatgaagcc tgaggcaaca gaagactgaa atgcagattt gttgattgac	2280
[1234]	tctgccaaga tcttcttcac gccttttctg aaatttcttg acagcctgga ctgtattgtc	2340
[1235]	cttatcaatg ttggcatctc ttctttctct aacactcttc gacttgtcat gagtttggtc	2400
[1236]	ctcaagacca acctcaagtc cccaaagctc gctaaattga cccatctgta gtctagagtt	2460
[1237]	tgtctgattt catcttcaact acaccgga tattgcagga atccgataa agcctcatcc	2520
[1238]	cctccctgc ttatcaagtt gataaggtt tctcacaaga ttttgctct cttaatgtca	2580
[1239]	ttgaacactt tctcgcgca gttccttata aacattgtct cttatcatc agaaaaaata	2640
[1240]	gcttcaattt tctctgtag acggtaccct ctagaccat caaccagtc tttgacatct	2700
[1241]	tgttcttcaa tagtccaaa cggagtctct ctgtatccag agtatctaata caattgggtg	2760
[1242]	actctaattg aaatctttga cactatatga gtgctaacc cattagcaat acattgatca	2820
[1243]	caaattgtgt ctatggctc tgacagtgt gttggagtt tacacttaac gttgtgtaga	2880
[1244]	gcagcagaca caaacttggg gagtaaagga gtctcttcac ccatgacaaa aaatcttgac	2940
[1245]	ttaaactcag caacaaaagt tctatcaca ctctttgggc tgataaactt gtttaattta	3000
[1246]	gaagataaga attcatggaa gcacaccatt tccagcagtt ctgtcctgtc ttgaaacttt	3060
[1247]	tcataactaa ggcaaggaat ttttataagg ctaacctggg catcgtgga ggtataagtg	3120
[1248]	acaggtatca catcatacaa taagtcaagt gcataacaca gaaattgttc agtaattagc	3180
[1249]	ccatataaat ctgatgtgt gtgcaagatt ccctggccca tgtccaagac agacattata	3240
[1250]	tggctgggga cctggtccct tgactgcaga tactgggtgaa aaaactcttc accaacacta	3300
[1251]	gtacagtcac aaccatttaa acctaaagat ctcttcaatt tccctacaca gtaggcttct	3360
[1252]	gcaacattaa ttggaacttc aacgacctta tgaagatgcc atttgagaat gttcattact	3420
[1253]	ggttcaagat tcaccttgt tctatctctg ggattcttca attctaattgt gtacaaaaa	3480
[1254]	gaaaggaaaa gtgctgggct catagtgggt cccatttgg agtggtcata tgaacaggac	3540
[1255]	aagtcacat tgtaacagc cattttcata tcacagattg cagttcgaa ttcttttct	3600
[1256]	gaattcaagc atgtgtattt cattgaacta cccacagctt ctgagaagtc ttcaactaac	3660
[1257]	ctggcatca gcttagtgtt gaggtctccc acatacagtt ctctatttga gccaacctgc	3720
[1258]	tccttataac ttagtccaaa tttcaagttc cctgtatttg agctgatget tgtgaactct	3780

[1259]	gtaggagagt cgtctgaata gaaacataaa ttccgtaggg ctgcatttgt aaaataactt	3840
[1260]	ttgtctagct tatcagcaat ggcttcagaa ttgctttccc tggactaag ccgaacctca	3900
[1261]	tccttttagtc tcagaacttc actggaaaag cccaatctag atctacttct atgtctataa	3960
[1262]	ctaccaatt tctgatcata atgtccttga attaaaagat acttgaagca ttcaaagaat	4020
[1263]	tcatcttctt ggtaggctat tgttgtcaaa ttttttaata acaaaccxaa agggcagatg	4080
[1264]	tcctgcggtg cttcaagaaa ataagtcaat ttaaatggag atagataaac agcatcacat	4140
[1265]	aactctttat acacatcaga cctgagcaca tctggatcaa aatccttcac ctcatgcatt	4200
[1266]	gacacctctg ctttaatctc tctcaacact ccaaaagggg cccacaatga ctcaagagac	4260
[1267]	tctcgtcat caacagatgg attttttgat ttcaacttgg tgatctcaac ttttgtcccc	4320
[1268]	tcactattag ccatcttggc tagtgtcatt tgtacgtcat ttctaatacc ctcaaaggcc	4380
[1269]	cttacttgat cctctgttaa actctcatac atcactgata attcttcttg attggttctg	4440
[1270]	gttcttgaac cgggtgtcac aagacctgtt agatttttta atattaagta gtccatggaa	4500
[1271]	tcaggatcaa gattatacct gccttttggt ttaaacctct cagccatagt agaaacgcat	4560
[1272]	gttgaaacaa gtttctcctt atcataaaca gaaagaatat ttccaagttc gtcgagcttg	4620
[1273]	gggattacca cacttttatt gcttgacaga tccagagctg tgctagtgtat gttaggcctg	4680
[1274]	tagggattgc ttttcagttc acctgtaact ttaagtcttc ctctattgaa gagagaaatg	4740
[1275]	cagaaggaca aaatctcttt acacactcct ggaatttgag tatctgagga agtcttagcc	4800
[1276]	tctttgaaa agaattctgtc caatcctctt atcatggtgt cctcttggtc cagtgttaga	4860
[1277]	ctcccactta gaggggggtt tacaacaaca caatcaaact tgactttggg ctcaataaac	4920
[1278]	ttctcaaac actttatttg atctgtcagg cgatcagggtg tctctttggt taccaagtga	4980
[1279]	cacagataac taacatttaa tagatattta aaccttcttg caaagtaaag atctgcatct	5040
[1280]	ttcccttcac ccaaaattgt ctggaagagt tccacagcca tcctctgaat cagcacctct	5100
[1281]	gatccagaca tgcagtcgac ccttaacttt gacatcaaat ccacatgatg gatttgattt	5160
[1282]	gcatatgcca tcaagaaata tcttagacct tgtaaaaatg tctggttcct tttggaagg	5220
[1283]	gaacagagta cagctaacac taacaatctt aatattggcc ttgtcattgt catgagttcg	5280
[1284]	tggctaaaat ccaaccagct ggtcatttcc tcacacattt caattaacac atcctccgaa	5340
[1285]	aatataggca ggaaaaatct ctttgatca cagtaaaaag agccttggtc ttccaatacc	5400
[1286]	ccattgatgg atagatagat agaatagcac cttgacttct cacctgtttt ttggtaaaac	5460
[1287]	aagagacca atgtattctt tgtcagatga aatctttgta cataacactc tcttagtcta	5520
[1288]	acattcccaa aatatctaga atactctctt tcattgatta acaatcgga ggaaaatgat	5580
[1289]	gtcttcatcg agttgacca tgcaaggga atggaggaca aaatcctaaa taatttcttc	5640
[1290]	tgctcacctt ccactaagct gctgaatggc tgatgtctac agattttctc aaattccttg	5700
[1291]	ttaatagtat atctcatcac tggctgttca gaaacaagt cctgagctaa aatcatcaag	5760
[1292]	ctatccatat cagggtgttt tattagtttt tccagctgtg accagagatc ttgatgagag	5820
[1293]	ttcttcaatg ttctggaaca cgcttgaacc cacttggggc tggatcatca tttcttctt	5880
[1294]	attagtttaa tcgctccag aatatctaga agtctgtcat tgactaacat taacatttgt	5940
[1295]	ccaacaacta ttcccgcat tcttaacctt acaattgcat catcatgcgt tttgaaaaga	6000
[1296]	tcacaaagta aattgagtaa aactaagtcc agaaacagta aagtgtttct cctggtgttg	6060
[1297]	aaaactttta gaccttcac tttgttacac acggaaagg cttgaagata acacctctct	6120
[1298]	acagcatcaa tagatataga attctcatct gactggcttt ccatgttgac ttcatctatt	6180
[1299]	ggatgcaatg cgatagagta gactacatcc atcaacttgt ttgcacaaaa agggcagctg	6240
[1300]	ggcacatcac tgtctttgtg gcttcctaata agatcaagt catttataag cttagacttt	6300

