



## (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

(51) Int.CI.

(22) 申请日 2016.11.03

C12N 15/86 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 39/29 (2006.01)

申请公布号 CN 108779472 A

C12N 15/36 (2006.01)

(43) 申请公布日 2018.11.09

C12N 15/62 (2006.01)

(30) 优先权数据

(56) 对比文件

62/250,639 2015.11.04 US

CN 101918565 A, 2010.12.15

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

WO 2006125983 A1, 2006.11.30

2018.07.03

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),

(86) PCT国际申请的申请数据

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),

PCT/EP2016/076591 2016.11.03

审查员 马晓霞

(87) PCT国际申请的公布数据

权利要求书4页 说明书107页

W02017/076988 EN 2017.05.11

序列表46页 附图4页

(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·鲍姆加特尔-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

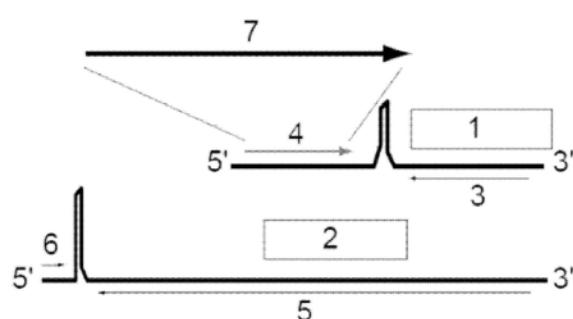
专利代理人 于萌萌

(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 N0:2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 N0:3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 N0:1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 N0:2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 N0:3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 N0:1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 N0:2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 N0:3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 N0:1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 病原体和疾病

[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;暴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 Diseases 20: 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(Couillin 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
--------	-----	------

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昔(“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昔(“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昔(“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昔(“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昔(“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昔(“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病毒株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昔(“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病毒株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昔(“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的所选抗原(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+ 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+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+ 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 N0:1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 N0:1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 N0:2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 N0:2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 N0:3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 N0:3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 N0:1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 N0:1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 N0:2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 N0:2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+ 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+和CD8+ 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、β-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之外的生物体的异源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<sup>4</sup>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	GP
	Z	*ORF	L	NP	*ORF	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。

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

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<sup>4</sup>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,本文描述的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,所述抗原是HBV HBs蛋白的至少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,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、β-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,所述抗原是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,所述抗原是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,所述抗原是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描述的标准的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) 的一个或更多个,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更多个质粒(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更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、polI和polII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、polI和polII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驱动的盒或T7噬菌体RNA聚合酶驱动的盒,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polII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 N0:15、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 N0:12或SEQ ID N0:7。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 N0:12或SEQ ID N0:7。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 N0:12或SEQ ID N0:7。

[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 N0:21、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 N0:21、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 N0:21、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 N0:21、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 N0:21、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、腹涨或黄疸。

[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+和CD8+T细胞反应(IFN- $\gamma$ 由CD4+和CD8+T细胞产生, TNF- $\alpha$ 由CD4+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 Immun.* 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,Czernikinsky C.C. et al., *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.W02007/109812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W02007/109813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°C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<sup>3</sup>到约10<sup>11</sup>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<sup>3</sup>到10<sup>10</sup>个病灶形成单位或10<sup>5</sup>到10<sup>15</sup>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+ 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+ 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+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+ 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和/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α2b(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。在另一个实施方式中,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+ 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+ 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+ 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+ 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二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二传染性沙粒病毒产生更大的CD8+ 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蛋白的异源的第二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蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒是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蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒是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蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒是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二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二传染性沙粒病毒是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蛋白的异源的第二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蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒是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蛋白的同源的第二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蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒引发更大的CD8+ 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蛋白的同源的第二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蛋白的异源的第二传染性沙粒病毒引发的CD8+ 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更大的CD8+ 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+ 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+ 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+ 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+ 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+ 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α2b(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°C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°C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°C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°C/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°C 30分钟,95°C 2分钟,随后95°C 15秒、56°C 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°C 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Invitrogen's 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, Czernik 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.Virology. 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., Hepat. 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。

SEQ ID NO:	描述	序列
1	HBV pre-S2/S ORF 的核苷酸序列	ATGCAGTGGAATTCCACAAACCTTCCACCAAA CTCTGCAAGATCCCAGAGTGAGAGGGCCTGTA TTTCCCTGCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACA GTCAACCCCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCT GTCATCAATCTTCTCCAGGATTGGGGACCC GCTCTGAACATGGAGAACATCACATCAGGAT TCCTGGGACCCCTTGTGTTGCAGGCAGG GTTTTCTTGTGACAAGAACATCCTCACAAATCC CTCAGAGTCTGGACTCTTGGTGGACTTCTCTC AATTTCTGGGGGGAACCAACAGTGTGTCTTG GCCAAAATTCTCAGTCCCCAACCTCCAATCA CTCACCAACCTCTTGTCCCTCAACTTGTCCCTG GTTACAGATGGATGTGTCTGAGGAGATTCA CATCTTCCCTTTCATCCTGCTGCTGTGCCTCA TCTTCTTGTGTTCTTCTGGACTATCAAGGA ATGTTGCCAGTTGTCCTCTGATTCCAGGATC CTCAACAAACCAGCACTGGACCATGCAGGACC TGCATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGT ATCCCTCCTGTTGCTGCACCAACCTTCAGAT GGAAATTGCACCTGCATCCCCATCCCCATCAT CCTGGGCTTTGAAAATTCTTGGAGTG GGCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTG CTGGTGCCATTGTTGAGTGGTTGTTGGGCT TTCCCCCACTGTTGGCTTCAGTGATTGGA TGATGTGGTATTGGGGCCAAGTCTGTACAG CATCTTGAGTCCCTTTGCTCTGTTGCCAA TTTCTTTGTCTTGGGTACATTAA
2	HBV HBc ORF 的核苷酸序列	ATGGACATTGACCCTTACAAAGAATTGGAG CAACTGTGGAGTTGCTCTCCTTTGCCTTCT GACTTCTTCCTTCAGTGAGAGATCTTCTTG CACTGCCTCAGCTGTACAGGGAAAGCCTTG GAGTCTCCTGAGCATTGTTCACCTCACCA CTGCACTCAGGCAAGCAATTCTTGCTGGGG GGAACATCATGACTCTGGCAACCTGGGTGGGT GTCAATTGGAAGATCCAGCCTCAAGAGACC

[0583]