[1301]	tgtagaaatt tgaatttccc caactgcttg tcaaaaatct ccttcttaaa ccaaaacctt	6360
[1302]	aactttatga gttcttctct tatgacagat tctctaattgt ctcctctaac cccaacaaag	6420
[1303]	agggattcat ttaacctctc atcataaccc aaagaattct ttttcaagca ttcgatgttt	6480
[1304]	tctaatecca agctctggtt ttttgtgttg gacaaactat ggatcaatcg ctggtattct	6540
[1305]	tggttctcaa tattaatctc ttgcataaat tttagattct ttaggatgtc gatcagcaac	6600
[1306]	caccgaactc tttcaacaac ccaatcagca aggaatctat tgctgtagct agatctgcca	6660
[1307]	tcaaccacag gaaccaacgt aatccctgcc cttagtaggt cggactttag gtttaagagc	6720
[1308]	tttgacatgt cactcttcca ttttctctca aactcatcag gattgaccct aacaaaggtt	6780
[1309]	tccaatagga tgagtgtttt ccctgtgagt ttgaagccat ccggaatgac ttttggaagg	6840
[1310]	gtgggacata gtatgccata gtcagacagg atcacatcaa caaacttctg atctgaattg	6900
[1311]	atctgacagg cgtgtgcctc acaggactca agctctacta aacttgacag aagtttgaac	6960
[1312]	ccttccaaca acagagagct ggggtgatgt tgagataaaa agatgtccct ttggtatgct	7020
[1313]	agctcctgtc tttctgaaa atgctttcta ataaggcttt ttatttcatt tactgattcc	7080
[1314]	tccatgctca agtgccgcct aggatcctcg gtgcg	7115
[1315]	<210> 20	
[1316]	<211> 3411	
[1317]	<212> DNA	
[1318]	<213> 人工序列	
[1319]	<220>	
[1320]	<223> 胡宁病毒Candid No. 1 S 片段	
[1321]	<400> 20	
[1322]	gcgcaccggg gatcctaggc gatttttggtt acgctataat tgtaactggt ttctgttttg	60
[1323]	acaacatcaa aaacatccat tgcacaatgg ggcagttcat tagcttcatg caagaaatac	120
[1324]	caaccttttt gcaggaggct ctgaacattg ctcttgttgc agtcagtctc attgccatca	180
[1325]	ttaagggtat agtgaacttg taaaaagtg gtttattcca attctttgta ttcttagcgc	240
[1326]	ttgcaggaag atcctgcaca gaagaagctt tcaaaatcgg actgcacact gagttccaga	300
[1327]	ctgtgtcctt ctcaatggtg ggtctctttt ccaacaatcc acatgacctt cctttgttgt	360
[1328]	gtaccttaaa caagagccat ctttacatta aggggggcaa tgcttcattt cagatcagct	420
[1329]	ttgatgatat tgcagtattg ttgccacagt atgatgttat aataacaacat ccagcagata	480
[1330]	tgagctgggtg ttccaaaagt gatgatcaaa tttggttgtc tcagtgggtc atgaatgctg	540
[1331]	tgggacatga ttggcatcta gaccaccat ttctgtgtag gaaccgtgca aagacagaag	600
[1332]	gcttcatctt tcaagtcaac acctccaaga ctggtgtcaa tggaaattat gctaagaagt	660
[1333]	ttaagactgg catgcatcat ttatatagag aatatectga cccttgcttg aatggcaaac	720
[1334]	tgtgttaaat gaaggcaca cctaccagtt ggctcttcca atgtccactc gaccacgtta	780
[1335]	acacattaca cttccttaca agaggtaaaa acattcaact tccaaggagg tccttgaaag	840
[1336]	cattcttctc ctggtctttg acagactcat ccggcaagga taccctgga ggctattgtc	900
[1337]	tagaagagtg gatgctcgta gcagccaaaa tgaagtgttt tggcaatact gctgtagcaa	960
[1338]	aatgcaattt gaatcatgac tctgaattct gtgacatgtt gaggtctttt gattacaaca	1020
[1339]	aaaatgctat caaaacccta aatgatgaaa ctaagaaaca agtaaactctg atggggcaga	1080
[1340]	caatcaatgc cctgatattc gacaatttat tgatgaaaaa caaaattagg gaactgatga	1140
[1341]	gtgtccctta ctgcaattac acaaaatttt ggtatgtcaa ccacacactt tcaggacaac	1200
[1342]	actcattacc aaggtgctgg ttaataaaaa acaacagcta tttgaacatc tctgacttcc	1260

[1343]	gtaatgactg gatattagaa agtgacttct taattttctga aatgctaagc aaagagtatt	1320
[1344]	cggacaggca gggtaaaact cttttgactt tagttgacat ctgtatttgg agcacagtat	1380
[1345]	tcttcacagc gtcactcttc cttcacttgg tgggtatacc ctcccacaga cacatcaggg	1440
[1346]	gcgaagcatg ccctttgcc aacaggttga acagcttggg tggttgcaga tgtggttaagt	1500
[1347]	accccaatct aaagaaacca acagtttggc gtagaggaca ctaagacctc ctgagggtcc	1560
[1348]	ccaccagccc gggcactgcc cgggctgggtg tggcccccca gtccgcggcc tggccgcgga	1620
[1349]	ctggggaggg actgcttaca gtgcataggc tgccttcggg aggaacagca agctcgggtg	1680
[1350]	taatagaggt gtaggttctt cctcatagag cttcccatct agcactgact gaaacattat	1740
[1351]	gcagtctagc agagcacagt gtggttcact ggaggccaac ttgaaggag tatccttttc	1800
[1352]	cctctttttc ttattgacaa ccactccatt gtgatatttg cataagtac catattttctc	1860
[1353]	ccagacctgt tgatcaaact gcctggcttg ttcagatgtg agcttaacat caaccagttt	1920
[1354]	aagatctctt cttccatgga ggtcaaaca cttcctgatg tcctcgatc cttgagtagt	1980
[1355]	cacaacctatg tctggaggca gcaagccgat cacgtaacta agaactcctg gcattgcac	2040
[1356]	ttctatgtcc ttcatgaaga tgccgtgaga gtgtctgcta ccatttttaa accctttctc	2100
[1357]	atcatgtggt tttctgaagc agtgaatgta ctgcttacct gcaggttggg ataatgcat	2160
[1358]	ctcaacaggg tcagtggctg gtcttcaat gtcagccaa aggggtgttg tggggtcgag	2220
[1359]	tttccccact gcctctctga tgacagcttc ttgtatctct gtcaagttag ccaatctcaa	2280
[1360]	attctgaccg ttttttccg gctgtctagg accagcaact ggtttccttg tcagatcaat	2340
[1361]	acttgtgttg tcccatgacc tgccgtgat ttgtgatcta gaaccaatat aaggccaacc	2400
[1362]	atcgccagaa agacaaagt tgtacaaaag gttttcataa ggatttctat tgcctggtt	2460
[1363]	ctcatcaata aacatgcctt ctcttcgttt aacctgaatg gttgatttta tgagggaaga	2520
[1364]	gaagttttct ggggtgactc tgattgttcc caacatgttt ccaccatcaa gaatagatgc	2580
[1365]	tccagccttt actgcagctg aaagactgaa gttgtaacca gaaatattga tggagcttcc	2640
[1366]	atcttttagtc acaatctgaa ggcagtcattg ttctgagtc agtctgtcaa ggtcacttaa	2700
[1367]	gtttggatac ttcacagtgt atagaagccc aagtgaggtt aaagcttgta tgacactgtt	2760
[1368]	cattgtctca cctccttgaa cagtcattga tgcaattgtc aatgcaggaa cagagccaaa	2820
[1369]	ctgattgttt agctttgaag ggtctttaac atcccatatc ctcaccacac catttcccc	2880
[1370]	agtccttgc tgttgaaatc ccagtgttct caatatctct gatcttttag caagttgtga	2940
[1371]	ctgggacaag ttaccatgt aaacccctg agagcctgtc tctgtcttc ttatcttgtt	3000
[1372]	ttttaatttc tcaaggtcag acgccaactc catcagttca tccctccca gatctccac	3060
[1373]	cttgaaaact gtgtttcggt gaacactcct catggacatg agtctgtcaa cctctttatt	3120
[1374]	caggccccctc aacttgttga ggtcttcttc ccccttttta gtctttctga gtgcccgtg	3180
[1375]	cacctgtgcc acttggttga agtcgatgct gtcagcaatt agcttggcgt ccttcaaac	3240
[1376]	atctgacttg acagtctgag tgaattggtc caaacctctc cttaaggact gagtccatct	3300
[1377]	aaagcttgga acctccttg agtgtgcat gccagaagt ctggtgattt tgatctagaa	3360
[1378]	tagagttgct cagtgaagt gttagacact atgcctagga tccactgtgc	g 3411
[1379]	<210>	21
[1380]	<211>	558
[1381]	<212>	PRT
[1382]	<213>	人工序列
[1383]	<220>	
[1384]	<223>	LCMV的克隆13毒株的NP蛋白 (GenBank Accession No.