		TTGTGGTCAGTTATGTCAACACAAACATGGG CCTGAAGTCAGGCAACTCTTGTGGTTCAC ATTCTTGTCTCACTTTGGAAGAGAAACAG TCATTGAGTATTGGTGTCTTGAGTGTGG ATCAGGACTCCTCCAGCTTACAGACCACAA ATGCCCAATCCTGTCAACACTCCAGAGAC CACTGTTGTCAGAAGAAGAGGCAGGTCCCC AGAAGAAGAACTCCCTACCAAGAAGAAGA AGGTCTCAATCTCCAGAAGGAGAAGATCTC AATCAAGGAATCTCAATGTTAG
3 [0584]	HBV HBs-HBc 融合蛋白 ORF 的核苷酸序列	ATGGGGCAGAATCTTCCACCAAGCAATCCTCT GGGATTCTTCCAGACCACCAAGTGGATCCA GCCTTCAGAGCAAACACTGCAAATCCAGATT GGGACTTCAATCCAACAAGGACACCTGGCC AGATGCCAACAAAGGTGGAGCTGGAGCATT GGGCTGGGTTTCACCCACCCATGGAGGCC TTTGGGGTGGAGGCCCTAGGCTCAGGGCAT TCTGCAAACCTTGCCAGCAAATCCACCTCCTG CCTCCACCAACAGGCAGTCAGGAAGGCAGC CCACCCCTCTGTCTCCACCTTGAGAAACACT CATCCTCAGGCCATGCAGTGGAAATTCCACAA CCTTCCACCAAACACTCTGCAAGATCCCAGAGT GAGAGGCCTGTATTCCTGCTGGTGGCTCCA GTTCAAGAACAGTCAACCCCTGTTCTGACCAC TGCCTCTCCCTTGTCAATCTTCTCCAGGA TTGGGGACCCCTGCTCTGAACATGGAGAACAT CACATCAGGATTCCCTGGGACCCCTTCTGTT TGCAGGCAGGGTTTTCTTGTGACAAGAAT CCTCACAATCCCTCAGAGTCTGGACTCTTGGT GGACTTCTCTCAATTCTGGGGGAACAC AGTGTGTCTGGCAAAATTCTCAGTCCCCA ACCTCCAATCACTCACCAACCTTGTCTCC AACTTGTCTGGTTACAGATGGATGTGTCTGA GGAGATTCATCATCTTCTCATCCTGCTGC TGTGCCTCATCTTCTTGTGTTGGTCTTCTGGACT ATCAAGGAATGTTGCCAGTTGTCTCTGATT CCAGGATCCTCAACAACCAGCACTGGACCAT GCAGGACCTGCATGACCACTGCTCAAGGAAC CTCAATGTATCCCTCCTGTTGCTGCACCAAAC CTTCAGATGGAAATTGCACCTGCATTCCCATC CCATCATCCTGGGCTTGGAAAATTCTTGT GGAGTGGGCCTCAGCCAGATTCTCCCTGGCTC AGTTTGTGGTGCCTTGTGTTGAGTGGTTGT TGGGCTTCCCCACTGTTGGCTTCAAGTGA TTGGATGATGTGGTATTGGGGCCAAGTCTG TACAGCATCTTGAGTCCCTTTTGCCTCTGTT GCCAATTCTTGTCTTGGGCTACATT GGACATTGACCCCTAACAAAGAATTGGAGCA ACTGTGGAGTTGCTCTCCCTTTGCCTCTGA CTTCTTCCCTCAGTGGAGAGATCTTCTGACA CTGCCTCAGCTGTACAGGGAAAGCCTTGGAA

		GTCTCCTGAGCATTGTTCACCTCACCAACACTG CACTCAGGCAAGCAATTCTTGCTGGGGGGA ACTCATGACTCTGGCAACCTGGGTGGGTGTC AATTGGAAGATCCAGCCTCAAGAGACCTG TGGTCAGTTATGTCAACACAAACATGGCCT GAAGTTCAGGCAACTCTGTGGTTCACATT CTTGTCTCACTTTGGAAGAGAAACAGTCATT GAGTATTGGTGTCTTTGGAGTGTGGATCAG GACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCC CCAATCCTGTCAACACTTCCAGAGACCACCTG TTGTCAGAAGAAGAGGCAGGTCCCCAGAA GAAGAACTCCCTCACCAAGAAGAAGAAGGT CTCAATCTCCCAGAAGGAGAAGATCTCAATC AAGGAAATCTCAATGTTAG	
[0585]	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)	GCGCACCGGGATCCTAGGCTTTGGATTG CGCTTCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGC CCTATCCTACAGAAGGATGGGGCAGAATCTT TCCACCAGCAATCCTCTGGGATTCTTCCAG ACCACCAAGTTGGATCCAGCCTCAGAGCAAA CACTGCAAATCCAGATTGGACTTCAATCCC AACAAAGGACACCTGGCCAGATGCCAACAAAG GTGGGAGCTGGAGCATTGGCTGGGTTCA CCCCACCCCATTGGAGGCCTTGGGGTGGAG CCCTCAGGCTCAGGGCATTCTGCAAACATTG CCAGCAAATCCACCTCCTGCCTCACCAACA GGCAGTCAGGAAGGCAGCCCACCCCTGTC TCCACCTTGAGAACACTCATCCTCAGGCC ATGCAGTGGATTCCACAAACCTTCCACAAA CTCTGCAAAGATCCCAGAGTGAGAGGCCCTGTA TTCCCTGCTGGTGGCTCCAGTTCAAGGAACA GTCAACCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCT GTCATCAAATCTCTCCAGGATTGGGGACCT GCTCTGAACATGGAGAACATCACATCAGGAT TCCTGGGACCCCTTCTGTGTTGCAGGCAGG GTTTTCTGTTGACAAGAACCTCACAATCC CTCAGAGTCTGGACTCTGGTGGACTTCTCTC AATTTCTGGGGGAACCAACAGTGTGTCTG GCCAAAATTCTCAGCCCCAACCTCCAATCA CTCACCAACCTCTGCTCCTCAACTGTCCTG GTTACAGATGGATGTGTCAGGAGATTAT CATCTCCTCTTCACTCTGCTGCTGTGCCTCA TCTTCTGTTGGTCTTCTGGACTATCAAGGA ATGTTGCCAGTTGTCCTGATTCCAGGATC CTCAACAAACCAGCACTGGACCATGCAGGACC TGCATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGT ATCCCTCCTGTTGCTGCACCAACCTTCAGAT GGAAATTGCACCTGCATTCCCATCCATCAT CCTGGGCTTTGGAAAATTCTTGGAGTG GGCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTG CTGGTGCCATTGTTCAAGTGGTTGTTGGCT TTCCCCCACTGTTGGCTTCAGTGATTGGAA

[0586]