[1385]	ABC96002.1; GI:86440166)															
[1386]	<400> 21															
[1387]	Met	Ser	Leu	Ser	Lys	Glu	Val	Lys	Ser	Phe	Gln	Trp	Thr	Gln	Ala	Leu
[1388]	1				5					10					15	
[1389]	Arg	Arg	Glu	Leu	Gln	Ser	Phe	Thr	Ser	Asp	Val	Lys	Ala	Ala	Val	Ile
[1390]				20					25					30		
[1391]	Lys	Asp	Ala	Thr	Asn	Leu	Leu	Asn	Gly	Leu	Asp	Phe	Ser	Glu	Val	Ser
[1392]			35					40					45			
[1393]	Asn	Val	Gln	Arg	Ile	Met	Arg	Lys	Glu	Lys	Arg	Asp	Asp	Lys	Asp	Leu
[1394]		50					55					60				
[1395]	Gln	Arg	Leu	Arg	Ser	Leu	Asn	Gln	Thr	Val	His	Ser	Leu	Val	Asp	Leu
[1396]	65					70				75					80	
[1397]	Lys	Ser	Thr	Ser	Lys	Lys	Asn	Val	Leu	Lys	Val	Gly	Arg	Leu	Ser	Ala
[1398]					85				90					95		
[1399]	Glu	Glu	Leu	Met	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Leu	Glu	Lys	Leu	Lys	Ala	Lys
[1400]			100					105					110			
[1401]	Ile	Met	Arg	Ser	Glu	Arg	Pro	Gln	Ala	Ser	Gly	Val	Tyr	Met	Gly	Asn
[1402]			115					120					125			
[1403]	Leu	Thr	Thr	Gln	Gln	Leu	Asp	Gln	Arg	Ser	Gln	Ile	Leu	Gln	Ile	Val
[1404]		130					135				140					
[1405]	Gly	Met	Arg	Lys	Pro	Gln	Gln	Gly	Ala	Ser	Gly	Val	Val	Arg	Val	Trp
[1406]	145				150				155					160		
[1407]	Asp	Val	Lys	Asp	Ser	Ser	Leu	Leu	Asn	Asn	Gln	Phe	Gly	Thr	Met	Pro
[1408]				165				170					175			
[1409]	Ser	Leu	Thr	Met	Ala	Cys	Met	Ala	Lys	Gln	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	Asn
[1410]			180					185					190			
[1411]	Asp	Val	Val	Gln	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Leu	Leu	Tyr	Thr	Val	Lys
[1412]		195					200					205				
[1413]	Tyr	Pro	Asn	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Arg	Leu	Lys	Asp	Lys	His	Pro	Val
[1414]		210				215				220						
[1415]	Leu	Gly	Val	Ile	Thr	Glu	Gln	Gln	Ser	Ser	Ile	Asn	Ile	Ser	Gly	Tyr
[1416]	225				230				235				240			
[1417]	Asn	Phe	Ser	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Lys	Ala	Gly	Ala	Ala	Leu	Leu	Asp
[1418]				245				250					255			
[1419]	Gly	Gly	Asn	Met	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Ile	Lys	Pro	Ser	Asn	Ser	Glu
[1420]			260					265					270			
[1421]	Asp	Leu	Leu	Lys	Ala	Val	Leu	Gly	Ala	Lys	Arg	Lys	Leu	Asn	Met	Phe
[1422]		275					280					285				
[1423]	Val	Ser	Asp	Gln	Val	Gly	Asp	Arg	Asn	Pro	Tyr	Glu	Asn	Ile	Leu	Tyr
[1424]		290				295				300						
[1425]	Lys	Val	Cys	Leu	Ser	Gly	Glu	Gly	Trp	Pro	Tyr	Ile	Ala	Cys	Arg	Thr
[1426]	305				310				315				320			

[1427]	Ser Ile Val Gly Arg Ala Trp Glu Asn Thr Thr Ile Asp Leu Thr Ser		
[1428]		325	330 335
[1429]	Glu Lys Pro Ala Val Asn Ser Pro Arg Pro Ala Pro Gly Ala Ala Gly		
[1430]		340	345 350
[1431]	Pro Pro Gln Val Gly Leu Ser Tyr Ser Gln Thr Met Leu Leu Lys Asp		
[1432]		355	360 365
[1433]	Leu Met Gly Gly Ile Asp Pro Asn Ala Pro Thr Trp Ile Asp Ile Glu		
[1434]		370	375 380
[1435]	Gly Arg Phe Asn Asp Pro Val Glu Ile Ala Ile Phe Gln Pro Gln Asn		
[1436]		385	390 395 400
[1437]	Gly Gln Phe Ile His Phe Tyr Arg Glu Pro Val Asp Gln Lys Gln Phe		
[1438]		405	410 415
[1439]	Lys Gln Asp Ser Lys Tyr Ser His Gly Met Asp Leu Ala Asp Leu Phe		
[1440]		420	425 430
[1441]	Asn Ala Gln Pro Gly Leu Thr Ser Ser Val Ile Gly Ala Leu Pro Gln		
[1442]		435	440 445
[1443]	Gly Met Val Leu Ser Cys Gln Gly Ser Asp Asp Ile Arg Lys Leu Leu		
[1444]		450	455 460
[1445]	Asp Ser Gln Asn Arg Lys Asp Ile Lys Leu Ile Asp Val Glu Met Thr		
[1446]		465	470 475 480
[1447]	Arg Glu Ala Ser Arg Glu Tyr Glu Asp Lys Val Trp Asp Lys Tyr Gly		
[1448]		485	490 495
[1449]	Trp Leu Cys Lys Met His Thr Gly Ile Val Arg Asp Lys Lys Lys Lys		
[1450]		500	505 510
[1451]	Glu Ile Thr Pro His Cys Ala Leu Met Asp Cys Ile Ile Phe Glu Ser		
[1452]		515	520 525
[1453]	Ala Ser Lys Ala Arg Leu Pro Asp Leu Lys Thr Val His Asn Ile Leu		
[1454]		530	535 540
[1455]	Pro His Asp Leu Ile Phe Arg Gly Pro Asn Val Val Thr Leu		
[1456]		545	550 555
[1457]	<210> 22		
[1458]	<211> 498		
[1459]	<212> PRT		
[1460]	<213> 人工序列		
[1461]	<220>		
[1462]	<223> LCMV的克隆13毒株的GP蛋白 (GenBank Accession		
[1463]	No. ABC96001.2; GI:116563462)		
[1464]	<400> 22		
[1465]	Met Gly Gln Ile Val Thr Met Phe Glu Ala Leu Pro His Ile Ile Asp		
[1466]	1	5	10 15
[1467]	Glu Val Ile Asn Ile Val Ile Ile Val Leu Ile Val Ile Thr Gly Ile		
[1468]		20	25 30

[1469]	Lys	Ala	Val	Tyr	Asn	Phe	Ala	Thr	Cys	Gly	Ile	Phe	Ala	Leu	Ile	Ser
[1470]		35						40					45			
[1471]	Phe	Leu	Leu	Leu	Ala	Gly	Arg	Ser	Cys	Gly	Met	Tyr	Gly	Leu	Lys	Gly
[1472]		50					55					60				
[1473]	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Gly	Val	Tyr	Gln	Phe	Lys	Ser	Val	Glu	Phe	Asp
[1474]	65					70					75					80
[1475]	Met	Ser	His	Leu	Asn	Leu	Thr	Met	Pro	Asn	Ala	Cys	Ser	Ala	Asn	Asn
[1476]					85					90					95	
[1477]	Ser	His	His	Tyr	Ile	Ser	Met	Gly	Thr	Ser	Gly	Leu	Glu	Leu	Thr	Phe
[1478]				100					105					110		
[1479]	Thr	Asn	Asp	Ser	Ile	Ile	Ser	His	Asn	Phe	Cys	Asn	Leu	Thr	Ser	Ala
[1480]				115					120					125		
[1481]	Phe	Asn	Lys	Lys	Thr	Phe	Asp	His	Thr	Leu	Met	Ser	Ile	Val	Ser	Ser
[1482]				130					135				140			
[1483]	Leu	His	Leu	Ser	Ile	Arg	Gly	Asn	Ser	Asn	Tyr	Lys	Ala	Val	Ser	Cys
[1484]	145					150					155					160
[1485]	Asp	Phe	Asn	Asn	Gly	Ile	Thr	Ile	Gln	Tyr	Asn	Leu	Thr	Phe	Ser	Asp
[1486]					165					170					175	
[1487]	Ala	Gln	Ser	Ala	Gln	Ser	Gln	Cys	Arg	Thr	Phe	Arg	Gly	Arg	Val	Leu
[1488]					180					185					190	
[1489]	Asp	Met	Phe	Arg	Thr	Ala	Phe	Gly	Gly	Lys	Tyr	Met	Arg	Ser	Gly	Trp
[1490]				195					200					205		
[1491]	Gly	Trp	Thr	Gly	Ser	Asp	Gly	Lys	Thr	Thr	Trp	Cys	Ser	Gln	Thr	Ser
[1492]				210					215					220		
[1493]	Tyr	Gln	Tyr	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Arg	Thr	Trp	Glu	Asn	His	Cys	Thr
[1494]	225					230					235					240
[1495]	Tyr	Ala	Gly	Pro	Phe	Gly	Met	Ser	Arg	Ile	Leu	Leu	Ser	Gln	Glu	Lys
[1496]					245					250					255	
[1497]	Thr	Lys	Phe	Leu	Thr	Arg	Arg	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Thr	Trp	Thr	Leu
[1498]				260						265					270	
[1499]	Ser	Asp	Ser	Ser	Gly	Val	Glu	Asn	Pro	Gly	Gly	Tyr	Cys	Leu	Thr	Lys
[1500]				275					280					285		
[1501]	Trp	Met	Ile	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Cys	Phe	Gly	Asn	Thr	Ala	Val
[1502]				290					295				300			
[1503]	Ala	Lys	Cys	Asn	Val	Asn	His	Asp	Glu	Glu	Phe	Cys	Asp	Met	Leu	Arg
[1504]	305					310					315					320
[1505]	Leu	Ile	Asp	Tyr	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Ser	Lys	Phe	Lys	Glu	Asp	Val
[1506]					325						330				335	
[1507]	Glu	Ser	Ala	Leu	His	Leu	Phe	Lys	Thr	Thr	Val	Asn	Ser	Leu	Ile	Ser
[1508]				340						345					350	
[1509]	Asp	Gln	Leu	Leu	Met	Arg	Asn	His	Leu	Arg	Asp	Leu	Met	Gly	Val	Pro
[1510]				355					360					365		



[1511]	Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly
[1512]	370 375 380
[1513]	Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu
[1514]	385 390 395 400
[1515]	Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met
[1516]	405 410 415
[1517]	Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr
[1518]	420 425 430
[1519]	Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu
[1520]	435 440 445
[1521]	Val Ser Ile Phe Leu His Leu Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile
[1522]	450 455 460
[1523]	Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Asn Lys Gly Ile
[1524]	465 470 475 480
[1525]	Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Lys Thr Val Trp Lys
[1526]	485 490 495
[1527]	Arg Arg
[1528]	<210> 23
[1529]	<211> 2210
[1530]	<212> PRT
[1531]	<213> 人工序列
[1532]	<220>
[1533]	<223> LCMV的克隆13毒株的L蛋白 (GenBank Accession
[1534]	No. ABC96004.1; GI:86440169)
[1535]	<400> 23
[1536]	Met Asp Glu Ile Ile Ser Glu Leu Arg Glu Leu Cys Leu Asn Tyr Ile
[1537]	1 5 10 15
[1538]	Glu Gln Asp Glu Arg Leu Ser Arg Gln Lys Leu Asn Phe Leu Gly Gln
[1539]	20 25 30
[1540]	Arg Glu Pro Arg Met Val Leu Ile Glu Gly Leu Lys Leu Leu Ser Arg
[1541]	35 40 45
[1542]	Cys Ile Glu Ile Asp Ser Ala Asp Lys Ser Gly Cys Thr His Asn His
[1543]	50 55 60
[1544]	Asp Asp Lys Ser Val Glu Thr Ile Leu Val Glu Ser Gly Ile Val Cys
[1545]	65 70 75 80
[1546]	Pro Gly Leu Pro Leu Ile Ile Pro Asp Gly Tyr Lys Leu Ile Asp Asn
[1547]	85 90 95
[1548]	Ser Leu Ile Leu Leu Glu Cys Phe Val Arg Ser Thr Pro Ala Ser Phe
[1549]	100 105 110
[1550]	Glu Lys Lys Phe Ile Glu Asp Thr Asn Lys Leu Ala Cys Ile Arg Glu
[1551]	115 120 125
[1552]	Asp Leu Ala Val Ala Gly Val Thr Leu Val Pro Ile Val Asp Gly Arg

[1553]	130	135	140
[1554]	Cys Asp Tyr Asp Asn Ser Phe Met Pro Glu Trp Ala Asn Phe Lys Phe		
[1555]	145	150	155
[1556]	Arg Asp Leu Leu Phe Lys Leu Leu Glu Tyr Ser Asn Gln Asn Glu Lys		
[1557]	165	170	175
[1558]	Val Phe Glu Glu Ser Glu Tyr Phe Arg Leu Cys Glu Ser Leu Lys Thr		
[1559]	180	185	190
[1560]	Thr Ile Asp Lys Arg Ser Gly Met Asp Ser Met Lys Ile Leu Lys Asp		
[1561]	195	200	205
[1562]	Ala Arg Ser Thr His Asn Asp Glu Ile Met Arg Met Cys His Glu Gly		
[1563]	210	215	220
[1564]	Ile Asn Pro Asn Met Ser Cys Asp Asp Val Val Phe Gly Ile Asn Ser		
[1565]	225	230	235
[1566]	Leu Phe Ser Arg Phe Arg Arg Asp Leu Glu Ser Gly Lys Leu Lys Arg		
[1567]	245	250	255
[1568]	Asn Phe Gln Lys Val Asn Pro Glu Gly Leu Ile Lys Glu Phe Ser Glu		
[1569]	260	265	270
[1570]	Leu Tyr Glu Asn Leu Ala Asp Ser Asp Asp Ile Leu Thr Leu Ser Arg		
[1571]	275	280	285
[1572]	Glu Ala Val Glu Ser Cys Pro Leu Met Arg Phe Ile Thr Ala Glu Thr		
[1573]	290	295	300
[1574]	His Gly His Glu Arg Gly Ser Glu Thr Ser Thr Glu Tyr Glu Arg Leu		
[1575]	305	310	315
[1576]	Leu Ser Met Leu Asn Lys Val Lys Ser Leu Lys Leu Leu Asn Thr Arg		
[1577]	325	330	335
[1578]	Arg Arg Gln Leu Leu Asn Leu Asp Val Leu Cys Leu Ser Ser Leu Ile		
[1579]	340	345	350
[1580]	Lys Gln Ser Lys Phe Lys Gly Leu Lys Asn Asp Lys His Trp Val Gly		
[1581]	355	360	365
[1582]	Cys Cys Tyr Ser Ser Val Asn Asp Arg Leu Val Ser Phe His Ser Thr		
[1583]	370	375	380
[1584]	Lys Glu Glu Phe Ile Arg Leu Leu Arg Asn Arg Lys Lys Ser Lys Val		
[1585]	385	390	395
[1586]	Phe Arg Lys Val Ser Phe Glu Glu Leu Phe Arg Ala Ser Ile Ser Glu		
[1587]	405	410	415
[1588]	Phe Ile Ala Lys Ile Gln Lys Cys Leu Leu Val Val Gly Leu Ser Phe		
[1589]	420	425	430
[1590]	Glu His Tyr Gly Leu Ser Glu His Leu Glu Gln Glu Cys His Ile Pro		
[1591]	435	440	445
[1592]	Phe Thr Glu Phe Glu Asn Phe Met Lys Ile Gly Ala His Pro Ile Met		
[1593]	450	455	460
[1594]	Tyr Tyr Thr Lys Phe Glu Asp Tyr Asn Phe Gln Pro Ser Thr Glu Gln		

[1595]	465	470	475	480
[1596]	Leu Lys Asn Ile Gln Ser Leu Arg Arg Leu Ser Ser Val Cys Leu Ala			
[1597]		485	490	495
[1598]	Leu Thr Asn Ser Met Lys Thr Ser Ser Val Ala Arg Leu Arg Gln Asn			
[1599]		500	505	510
[1600]	Gln Ile Gly Ser Val Arg Tyr Gln Val Val Glu Cys Lys Glu Val Phe			
[1601]		515	520	525
[1602]	Cys Gln Val Ile Lys Leu Asp Ser Glu Glu Tyr His Leu Leu Tyr Gln			
[1603]		530	535	540
[1604]	Lys Thr Gly Glu Ser Ser Arg Cys Tyr Ser Ile Gln Gly Pro Asp Gly			
[1605]	545	550	555	560
[1606]	His Leu Ile Ser Phe Tyr Ala Asp Pro Lys Arg Phe Phe Leu Pro Ile			
[1607]		565	570	575
[1608]	Phe Ser Asp Glu Val Leu Tyr Asn Met Ile Asp Ile Met Ile Ser Trp			
[1609]		580	585	590
[1610]	Ile Arg Ser Cys Pro Asp Leu Lys Asp Cys Leu Thr Asp Ile Glu Val			
[1611]		595	600	605
[1612]	Ala Leu Arg Thr Leu Leu Leu Leu Met Leu Thr Asn Pro Thr Lys Arg			
[1613]		610	615	620
[1614]	Asn Gln Lys Gln Val Gln Ser Val Arg Tyr Leu Val Met Ala Ile Val			
[1615]	625	630	635	640
[1616]	Ser Asp Phe Ser Ser Thr Ser Leu Met Asp Lys Leu Arg Glu Asp Leu			
[1617]		645	650	655
[1618]	Ile Thr Pro Ala Glu Lys Val Val Tyr Lys Leu Leu Arg Phe Leu Ile			
[1619]		660	665	670
[1620]	Lys Thr Ile Phe Gly Thr Gly Glu Lys Val Leu Leu Ser Ala Lys Phe			
[1621]		675	680	685
[1622]	Lys Phe Met Leu Asn Val Ser Tyr Leu Cys His Leu Ile Thr Lys Glu			
[1623]		690	695	700
[1624]	Thr Pro Asp Arg Leu Thr Asp Gln Ile Lys Cys Phe Glu Lys Phe Phe			
[1625]	705	710	715	720
[1626]	Glu Pro Lys Ser Gln Phe Gly Phe Phe Val Asn Pro Lys Glu Ala Ile			
[1627]		725	730	735
[1628]	Thr Pro Glu Glu Glu Cys Val Phe Tyr Glu Gln Met Lys Arg Phe Thr			
[1629]		740	745	750
[1630]	Ser Lys Glu Ile Asp Cys Gln His Thr Thr Pro Gly Val Asn Leu Glu			
[1631]		755	760	765
[1632]	Ala Phe Ser Leu Met Val Ser Ser Phe Asn Asn Gly Thr Leu Ile Phe			
[1633]		770	775	780
[1634]	Lys Gly Glu Lys Lys Leu Asn Ser Leu Asp Pro Met Thr Asn Ser Gly			
[1635]	785	790	795	800
[1636]	Cys Ala Thr Ala Leu Asp Leu Ala Ser Asn Lys Ser Val Val Val Asn			