		TGATGTGGTATTGGGGGCCAAGTCTGTACAG CATCTTGAGTCCTTTGCCTCTGTTGCCAA TTTCTTTGTCTTGGGCTACATTATGGAC ATTGACCCTAACAAAGAATTGGAGCAACTG TGGAGTTGCTCTCCTTTGCCTCTGACTTC TTCCCTCAGTGAGAGATCTCTTGACACTGC CTCAGCTCTGTACAGGGAAGCCTGGAGTCT CCTGAGCATTGTTCACCTCACCAACTGCAC TCAGGCAAGCAATTCTTGCTGGGGGGAACT CATGACTCTGGCAACCTGGGTGGGTGCAAT TTGGAAGATCCAGCCTCAAGAGACCTGTGG TCAGTTATGTCAACACAAACATGGCCTGAA GTTCAAGGCAACTCTTGTGGTTCACATTCTT GTCTCACTTTGGAAGAGAAACAGTCATTGA GTATTTGGTGTCTTGGAGTGTGGATCAGG ACTCCTCCAGCTTACAGACCACAAATGCC CAATCCTGTCAACACTCCAGAGACCACGT TGTCAAGAAGAGGGCAGGTCCCCCAGAAG AAGAACTCCCTACCAAGAAGAAGAAGGTC TCAATCTCCAGAAGGAGAAGATCTCAATCA AGGGAATCTCAATGTTAGAGAACAGCGCCTC CCTGACTCTCACCTCGAAAGAGGGTGGAGAG TCAGGGAGGCCAGAGGGTCTTAGAGTGTCA CAACATTGGCCTCTAAAAATTAGGTATG TGGCAGAATGTTGAAACAGTTTCAGATCT GGGAGCCTGCTTGGAGGCGCTTCAAAAA TGATGCAGTCCATGAGTGCACAGTGCAGGGT GATCTCTTCTTGTCCCTACTATTCC AGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTG TCCCACACTTATCTTCAACTCCCTCGAACG TCCCTGGTCATTCAACATCGATAAGCTTAA TGTCTTCCTATTGTGAGTCCAGAAGCTTT CTGATGTCATGGAGCCTGACAGCTTAGAA CCATCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGA CGAGGTCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAGG TCGGCAAGATCCATGCCGTGTGAGTACTTGG AATCTTGTGAATTGTTTGATCAACGGGT TCCCTGAAAAGTGTATGAACTGCCGTTCT GTGGTTGAAAATTGCTATTCCACTGGATC ATTAAATCTACCCCTCAATGTCAATCCATGTA GGAGCGTTGGGTCATTCCCTCCATGAGGT CTTTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAGCTTAA GCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGC GCTGGCCTGGGTGAGTTGACTGCAGGTTCT CGCTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTCCAT GCTCTCCCCACAATCGATGTTCTACAAGCTA TGTATGCCATCCTCACCTGAAAGGCAAAC TTTATAGAGGATGTTTCATAAGGGTTCTGT CCCCAACTGGTCTGAAACAAACATGTTGAG TTTCTCTGGCCCCGAGAAACTGCCTCAAGA GATCCTCGCTGTTGCTTGGCTTGATCAAAATT
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0587]		<p>GACTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGG      CTGCCCCCTGCCTCACGGCAGCACCAAGACT      AAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGAC      TGCTGTTCACTGATGACCCCCAGAACTGGGT      GCTTGTCTTCAGCCTTCAAGATCATTAGA      TTTGGATACTTGACTGTGAAAGCAAGCCAA      GGTCTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAG      CGGAGTCTGTGACTGTTGGCCATACAAGCC      ATAGTTAGACTTGGCATTGTGCCAAATTGAT      TGTTCAAAAGTGTGAGCTTTCACATCCCA      AACTCTTACCAACCAACTGACCCCTGCTGA      GGCTTCTCATCCAACTATCTGTAGGATCTG      AGATCTTGGTCTAGTTGCTGTGTTAAGT      TCCCCATATATACCCCTGAAGCCTGGGCCT      TTCAGACCTCATGATCTGGCCTTCAGCTCT      CAAGGTCAGCCGAAGAGACATCAGTTCTC      TGCAGTGAGCCTCCCCACTTCAAAACATTCT      TCTTGATGTTGACTTAAATCCACAAGAGA      ATGTACAGTCTGGTGAGACTCTGAGTCTCT      GTAGGTCTTGTCACTCTCTTCCCTCCTC      ATGATCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGA      AGTCCAACCCATTCAAGAAGGTTGGTGCATC      CTTAATGACAGCAGCCTCACATCTGATGTG      AAGCTCTGCAATTCTCTCAATGCTTGCCT      CCATTGGAAGCTCTTAACCTCCTAGACAAG      GACATCTTGGTGTCAATGGTTCTCAAGAC      AAATGCGCAATCAAATGCCTAGGATCCACTG      TGCG</p>
5	<p>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）</p>	<p>GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTGGATTGC      GCTTCCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCC      TATCCTACAGAAGGATGGACATTGACCCCTAC      AAAGAATTGGAGCAACTGTGGAGTTGCTCT      CCTTTGCCTCTGACTCTTCCCTCAGTG      AGAGATCTTCTTGACACTGCCTCAGCTCTGA      CAGGGAAGCCTGGAGTCTCCTGAGCATTGT      TCACCTCACCAACTGCACTCAGGCAAGCAA      TTCTTGCTGGGGGAACTCATGACTCTGGC      AACCTGGTGGGTGTCAATTGGAAGATCCA      GCCTCAAGAGACCTTGTGGTCAGTTATGTCA      ACACAAACATGGGCCTGAAGTTCAGGCAACT      CTTGTGGTTCACATTCTGTCTCACTTTGG      AAGAGAAACAGTCATTGAGTATTGGTGTCTT      TTGGAGTGTGGATCAGGACTCCTCCAGCTTA      CAGACCACCAAATGCCCAATCCTGTCAACA      CTTCCAGAGACCACTGTTGTCAAGAAGAAGAG      GCAGGGCCCCAGAAGAAGAACCTCCCTCACC      AAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCAGAAG      GAGAAGATCTCAATCAAGGGAATCTCAATGTT      AGAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCACCTC      GAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCAGA      GGGTCTAGAGTGTACAACATTGGGCCTCT</p>

[0588]