[1637]		805		810		815
[1638]	Lys His Leu Asn Gly Glu Arg Leu Leu Glu Tyr Asp Phe Asn Lys Leu					
[1639]		820		825		830
[1640]	Leu Val Ser Ala Val Ser Gln Ile Thr Glu Ser Phe Val Arg Lys Gln					
[1641]		835		840		845
[1642]	Lys Tyr Lys Leu Ser His Ser Asp Tyr Glu Tyr Lys Val Ser Lys Leu					
[1643]		850		855		860
[1644]	Val Ser Arg Leu Val Ile Gly Ser Lys Gly Glu Glu Thr Gly Arg Ser					
[1645]	865		870		875	880
[1646]	Glu Asp Asn Leu Ala Glu Ile Cys Phe Asp Gly Glu Glu Glu Thr Ser					
[1647]		885		890		895
[1648]	Phe Phe Lys Ser Leu Glu Glu Lys Val Asn Thr Thr Ile Ala Arg Tyr					
[1649]		900		905		910
[1650]	Arg Arg Gly Arg Arg Ala Asn Asp Lys Gly Asp Gly Glu Lys Leu Thr					
[1651]		915		920		925
[1652]	Asn Thr Lys Gly Leu His His Leu Gln Leu Ile Leu Thr Gly Lys Met					
[1653]		930		935		940
[1654]	Ala His Leu Arg Lys Val Ile Leu Ser Glu Ile Ser Phe His Leu Val					
[1655]	945		950		955	960
[1656]	Glu Asp Phe Asp Pro Ser Cys Leu Thr Asn Asp Asp Met Lys Phe Ile					
[1657]		965		970		975
[1658]	Cys Glu Ala Val Glu Gly Ser Thr Glu Leu Ser Pro Leu Tyr Phe Thr					
[1659]		980		985		990
[1660]	Ser Val Ile Lys Asp Gln Cys Gly Leu Asp Glu Met Ala Lys Asn Leu					
[1661]		995		1000		1005
[1662]	Cys Arg Lys Phe Phe Ser Glu Asn Asp Trp Phe Ser Cys Met Lys					
[1663]		1010		1015		1020
[1664]	Met Ile Leu Leu Gln Met Asn Ala Asn Ala Tyr Ser Gly Lys Tyr					
[1665]		1025		1030		1035
[1666]	Arg His Met Gln Arg Gln Gly Leu Asn Phe Lys Phe Asp Trp Asp					
[1667]		1040		1045		1050
[1668]	Lys Leu Glu Glu Asp Val Arg Ile Ser Glu Arg Glu Ser Asn Ser					
[1669]		1055		1060		1065
[1670]	Glu Ser Leu Ser Lys Ala Leu Ser Leu Thr Gln Cys Met Ser Ala					
[1671]		1070		1075		1080
[1672]	Ala Leu Lys Asn Leu Cys Phe Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Thr Ser					
[1673]		1085		1090		1095
[1674]	Tyr Thr Ser Val Gly Pro Asp Ser Gly Arg Leu Lys Phe Ala Leu					
[1675]		1100		1105		1110
[1676]	Ser Tyr Lys Glu Gln Val Gly Gly Asn Arg Glu Leu Tyr Ile Gly					
[1677]		1115		1120		1125
[1678]	Asp Leu Arg Thr Lys Met Phe Thr Arg Leu Ile Glu Asp Tyr Phe					

[1679]	1130	1135	1140
[1680]	Glu Ser Phe Ser Ser Phe Phe Ser Gly Ser Cys Leu Asn Asn Asp		
[1681]	1145	1150	1155
[1682]	Lys Glu Phe Glu Asn Ala Ile Leu Ser Met Thr Ile Asn Val Arg		
[1683]	1160	1165	1170
[1684]	Glu Gly Phe Leu Asn Tyr Ser Met Asp His Ser Lys Trp Gly Pro		
[1685]	1175	1180	1185
[1686]	Met Met Cys Pro Phe Leu Phe Leu Met Phe Leu Gln Asn Leu Lys		
[1687]	1190	1195	1200
[1688]	Leu Gly Asp Asp Gln Tyr Val Arg Ser Gly Lys Asp His Val Ser		
[1689]	1205	1210	1215
[1690]	Thr Leu Leu Thr Trp His Met His Lys Leu Val Glu Val Pro Phe		
[1691]	1220	1225	1230
[1692]	Pro Val Val Asn Ala Met Met Lys Ser Tyr Val Lys Ser Lys Leu		
[1693]	1235	1240	1245
[1694]	Lys Leu Leu Arg Gly Ser Glu Thr Thr Val Thr Glu Arg Ile Phe		
[1695]	1250	1255	1260
[1696]	Arg Gln Tyr Phe Glu Met Gly Ile Val Pro Ser His Ile Ser Ser		
[1697]	1265	1270	1275
[1698]	Leu Ile Asp Met Gly Gln Gly Ile Leu His Asn Ala Ser Asp Phe		
[1699]	1280	1285	1290
[1700]	Tyr Gly Leu Leu Ser Glu Arg Phe Ile Asn Tyr Cys Ile Gly Val		
[1701]	1295	1300	1305
[1702]	Ile Phe Gly Glu Arg Pro Glu Ala Tyr Thr Ser Ser Asp Asp Gln		
[1703]	1310	1315	1320
[1704]	Ile Thr Leu Phe Asp Arg Arg Leu Ser Asp Leu Val Val Ser Asp		
[1705]	1325	1330	1335
[1706]	Pro Glu Glu Val Leu Val Leu Leu Glu Phe Gln Ser His Leu Ser		
[1707]	1340	1345	1350
[1708]	Gly Leu Leu Asn Lys Phe Ile Ser Pro Lys Ser Val Ala Gly Arg		
[1709]	1355	1360	1365
[1710]	Phe Ala Ala Glu Phe Lys Ser Arg Phe Tyr Val Trp Gly Glu Glu		
[1711]	1370	1375	1380
[1712]	Val Pro Leu Leu Thr Lys Phe Val Ser Ala Ala Leu His Asn Val		
[1713]	1385	1390	1395
[1714]	Lys Cys Lys Glu Pro His Gln Leu Cys Glu Thr Ile Asp Thr Ile		
[1715]	1400	1405	1410
[1716]	Ala Asp Gln Ala Ile Ala Asn Gly Val Pro Val Ser Leu Val Asn		
[1717]	1415	1420	1425
[1718]	Ser Ile Gln Arg Arg Thr Leu Asp Leu Leu Lys Tyr Ala Asn Phe		
[1719]	1430	1435	1440
[1720]	Pro Leu Asp Pro Phe Leu Leu Asn Thr Asn Thr Asp Val Lys Asp		

[1721]	1445	1450	1455
[1722]	Trp Leu Asp Gly Ser Arg Gly Tyr Arg Ile Gln Arg Leu Ile Glu		
[1723]	1460	1465	1470
[1724]	Glu Leu Cys Pro Asn Glu Thr Lys Val Val Arg Lys Leu Val Arg		
[1725]	1475	1480	1485
[1726]	Lys Leu His His Lys Leu Lys Asn Gly Glu Phe Asn Glu Glu Phe		
[1727]	1490	1495	1500
[1728]	Phe Leu Asp Leu Phe Asn Arg Asp Lys Lys Glu Ala Ile Leu Gln		
[1729]	1505	1510	1515
[1730]	Leu Gly Asp Leu Leu Gly Leu Glu Glu Asp Leu Asn Gln Leu Ala		
[1731]	1520	1525	1530
[1732]	Asp Val Asn Trp Leu Asn Leu Asn Glu Met Phe Pro Leu Arg Met		
[1733]	1535	1540	1545
[1734]	Val Leu Arg Gln Lys Val Val Tyr Pro Ser Val Met Thr Phe Gln		
[1735]	1550	1555	1560
[1736]	Glu Glu Arg Ile Pro Ser Leu Ile Lys Thr Leu Gln Asn Lys Leu		
[1737]	1565	1570	1575
[1738]	Cys Ser Lys Phe Thr Arg Gly Ala Gln Lys Leu Leu Ser Glu Ala		
[1739]	1580	1585	1590
[1740]	Ile Asn Lys Ser Ala Phe Gln Ser Cys Ile Ser Ser Gly Phe Ile		
[1741]	1595	1600	1605
[1742]	Gly Leu Cys Lys Thr Leu Gly Ser Arg Cys Val Arg Asn Lys Asn		
[1743]	1610	1615	1620
[1744]	Arg Glu Asn Leu Tyr Ile Lys Lys Leu Leu Glu Asp Leu Thr Thr		
[1745]	1625	1630	1635
[1746]	Asp Asp His Val Thr Arg Val Cys Asn Arg Asp Gly Ile Thr Leu		
[1747]	1640	1645	1650
[1748]	Tyr Ile Cys Asp Lys Gln Ser His Pro Glu Ala His Arg Asp His		
[1749]	1655	1660	1665
[1750]	Ile Cys Leu Leu Arg Pro Leu Leu Trp Asp Tyr Ile Cys Ile Ser		
[1751]	1670	1675	1680
[1752]	Leu Ser Asn Ser Phe Glu Leu Gly Val Trp Val Leu Ala Glu Pro		
[1753]	1685	1690	1695
[1754]	Thr Lys Gly Lys Asn Asn Ser Glu Asn Leu Thr Leu Lys His Leu		
[1755]	1700	1705	1710
[1756]	Asn Pro Cys Asp Tyr Val Ala Arg Lys Pro Glu Ser Ser Arg Leu		
[1757]	1715	1720	1725
[1758]	Leu Glu Asp Lys Val Asn Leu Asn Gln Val Ile Gln Ser Val Arg		
[1759]	1730	1735	1740
[1760]	Arg Leu Tyr Pro Lys Ile Phe Glu Asp Gln Leu Leu Pro Phe Met		
[1761]	1745	1750	1755
[1762]	Ser Asp Met Ser Ser Lys Asn Met Arg Trp Ser Pro Arg Ile Lys		