		<p>AAAAATTAGGT CATGTGGCAGAATGTTGTGA      ACAGTTTCAGATCTGGGAGCCTGCTTGGA      GGCGCTTCAAAAATGATGCAGTCATGAGT      GCACAGTGCAGGGT GATCTCTTCTTCTTT      GTCCCTTA CTTACTATTCCAGTATGCATCTTACACAA      CCAGCCATATTG TCCCACACTTATCTTCATA      CTCCCTCGAAGCTCCCTGGTCATTCAACAT      CGATAAGCTTAATGTCCTCCTATTGTGAGT      CCAGAAGCTTCTGATGTCATCGGAGCCTGGA      CAGCTTAGAACCATCCCCTGCGGAAGAGCAC      CTATAACTGACGAGGTCAACCCGGGTGCGC      ATTGAAGAGGT CGGCAAGATCCATGCCGTG      GAGTACTT GGAATCTTGCTGAATTGTTTG      ATCAACGGGTTCCCTG TAAAAGTGTATGAAC      GCCCGTCTGTGGTTGGAAAATTGCTATTCC      ACTGGATCATTAAATCTACCC CAATGTCAT      CCATGTAGGAGCGTTGGGTCAATTCTCCCA      TGAGGTCTTTAAAAGCATTGTCGGCTGTAG      CTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTC      CAGGC GCTGGCCTGGT GAGTTGACTGCAGG      TTTCTCGCTTGTGAGATCAATTGTTGTTTC      CCATGCTCTCCCCACAATCGATGTTCTACAAG      CTATGTATGCCATCCTCACCTGAAAGGCAA      ACTTTATAGAGGATGTTTCATAAGGGTTCT      GTCCCCAACTGGTCTGAAACAAACATGTTG      AGTTTCTCTGGCCCCGAGAAC TGCCCTCAA      GAGATCCTCGCTGTTGCTGGCTTGATCAAAA      TTGACTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGG      GCTGCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGAC      TAAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGAC      TGCTGTTCACTGATGACCCCCAGAACACTGGGT      GCTTGCTTTCAGCCTTCAAGATCATTAGA      TTTGGATACTTGACTGTGAAAGCAAGCCAA      GGTCTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAG      CGGAGTCTGTGACTGTTGGCCATACAAGCC      ATAGTTAGACTGGCATTGTGCCAAATTGATT      GTTCAAAAGT GATGAGTCTTCACATCCAA      ACTCTTACCA CACCACTTG CACCCCTGCTGAG      GCTTCTCATCCCAACTATCTGAGGATCTGA      GATCTTGGTCTAGTTGCTGTGTTAAGTT      CCCC ATATACCCCTGAAGCCTGGGCCTT      CAGACCTCATGATCTGGCCTTCAGCTCTCA      AGGT CAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTG      CACTGAGCCTCCCCACTTCAAAACATTCTC      TTTGATGTTGACTTAAATCCACAAGAGAATG      TACAGTCTGGT GAGACTTCTGAGTCTCTGTA      GGTCTTGTCACTCTCTTTCTCCTCATGA      TCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTC      CAACCCATT CAGAAGGTTGGTGCATCCTAA      TGACAGCAGCCTCACATCTGATGTAAGCT      CTGCAATTCTCTCAATGCTTGCCTCATT</p>
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

		GGAAGCTCTTAACCCCTAGACAAAGGACAT CTTGTGCTCAATGGTTCTCAAGACAAATGC 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)	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTGGATTG CGCTTCCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGC CCTATCCTACAGAAGGATGCAGTGGAAATTCC ACAACCTTCCACCAAACCTCTGCAAGATCCCA GAGTGAGAGGCCCTGTATTCCTGCTGGTGG CTCCAGTTCAAGAACAGTCACCCCTGTTCTG ACCACTGCCTCTCCCTGTCATCAATCTTCTC CAGGATTGGGGACCCCTGCTCTGAACATGGAG AACATCACATCAGGATTCTGGGACCCCTTC TTGTGTTGCAGGCAGGGTTTTCTGTTGACA AGAATCCTCACAAATCCCTCAGAGTCTGGACT CTTGGTGGACTTCTCTCAATTTCCTGGGGGA ACCACAGTGTGTCTGGCCAAAATTCTCAGT CCCCAACCTCCAATCACTCACCAACCTTGT CCTCCAACCTGTCTGGTTACAGATGGATGT GTCTGAGGAGATTCATCATCTTCCCTTCATC CTGCTGCTGTGCCTCATCTTCTTGTGGTCT TCTGGACTATCAAGGAATGTTGCCAGTTGT CCTCTGATTCCAGGATCCTCAACAAACCAGCA CTGGACCATGCAGGACCTGCATGACCAACTGC TCAAGGAACCTCAATGTATCCCTCCTGTGCT GCACCAAACCTCAGATGGAAATTGCACCTG CATTCCCATCCATCATCCTGGGCTTTGGAA AATTCCCTTGGAGTGGGCTCAGCCAGATT CTCCTGGCTCAGTTGCTGGTGCCTTGTTC AGTGGTTGTTGGCTTCCCCACTGTTGG CTTCAGTGATTGGATGATGTGGTATTGGG GCCAAGTCTGTACAGCATCTTGAGTCCCTT TTGCCTCTGTTGCCAATTTCCTTGTCTTGT GGTCTACATTAAAGAACAGCGCCTCCCTGA CTCTCCACCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGG GAGGCCAGAGGGCTTAGAGTGTACAAACA TTGGGCTCTAAAAATTAGGTATGTGGCA GAATGTTGTGAACAGTTTCAGATCTGGGAG CCTTGCTTGGAGGCGCTTCAAAAATGATG CAGTCCATGAGTGCACAGTGCAGGGTGTCT CTTCTTCTTGTCCCTACTATTCCAGTAT GCATCTTACACAACCAGCCATATTGTCCCA CACTTATCTCATACTCCCTCGAAGCTTCCC TGGTCATTCAACATCGATAAGCTTAATGTC CTTCCTATTGTGAGTCCAGAAGCTTGTGA TGTATCGGAGCCTGACAGCTTAGAACCAT CCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAG GTCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAGGTGG CAAGATCCATGCCGTGTGAGTACTTGGAAATC TTGCTTGAATTGTTTGATCAACGGGTTCCC TGTAAAAGTGTATGAACCTGCCGTTGTGG TTGGAAAATTGCTATTCCACTGGATCATTA