[1763]	1760	1765	1770
[1764]	Phe Leu Asp Leu Cys Val	Leu Ile Asp Ile Asn	Ser Glu Ser Leu
[1765]	1775	1780	1785
[1766]	Ser Leu Ile Ser His Val	Val Lys Trp Lys Arg	Asp Glu His Tyr
[1767]	1790	1795	1800
[1768]	Thr Val Leu Phe Ser Asp	Leu Ala Asn Ser His	Gln Arg Ser Asp
[1769]	1805	1810	1815
[1770]	Ser Ser Leu Val Asp Glu	Phe Val Val Ser Thr	Arg Asp Val Cys
[1771]	1820	1825	1830
[1772]	Lys Asn Phe Leu Lys Gln	Val Tyr Phe Glu Ser	Phe Val Arg Glu
[1773]	1835	1840	1845
[1774]	Phe Val Ala Thr Thr Arg	Thr Leu Gly Asn Phe	Ser Trp Phe Pro
[1775]	1850	1855	1860
[1776]	His Lys Glu Met Met Pro	Ser Glu Asp Gly Ala	Glu Ala Leu Gly
[1777]	1865	1870	1875
[1778]	Pro Phe Gln Ser Phe Val	Ser Lys Val Val Asn	Lys Asn Val Glu
[1779]	1880	1885	1890
[1780]	Arg Pro Met Phe Arg Asn	Asp Leu Gln Phe Gly	Phe Gly Trp Phe
[1781]	1895	1900	1905
[1782]	Ser Tyr Arg Met Gly Asp	Val Val Cys Asn Ala	Ala Met Leu Ile
[1783]	1910	1915	1920
[1784]	Arg Gln Gly Leu Thr Asn	Pro Lys Ala Phe Lys	Ser Leu Lys Asp
[1785]	1925	1930	1935
[1786]	Leu Trp Asp Tyr Met Leu	Asn Tyr Thr Lys Gly	Val Leu Glu Phe
[1787]	1940	1945	1950
[1788]	Ser Ile Ser Val Asp Phe	Thr His Asn Gln Asn	Asn Thr Asp Cys
[1789]	1955	1960	1965
[1790]	Leu Arg Lys Phe Ser Leu	Ile Phe Leu Val Arg	Cys Gln Leu Gln
[1791]	1970	1975	1980
[1792]	Asn Pro Gly Val Ala Glu	Leu Leu Ser Cys Ser	His Leu Phe Lys
[1793]	1985	1990	1995
[1794]	Gly Glu Ile Asp Arg Arg	Met Leu Asp Glu Cys	Leu His Leu Leu
[1795]	2000	2005	2010
[1796]	Arg Thr Asp Ser Val Phe	Lys Val Asn Asp Gly	Val Phe Asp Ile
[1797]	2015	2020	2025
[1798]	Arg Ser Glu Glu Phe Glu	Asp Tyr Met Glu Asp	Pro Leu Ile Leu
[1799]	2030	2035	2040
[1800]	Gly Asp Ser Leu Glu Leu	Glu Leu Leu Gly Ser	Lys Arg Ile Leu
[1801]	2045	2050	2055
[1802]	Asp Gly Ile Arg Ser Ile	Asp Phe Glu Arg Val	Gly Pro Glu Trp
[1803]	2060	2065	2070
[1804]	Glu Pro Val Pro Leu Thr	Val Lys Met Gly Ala	Leu Phe Glu Gly

[1805]	2075	2080	2085
[1806]	Arg Asn Leu Val Gln Asn Ile Ile Val Lys Leu Glu Thr Lys Asp		
[1807]	2090	2095	2100
[1808]	Met Lys Val Phe Leu Ala Gly Leu Glu Gly Tyr Glu Lys Ile Ser		
[1809]	2105	2110	2115
[1810]	Asp Val Leu Gly Asn Leu Phe Leu His Arg Phe Arg Thr Gly Glu		
[1811]	2120	2125	2130
[1812]	His Leu Leu Gly Ser Glu Ile Ser Val Ile Leu Gln Glu Leu Cys		
[1813]	2135	2140	2145
[1814]	Ile Asp Arg Ser Ile Leu Leu Ile Pro Leu Ser Leu Leu Pro Asp		
[1815]	2150	2155	2160
[1816]	Trp Phe Ala Phe Lys Asp Cys Arg Leu Cys Phe Ser Lys Ser Arg		
[1817]	2165	2170	2175
[1818]	Ser Thr Leu Met Tyr Glu Thr Val Gly Gly Arg Phe Arg Leu Lys		
[1819]	2180	2185	2190
[1820]	Gly Arg Ser Cys Asp Asp Trp Leu Gly Gly Ser Val Ala Glu Asp		
[1821]	2195	2200	2205
[1822]	Ile Asp		
[1823]	2210		
[1824]	<210> 24		
[1825]	<211> 90		
[1826]	<212> PRT		
[1827]	<213> 人工序列		
[1828]	<220>		
[1829]	<223> LCMV的克隆13毒株的Z蛋白 (GenBank		
[1830]	Accession No. ABC96003.1; GI:86440168)		
[1831]	<400> 24		
[1832]	Met Gly Gln Gly Lys Ser Arg Glu Glu Lys Gly Thr Asn Ser Thr Asn		
[1833]	1 5 10 15		
[1834]	Arg Ala Glu Ile Leu Pro Asp Thr Thr Tyr Leu Gly Pro Leu Ser Cys		
[1835]	20 25 30		
[1836]	Lys Ser Cys Trp Gln Lys Phe Asp Ser Leu Val Arg Cys His Asp His		
[1837]	35 40 45		
[1838]	Tyr Leu Cys Arg His Cys Leu Asn Leu Leu Leu Ser Val Ser Asp Arg		
[1839]	50 55 60		
[1840]	Cys Pro Leu Cys Lys Tyr Pro Leu Pro Thr Arg Leu Lys Ile Ser Thr		
[1841]	65 70 75 80		
[1842]	Ala Pro Ser Ser Pro Pro Tyr Glu Glu		
[1843]	85 90		
[1844]	<210> 25		
[1845]	<211> 498		
[1846]	<212> PRT		