[0590]		AATCTACCCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAG CGTTGGGGTCAATTCTCCCATGAGGTCTTT AAAAGCATTGTCGGCTGTAGCTTAAGCCA CCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCGCTGG CCTGGGTGAGTTGACTGCAGGTTCTCGCTT GTGAGATCAATTGTTGTGTTTCCATGCTCT CCCCACAATCGATGTTCTACAAGCTATGTAT GGCCATCCTCACCTGAAAGGCAAACCTTAT AGAGGATGTTTCATAAGGGTCTGCCCC AACTTGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTT CTCTTGGCCCCGAGAACACTGCCTCAAGAGAT CCTCGCTGTTGCTTGGCTTGATCAAAATTGAC TCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGGCTG CCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACTAAA GTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGACTGC TGTTCAGTGATGACCCCCAGAACACTGGGTGCT TGTCTTCAGCCTTCAAGATCATTAAGATT GGATACTTGACTGTGAAAGCAAGCCAAGGT CTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGG AGTCTGTGACTGTTGGCCATACAAGCCATA GTTAGACTTGGCATTGTCACATCCAAACT CTTACACACCAACTTGCACCCCTGCTGAGGCT TTCTCATCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGAT CTTTGGCTAGTTGCTGTGTTGTTAAGTTCCC CATATATACCCCTGAAGCCTGGGGCCTTCA GACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCTCAAG GTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTGCA CTGAGCCTCCCCACTTCAAAACATTCTTCTT TGATGTTGACTTTAAATCCACAAGAGAAATGT ACAGTCTGGTTGAGACTCTGAGTCTCTGTA GGTCTTGTCATCTCTCTTCCCTCATG ATCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAAGT CCAACCCATTCAAGAGGTTGGTGCATCCTT AATGACAGCAGCCTTCACATCTGATGTGAAG CTCTGCAATTCTCTTCAATGCTGCGTCCA TTGGAAGCTCTTAACCTCCTAGACAAAGGAC ATCTTGGTGTCAATGGTTCTCAAGACAAAT 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	GCGCACCGGGGATCCTAGGCGTTAGTTGCG CTGTTGGTTGCACAACATTCTTCGTGAGGCT GTCAGAAAGTGGACCTGGCTGATAGCGATGGG TCAAGGCAAGTCCAGAGAGGGAGAAAGGCAC CAATAGTACAAACAGGGCCGAAATCCTACCA GATACCACCTATCTTGGCCCTTAAGCTGCA AATCTTGTGGCAGAAATTGACAGCTTGGT AAGATGCCATGACCACTACCTTGCAGGCAC TGTGTCCTCTTGTAAATATCCATTACCAACCA GATTGAAGATATCAACAGCCCCAAGCTCTCC ACCTCCCTACGAAGAGTAACACCGTCCGGCC

[0591]

	<p>” ) 替换为尿嘧啶 ( “U” ) 提供了 RNA 序列)</p>	<p>CCGGCCCCGACAAACAGCCCAGCACAAGGG      AACCGCACGTCaCCCAACCGCACACAGACACA      GCACCCAACACAGAACACAGCACACACAC      ACACACACACCCACACGCACGCCACACAC      ACCGGGGGGCGCCCCCCCCCGGGGGGGCGC      CCCCCGGGAGCCCGGGCGGAGCCCCACGGA      GATGCCCATCAGTCGATGTCCTCGGCCACCG      ACCCGCCcAGCCAATCGTCGCAGGACCTCCC      CTTGAGTCTAAACCTGCCCTTCACTgTTTCAT      ACATCAAAGTGCCTCTAGATTGCTAAAACA      AAGTCTGCAATCCTAAAGGCGAACCGAGTCT      GGCAAAAGCGACAGTGGAAATCAGCAGAATA      GATCTGCTATACATAGTTCTGGAGGAGTAA      CACTTATCTCTGAACCCAACAAATGTTACC      AGTTCTGAATCGATGCAGGAAGAGGTTCCA      AGGACATCACTAATCTTCATAGCCCTCAA      GTCCTGCTAGAAAGACTTCATGTCCTGGTC      TCCAGCTTCACAATGATATTGGACAAGGT      TTCTCCTCAAAAAGGGCACCCATCTTACA      GTCAGTGGCACAGGCTCCACTCAGGTCCAA      CTCTCTCAAAGTCATAGATCTAATCCCATC      CAGTATTCTTGAGCCAAACAACACTCAAGC      TCAAGAGAAATACCAAGTATCAAGGGATCTT      CCATGTAATCCTCAAACCTTCAGATCTGAT      ATCAAAGACACCATCGTTACCTTGAAGACA      GAGTCTGTCCTCAGTAAGTGGAGGCATTCA      CCAACATTCTTCTATCTATCTCACCCCTAAAG      AGGTGAGAGCATGATAAAAGTTCAGCCACA      CCTGGATTCTGTAATTGGCACCTAACCAAGA      ATATCAATGAAAATTCTCTAAACAGTCAGT      ATTATTCTGATTGTGCGTAAAGTCCACTGAA      ATTGAAAACCTCCAATACCCCTTTGTGAGTT      GAGCATGTAAGTCCCACAGATCCTTAAGGAT      TTAAATGCCTTGGGTTGTCAGGCCCTGCCT      AATCAACATGGCAGCATTACACACAAACATCT      CCCATTGGTAAGAGAACCAACCCAAACAA      ACTGCAAATCATTCTAAACATAGGCCTCTC      CACATTGTTGTCACCACCTTGAGACAAATG      ATTGAAAAGGGGCCAGTGCCTCAGCACCAC      TTCAGATGGCATCATTCTTATGAGGGAAC      CATGAAAATTGCTTAATGTCCTGGTTGTG      CAACAAATTCTCGAACAAATGATTCAAATA      CACCTGTTAAGAAGTCTTGAGACATCC      CTCGTGCTAACAAACAAATTCAACCAAGAC      TGGAGTCAGATCGCTGATGAGAATTGGCAAG      GTCAGAAAACAGAACAGTGTAAATGTTCATCC      CTTTCCACTTAACAAACATGAGAAATGAGTG      ACAAGGATTCTGAGTTAATATCAATTAAAC      ACAGAGGTCAAGGAATTAAATTCTGGGACTC      CACCTCATGTTTGTGAGCTCATGTCAGACAT      AAATGGAAGAAGCTGATCCTCAAAGATCTG</p>
--	---------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0592]