[1847]	<213> 人工序列															
[1848]	<220>															
[1849]	<223> LCMV的WE毒株的GP蛋白															
[1850]	<400> 25															
[1851]	Met	Gly	Gln	Ile	Val	Thr	Met	Phe	Glu	Ala	Leu	Pro	His	Ile	Ile	Asp
[1852]	1				5						10				15	
[1853]	Glu	Val	Ile	Asn	Ile	Val	Ile	Ile	Val	Leu	Ile	Ile	Ile	Thr	Ser	Ile
[1854]					20					25				30		
[1855]	Lys	Ala	Val	Tyr	Asn	Phe	Ala	Thr	Cys	Gly	Ile	Leu	Ala	Leu	Val	Ser
[1856]			35					40					45			
[1857]	Phe	Leu	Phe	Leu	Ala	Gly	Arg	Ser	Cys	Gly	Met	Tyr	Gly	Leu	Asn	Gly
[1858]		50					55				60					
[1859]	Pro	Asp	Ile	Tyr	Lys	Gly	Val	Tyr	Gln	Phe	Lys	Ser	Val	Glu	Phe	Asp
[1860]	65					70					75				80	
[1861]	Met	Ser	His	Leu	Asn	Leu	Thr	Met	Pro	Asn	Ala	Cys	Ser	Ala	Asn	Asn
[1862]					85					90				95		
[1863]	Ser	His	His	Tyr	Ile	Ser	Met	Gly	Ser	Ser	Gly	Leu	Glu	Leu	Thr	Phe
[1864]					100					105				110		
[1865]	Thr	Asn	Asp	Ser	Ile	Leu	Asn	His	Asn	Phe	Cys	Asn	Leu	Thr	Ser	Ala
[1866]					115					120				125		
[1867]	Phe	Asn	Lys	Lys	Thr	Phe	Asp	His	Thr	Leu	Met	Ser	Ile	Val	Ser	Ser
[1868]					130					135				140		
[1869]	Leu	His	Leu	Ser	Ile	Arg	Gly	Asn	Ser	Asn	His	Lys	Ala	Val	Ser	Cys
[1870]	145					150					155				160	
[1871]	Asp	Phe	Asn	Asn	Gly	Ile	Thr	Ile	Gln	Tyr	Asn	Leu	Ser	Phe	Ser	Asp
[1872]					165					170				175		
[1873]	Pro	Gln	Ser	Ala	Ile	Ser	Gln	Cys	Arg	Thr	Phe	Arg	Gly	Arg	Val	Leu
[1874]					180					185				190		
[1875]	Asp	Met	Phe	Arg	Thr	Ala	Phe	Gly	Gly	Lys	Tyr	Met	Arg	Ser	Gly	Trp
[1876]					195					200				205		
[1877]	Gly	Trp	Ala	Gly	Ser	Asp	Gly	Lys	Thr	Thr	Trp	Cys	Ser	Gln	Thr	Ser
[1878]					210					215				220		
[1879]	Tyr	Gln	Tyr	Leu	Ile	Ile	Gln	Asn	Arg	Thr	Trp	Glu	Asn	His	Cys	Arg
[1880]	225					230					235				240	
[1881]	Tyr	Ala	Gly	Pro	Phe	Gly	Met	Ser	Arg	Ile	Leu	Phe	Ala	Gln	Glu	Lys
[1882]					245					250				255		
[1883]	Thr	Lys	Phe	Leu	Thr	Arg	Arg	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Thr	Trp	Thr	Leu
[1884]					260					265				270		
[1885]	Ser	Asp	Ser	Ser	Gly	Val	Glu	Asn	Pro	Gly	Gly	Tyr	Cys	Leu	Thr	Lys
[1886]					275					280				285		
[1887]	Trp	Met	Ile	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Cys	Phe	Gly	Asn	Thr	Ala	Val
[1888]					290					295				300		

[1889]	Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg			
[1890]	305	310	315	320
[1891]	Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Gln Asp Val			
[1892]		325	330	335
[1893]	Glu Ser Ala Leu His Val Phe Lys Thr Thr Val Asn Ser Leu Ile Ser			
[1894]		340	345	350
[1895]	Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro			
[1896]		355	360	365
[1897]	Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly			
[1898]		370	375	380
[1899]	Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu			
[1900]	385	390	395	400
[1901]	Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met			
[1902]		405	410	415
[1903]	Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr			
[1904]		420	425	430
[1905]	Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu			
[1906]		435	440	445
[1907]	Ile Ser Ile Phe Leu His Leu Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile			
[1908]		450	455	460
[1909]	Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Asn Lys Gly Ile			
[1910]	465	470	475	480
[1911]	Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Lys Thr Ile Trp Lys			
[1912]		485	490	495
[1913]	Arg Arg			
[1914]	<210> 26			
[1915]	<211> 450			
[1916]	<212> DNA			
[1917]	<213> 人工序列			
[1918]	<220>			
[1919]	<223> HBV HBe抗原 (GenBank Accession No. E15688.1; GI: 5710371)			
[1920]	<400> 26			
[1921]	atggacattg acacgtataa agaatttgga gctactgtgg agttactctc gtttttgcct 60			
[1922]	tctgacttct ttccttcctg cagagatctc ctagacaccg cctcagctct gtatcgagaa 120			
[1923]	gccttagagt ctctgagca ttgctcacct caccatactg cactcaggca agccattctc 180			
[1924]	tgctgggggg aattgatgac tctagctacc tgggtgggta ataatttgga agatccagca 240			
[1925]	tccagggatc tagtagtcaa ttatgttaat actaacatgg gtttaaagat caggcaacta 300			
[1926]	ttgtggtttc atatatcttg ccttactttt ggaagagaga ctgtacttga atatttggtc 360			
[1927]	tctttcgag tgtggattcg cactcctcca gcctatagac caccaaagtc ccctatctta 420			
[1928]	tcaacacttc cggaaactac tggtgtttta 450			