		GGATATAGCCGCCTCACAGATTGAATCACTT GGTCAATTCACTTTGCTCCAGTAGCCTT GAGCTCTCAGGCTTCTGCTACATAATCAC ATGGGTTAAGTGTAAAGAGTTAGGTTCTC ACTGTTATTCTCCCTTGGTCGGTTCTGCTA GGACCCAAACACCCAACTCAAAAGAGTTGCT CAATGAAATACAAATGTAGTCCCAAAGAAG AGGCCTAAAAGGCATATATGATCACGGTGG GCTTCTGGATGAGACTGTTGTACAAATGT ACAGCGTTATACCATCCGATTGCAAACACTCT TGTACATGATCATCTGTGGTTAGATCCTCA AGCAGCTTTGATATACAGATTTCCCTATT TTTGTCTCACACACCTGCTCCTAGAGTTT TGCAAAGGCCTATAAAGCCAGATGAGATAC AACTCTGGAAAGCTGACTTGTGATTGCTCT GACAGCAGCTCTGTGCACCCCTGTGAATT TACTACAAAGTTGTTCTGGAGTGTCTGATC AATGATGGATTCTTCCTCTTGGAAAGTCA TCACTGATGGATAAACCAACCTTGTCTTAA AACCATCCTTAATGGGAACATTCATTCAA TTCAACCAGTTAACATCTGCTAACTGATTCA GATCTTCTCAAGACCGAGGAGGTCTCCAA TTGAAGAATGGCCTCCtTTTATCTGTAA ATAGGTCTAAGAAAAATTCTTCATTAAATTC ACCATTGGAGCTTATGATGCAGTTCTTA CAAGCTTCTTACAACCTTGTTCATTAGGA CACAGTTCTCAATGAGTCTTGTATTCTGTA ACCTCTAGAACCATCCAGCCAATCTTCACA TCAGTGTGGTATTCACTAGAAATGGATCCA AAGGGAAATTGGCATACTTAGGAGGTCCAG TGTCTCTTGGATACTATTAACTAGGGAG ACTGGGACGCCATTGCGATGGCTTGATCTG CAATTGTATCTATTGTTACAAAGTTGATGT GGCTCTTACACTGACATTGTGTAGCGCTGC AGATACAAACTTGTGAGAAGAGGGACTCC TCCCCCCTACATAGAATCTAGATTTAAATT CTGCAGCGAACCTCCCAGCCACACTTTGG GCTGATAAATTGTTAACAAAGCCGCTCAGA TGAGATTGAAATTCCAACAGGACAAGGACTT CCTCCGGATCACTTACAACCCAGGTCACTCAG CCTCCTATCAAATAAGTGTCTGATCATCA CTTGATGTGTAAGCCTCTGGTCTTCGCCAAA GATAACACCAATGCAGTAGTTGATGAACCTC TCGCTAAGCAAACCATAGAAGTCAGAACAT TATGCAAGATTCCCTGCCCATATCAATAAG GCTGGATATATGGGATGGCACTATCCCCATT TCAAAATATTGTCTGAAAATTCTCTCAGTAA CAGTTGTTCTGAACCCCTGAGAAGTTTAG CTTCGACTTGACATATGATTCATCATTGCAT TCACAAACAGGAAAGGGACCTCGACAAGCT TATGCATGTGCCAAGTTAACAAAGTGCTAAC
--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0593]

		<p>ATGATCTTCCCGAACGCACATACTGGTCA    TCACCTAGTTGAGATTTGTAGAAACATTA    AGAACAAAAATGGGCACATCATTGGTCCCCA    TTTGCTGTGATCCATACTATAGTTAAGAAC    CTTCCCGCACATTGATAGTCATTGACAAGAT    TGCATTTCAAATTCTTATCATTGTTAAC    AGGAGCCTGAAAAGAAACTTGAAAAAGACT    CAAAATAATCTCTATTAAACCTGTGAACATT    TTTGTCCTCAAATCTCCAATATAGAGTTCTCT    ATTTCCCCAACCTGCTCTTATAAGATAGTG    CAAATTTCAGCCTCCAGAGTCAGGACCTAC    TGAGGTGTATGATGTTGGTGATTCTCTGAGT    AGAACGACAGATTTCAAAGCAGCACTCAT    ACATTgTGTCAACGACAGAGCTTACTAAGG    GACTCAGAATTACTTCCCTCTCACTGATTCT    CACGTCTTCCAGTTGCTCCAGTCAAATT    TGAAATTCAAGCCTTGCCTTGATATGCCTG    TATTCCCTGAGTACGCATTGCATTGATTG    CAACAGAATCATCTTATGCAAGAAAACCAA    TCATTCTCAGAAAAGAACTTCTACAAAGGT    TTTTGCCATCTCATCGAGGCCACACTGATCT    TTAATGACTGAGGTGAAATACAAAGGTGACA    GCTCTGTGGAACCCCTCAACAGCCTCACAGAT    AAATTTCATGTCATCATTGGTAGACATGAT    GGGTCAAAGTCTCTACTAAATGGAAAGATA    TTTCTGACAAGATAACTTTCTTAAGTGAGCC    ATCTTCCTGTTAGAATAAGCTGTAATGAT    GTAGTCCTTGTATTGTAAGTTTCTCCA    TCTCCTTGTCTTGCATTGGCCCTCCTACCTCT    GTACCGTGCTATTGTTGACCTTTCT    CGAGACTTTGAAGAAGCTTGTCTCTCT    CCATCAAAACATATTCTGCCAGGTTGTCTC    CGATCTCCCTGTCCTCTCCCTTGGAACCGA    TGACCAATCTAGAGACTAACTGGAAACTTT    ATATTCTAGTCTGAGTGGCTCAACTTAACT    TTTGTTTCTTACGAAACTCTCCGTAATTGA    CTCACAGCACTAACAGCAATTGTTAAAGT    CATATTCCAGAAGTCGTTCTCCATTAGATGC    TTATTAACCACCAACTTTGTTACTAGCAAG    ATCTAATGCTGTCGCACATCCAGAGTTAGTC    ATGGGATCTAGGCTGTTAGCTTCTCTCC    TTTGAAAATTAAAGTGCCGTTGTTAAATGAA    GACACCATTAGGCTAAAGGCTTCCAGATTAA    CACCTGGAGTTGTATGCTGACAGTCATTCTC    TTTACTAGTGAATCTCTCATTTGCTCATAGA    ACACACATTCTCCTCAGGAGTGATTGCTTCC    TTGGGGTTGACAAAAAAACCAAATTGACTTT    TGGGCTCAAAGAACCTTCTAAAACATTAT    CTGATCTGTTAGCCTGTCAGGGGTCTCCTTG    TGATCAAATGACACAGGTATGACACATTCAA    CATAAATTAAATTGCACTCAACAAACACC</p>
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0594]

TTCTCACCAAGTACCAAAAATAGTTTTATTAG  
GAATCTAACAGCAGCTTACACCAACCTCTCA  
GCAGGGTGTGATCAGATCCTCCCTCAACTTAT  
CCATTAATGATGTAGATGAAAAATCTGACAC  
TATTGCCATCACCAAAATATCTGACACTCTGT  
ACCTGCTTGATTTCTCTTGTGGTTGGT  
GAGCATTAGCAACAATAGGGCCTCAGTGCA  
ACCTCAATGTCGGTGAGACAGTCTTCAAAT  
CAGGACATGATCTAACATGAAATCATGAT  
GTCTATCATATTGTATAAGACCTCATCTGAA  
AAAATTGGTAAAAAGAACCTTTAGGATCTG  
CATAGAAGGAAATTAAATGACCATCCGGGCC  
TTGTATGGAGTAGCACCTTGAAGATTCTCCA  
GTCTTCTGGTATAATAGGTGGTATTCTCAGA  
GTCCAGTTTATTACTTGGCAAAACACTTCTT  
TGCATTCTACCAACTGATATCTCACAGACCC  
ATTGATTTGCCTAGTCTAGCAACTGAGCT  
AGTTTCATACTGTTGTTAAGGCCAGACAA  
ACAGATGATAATCTTCTCAGGCTCTGTATGTT  
CTTCAGCTGCTCTGTGCTGGGTTGGAAATTGT  
AATCTCAAACCTCGTATAATACATTATCGG  
GTGAGCTCAAATTTCTAAAGTCTCAAATT  
CACTGAATGGTATGTGGCATTCTGCTCAAG  
GTGTTCAGACAGTCCGTAATGCTCGAAACTC  
AGTCCCACCAACTAACAGGCATTGAAATT  
TGCAATGAACACTAAATAGA<sup>t</sup>GCCCTAAAC  
AATTCTCAAAGACACCTTCTAAACACCT  
TTGACTTTCTATTCTCAAAGTCTAATG  
AACTCCTCTTAGTGTGAAAGCTTACCA  
GCCTATCATTCAACTACTATAGCAACAAACC  
CACCCAGTGTATCATTAAACCCCTTGA  
ATTCGACTGTTTATCAATGAGGAAAGACA  
CAAAACATCCAGATTAACAACGTCTCCTT  
CTAGTATTCAACAGTTCAAACCTCTGACTTT  
GTTAACATAGAGAGGAGCCTCTCATATTCA  
GTGCTAGTCTCACTCCCTTCTGTGCCATG  
GGTCTCTGCAGTTATGAATCTCATCAAAGGA  
CAGGATTCGACTGCCTCCCTGCTTAATGTTA  
AGATACTCATCACTATCAGCAAGGTTTATA  
GAGCTCAGAGAATTCTTGATCAAGCCTC  
GGGTTACTTCTGAAAGTTCTCTTAATT  
CCCACTTCTAAATCTCTCTAAACCTGCTGA  
AAAGAGAGTTATTCCAAAAACCATCATC  
ACAGCTCATGTTGGGTTGATGCCTCGTGG  
CACATCCTCATAATTCTCATATTGTGAGTTGA  
CCTCGCATCTTCAGAATTCTCATAGAGTCCA  
TACCGGAGCGCTGTCGATAGTAGTCTTCAG  
GGACTCACAGAGTCTAAATATTCAAGACTCT  
TCAAAGACTTCTCATTGGTTAGAATAACTC  
CAAAAGTTGAATAAAAGGTCTCTAAATTG  
AAGTTGCCACTCTGGCATAAAACTATTAT

[0595]

		CATAATCACAAACGACCATCTACTATTGGAAC TAATGTGACACCCGCAACAGCAAGGTCTTCC CTGATGCATGCCAATTGTTAGTGTCTCTAT AAATTCTCTCAAAACTGGCTGGaGtGCTCC TAACAAAACACTCAAGAAGAATGAGAGAAT TGTCTATCAGCTTGTAAACCATCAGGAATGAT AAGTGGTAGTCCTGGGCATACAATTCCAGAC TCCACCAAAATTGTTCCACAGACTTATCGTC GTGGTTGTGTGCAGCCACTCTTGTCTGCAC TGTCTATTCAATGCAGCGTGACAGCAACTT GAGTCCCTCAATCAGAACCAATTCTGGGTTCC CTTGTCAGAAAGTTGAGTTCTGCCTTGA CAACCTCTCATCCTGTCTATATAGTTAAC ATAACTCTCTCAATTCTGAGATGATTTCATCC 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	IPQSLDSWWTLS
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昔 ( "T" ) 替换为尿嘧啶 ( "U" ) 提供了 RNA 序列)	CGCACCGGGATCCTAGGCTTTGGATTGC GCTTCCTC TAGATCAAATGGGTGTCAGGCCCTATCCTAC AGAAGGATG GGTCAGATTGTGACAATGTTGAGGCTCTGC CTCACATCA TCGATGAGGTGATCAACATTGTCATTATTGT GCTTATCGT GATCACGGGTATCAAGGCTGTACAATT GCCACCTGT GGGATATTGCGATTGATCAGTTCCACTTCT GGCTGGCA GGTCCTGTGGCATGTACGGCTTAAGGGACC CGACATT CAAAGGAGTTACCAATTAAAGTCAGTGGAG TTTGATATG TCACATCTGAACCTGACCATGCCAACGCAT GTTCAAGCCA ACAACCTCCCACCATTACATCAGTATGGGGAC TTCTGGACT AGAATTGACCTTCACCAATGATTCCATCATC AGTCACAAAC TTTGCAATCTGACCTCTGCCTTCAACAAA AGACCTTG ACCACACACTCATGAGTATAGTTCGAGCCT

[0596]

		ACACCTCAG TATCAGAGGGAACCTCCAACATAAGGCAGTA TCCTGCGAC TTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAAC TGACATTCT CAGATCGACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTAG AACCTTCAG AGGTAGAGTCCTAGATATGTTAGAACTGCC TTCGGGGGG AAATACATGAGGGAGTGGCTGGGCTGGACA GGCTCAGATG GCAAGACCACCTGGTGTAGCCAGACGAGTTA CCAATACCT GATTATACAAAATAGAACCTGGGAAAACCA CTGCACATAT GCAGGTCCTTTGGGATGTCCAGGATTCTCCT TTCCCAAG AGAAGACTAAGTCTTCACTAGGAGACTAGC GGGCACATT CACCTGGACTTGTCAGACTCTCAGGGGTG GAGAATCCA GGTGGTTATTGCCTGACCAAATGGATGATT TTGCTGCAG AGCTTAAGTGTTCGGAACACACAGCAGTTGC GAAATGCAA TGTAAATCATGATGCCGAATTCTGTGACATG CTGCGACTA ATTGACTACAACAAGGCTGCTTGAGTAAGT TCAAAGAGG ACGTAGAATCTGCCTGCACTTATTCAAAC AACAGTGAA TTCTTGATTCAGATCAACTACTGATGAGG AACCACTTG AGAGATCTGATGGGGTGCCATTGCAATT ACTCAAAGT TTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGCGA AACTAGTGT CCCCAAGTGCTGGCTGTCACCAATGGTCTT ACTTAAAT GAGACCCACTTCAGTGATCAAATCGAACAGG AAGCCGATA ACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATTA CATAAAGAG GCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGAC CTTCTGATG TTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCTT CCTGCACC TTGTCAAATACCAACACACAGGCACATAAA AGGTGGCTC ATGTCAAAGCCACACCGATTAACCAACAAA GGAATTGT
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0597]