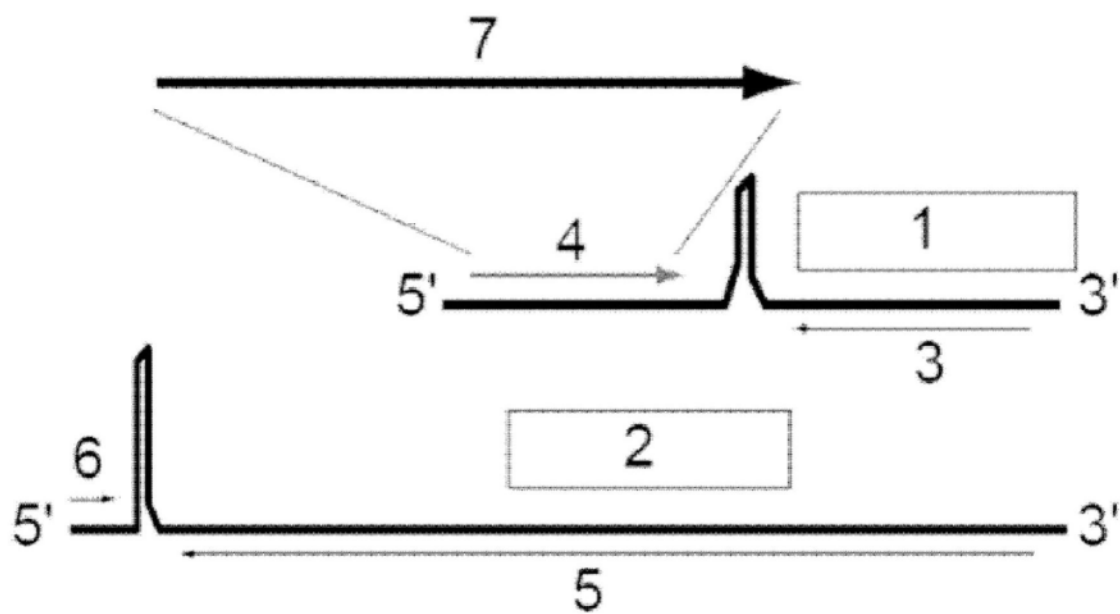


图1

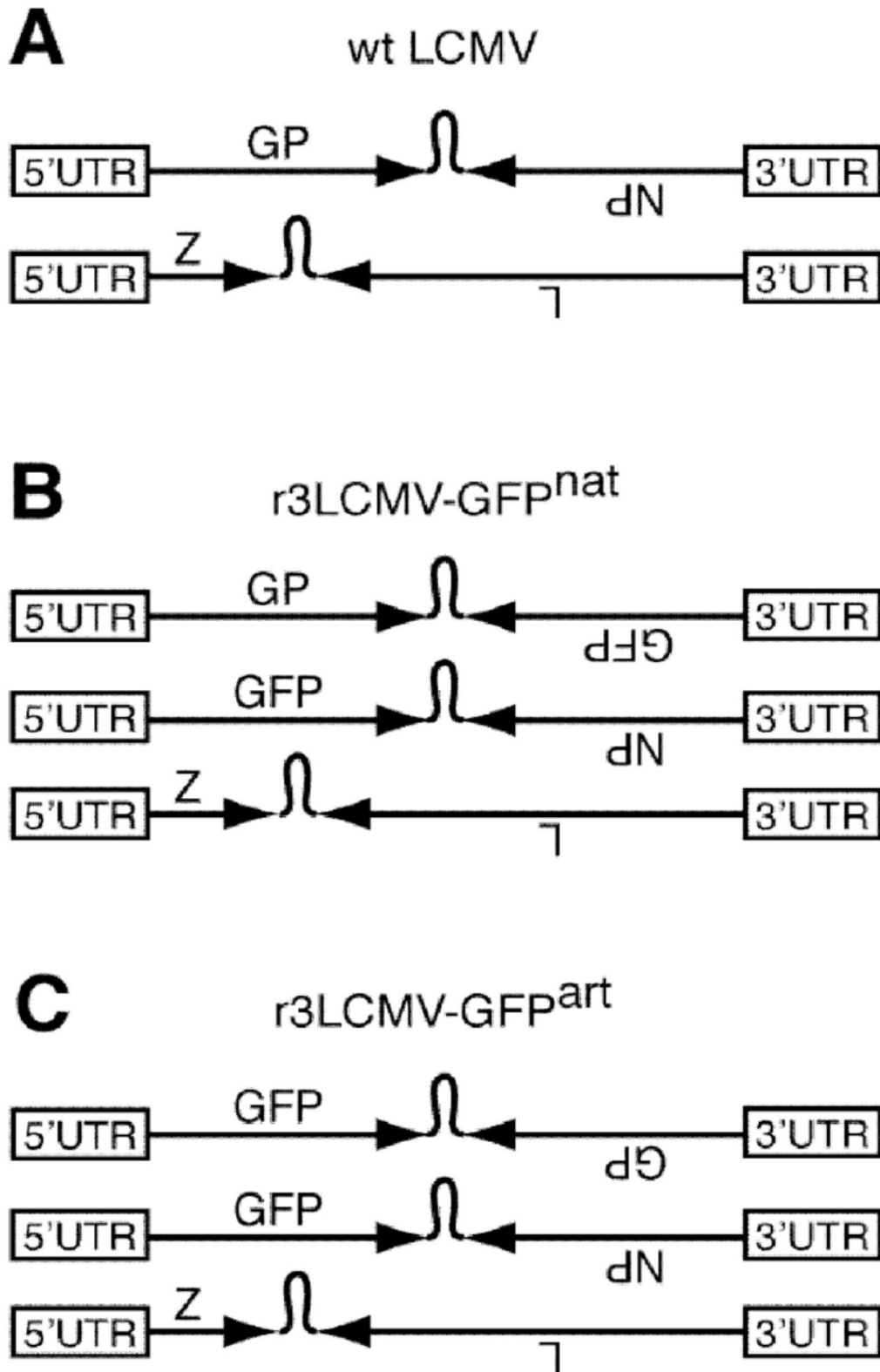


图2A-2C

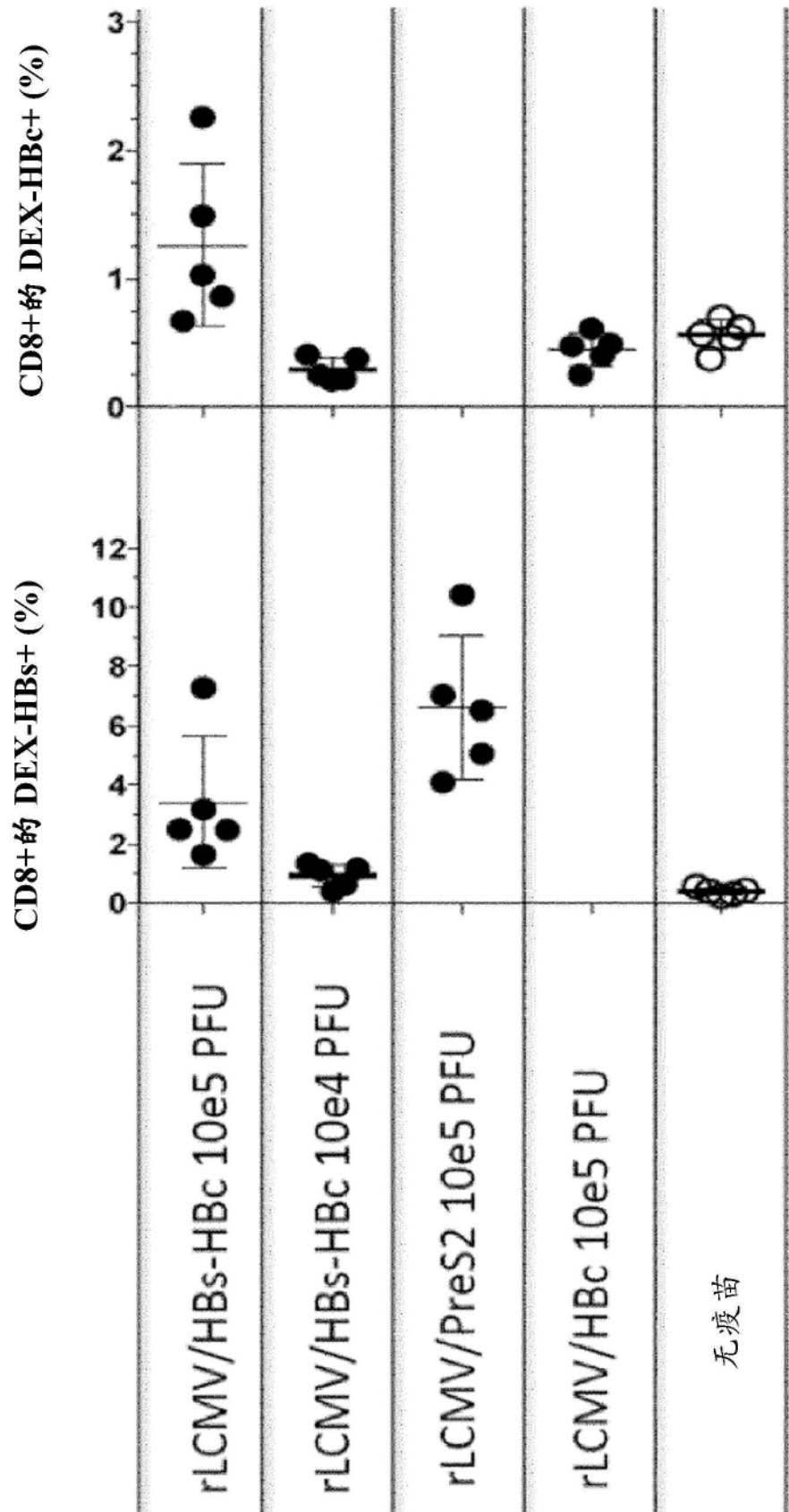


图3

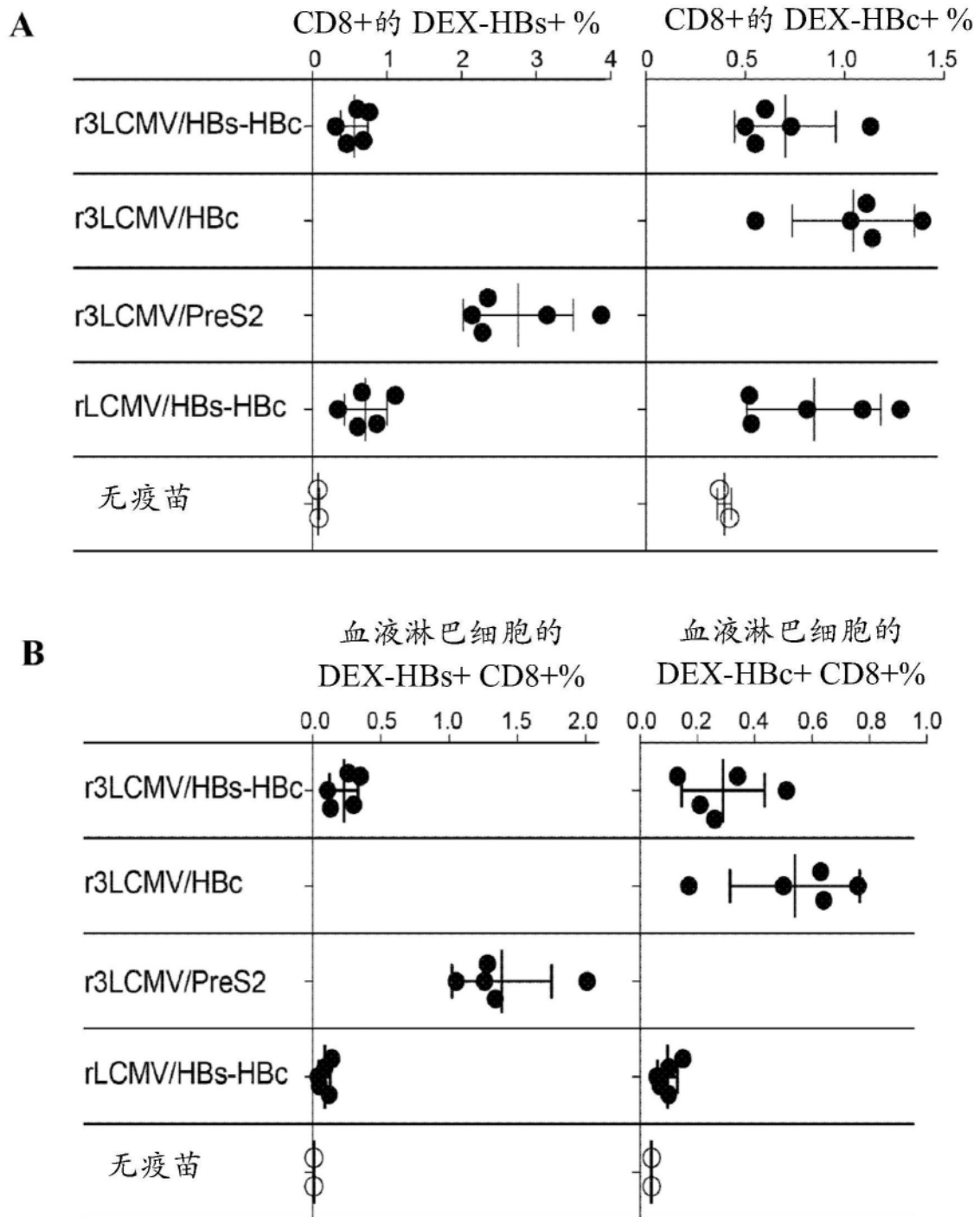


图4A-4B