		AGTTGTGGTGCATTAAGGTGCCTGGTGTAA AAACCGTCT GGAAAAGACGCTGAAGAACAGCGCCTCCCT GACTCTCCAC CTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCC AGAGGGTCTT AGAGTGTACAACATTGGCCTCTAAAAAT TAGGTCA TGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTCAGATCT GGGAGCCTT GCTTGGAGGCCTTCAAAAATGATGCAGT CCATGAGT CACAGTGCAGGGTGATCTCTTCTTCTT TCCCTTAC TATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCA TATTGTCC CACACTTGTCTTCATACTCCCTCGAAGCTC CCTGGTCA TTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTCCTA TTCTGTGA GTCCAGAAGCTTCTGATGTCATCGGAGCCT TGACAGCTT AGAACCATCCCCCTCGGAAGAGCACCTATAA CTGACGAGG TCAACCCGGTTGCGCATTAAGAGGTGGC AAGATCCAT GCCGTGTGAGTACTTGAATCTTGCCTGAAT TGTTTTGA TCAACGGGTTCCCTGTAAAAGTGTATGA GCCCGTTCT GTGGTTGGAAAATTGCTATTCCACTGGATC ATTAATCT ACCCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTT GGGTCAATT CCTCCCATGAGGTCTTAAAAGCATTGCTG GCTGTAGC TTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCC AGGCCTGG CCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTCTCGCTT GTGAGATCA ATTGTTGTGTTTCCATGCTCTCCCCACAAT CGATGTT TACAAGCTATGTATGCCATCCTCACCTGA AAGGCAAAC TTTATAGAGGATGTTCTATAAGGGTTCTGT CCCCAACT TGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTCTCTT GGCCCCGA GAACTGCCTCAAGAGGTCCCTCGCTGTTGCT TGGCTTGAT CAAAATTGACTCTAACATGTTACCCCCATCC
--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0598]		AACAGGGCT GCCCTGCCTCACGGCAGCACCAAGACTAA AGTTATAGC CAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTCA GATGACCC CAGAACTGGGTGCTTGTCTTCAGCCTTCAA GATCATTA AGATTGGATACTGACTGTGTAAAGCAAGC CAAGGTCTG TGAGCGCTTGTACAACGTCAATTGAGCGGAGT CTGTGACTG TTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTGGC ATTGTGCCA AATTGATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTC CATCCCAAA CTCTTACCAACACCACCTGCACCCCTGCTGAGG CTTCTCAT CCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTGG TCTAGTTGC TGTGTTGTTAAGTTCCCCATATATACCCCTGA AGCCTGGG GCCTTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGC TTCTCAAG GTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTGCA CTGAGCCTC CCCACTTCAAAACATTCTTCTTGATGTTGA CTTTAAAT CCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACT TCTGAGTCT CTGTAGGTCTTGTCACTCTCTTTCTTC CATGATC CTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCA ACCCATTCA GAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGC CTTCACATC TGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTCAATG CTTGCCTC CATTGGAAGCTCTTAACCTCCTTAGACAAGG ACATCTTGT TGCTCAATGGTTCTCAAGACAAATGCGCAA 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	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTGGATTG CGCTTCT CTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTA CAGAAGGAT GGGTCAAGATTGTGACAATGTTGAGGCTCTG CCTCACATC ATCGATGAGGTGATCAACATTGTCATTATTG TGCTTATCG TGATCACGGGTATCAAGGCTGTCTACAATT

[0599]	<p>SEQ ID NO: 12 中的全部胸腺嘧啶核昔（“T”）替换为尿嘧啶（“U”）提供了 RNA 序列）</p> <p>TGCCACCTG  TGGGATATCGCATTGATCAGTTCTACTTC  TGGCTGGC  AGGTCTGTGGCATGTACGGTCTTAAGGGAC  CCGACATT  ACAAAGGAGTTACCAATTAAAGTCAGTGGA  GTTTGATAT  GTCACATCTGAACCTGACCATGCCAACGCA  TGTTCAGCC  AACAACTCCCACCATTACATCAGTATGGGGA  CTTCTGGAC  TAGAATTGACCTTCACCAATGATTCCATCAT  CAGTCACAA  CTTTGCAATCTGACCTCTGCCTCAACAAAA  AGACCTT  GACCACACACTCATGAGTATAGTTCGAGCC  TACACCTCA  GTATCAGAGGGAACTCCAACATAAGGCAGT  ATCCTGCGA  CTTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAAC  TTGACATT  TCAGATGCACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGT  GAACCTTC  GAGGTAGAGTCCTAGATATGTTAGAACTGC  CTTCGGGG  GAAATACATGAGGAGTGGCTGGGCTGGAC  AGGCTCAGAT  GGCAAGACCACCTGGTAGCCAGACGAGTT  ACCAATACC  TGATTATACAAAATAGAACCTGGAAAACCA  CTGCACATA  TGCAGGTCTTTGGATGTCCAGGATTCTCC  TTTCCCAA  GAGAAGACTAAGTCCTCACTAGGAGACTAG  CGGGCACAT  TCACCTGGACTTGTCAACTCTTCAGGGGT  GGAGAATCC  AGGTGGTTATTGCCTGACCAATGGATGATT  CTTGCTGCA  GAGCTTAAGTGTTCGGAACACACAGCAGTTG  CGAAATGCA  ATGTAAATCATGATGAAGAATTCTGTGACAT  GCTGCGACT  AATTGACTACAACAAGGCTGCTTGAGTAAG  TTCAAAGAG  GACGTAGAATCTGCCTGCACCTATTCAAAA  CAACAGTGA  ATTCTTGATTCAGATCAACTACTGATGAG  GAACCACTT  GAGAGATCTGATGGGGGTGCCATATTGCAAT  TACTCAAAG</p>
--------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0600]

	TTTGTTACCTAGAACATGCAAAGACCGCG AAACTAGTG TCCCCAAGTGCCTGTCACCAATGGTTCT TACTTAAA TGAGACCCACTTCAGTGACCAAATCGAACAG GAAGCCGAT AACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATT ACATAAAGA GGCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGA CCTTCTGAT GTTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCT TCCTGCAC CTTGTCAAAATACCAACACACAGGCACATAA AAGGTGGCT CATGTCAAAGCCACACCGATTAACCAACAA AGGAATTG TAGTTGTGGTGCATTAAGGTGCCTGGTGTAA AAAACCGTC TGGAAAAGACGCTGAAGAACAGCGCCTCCCT GACTCTCCA CCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCC CAGAGGGTCT TAGAGTGTACAACATTGGGCCTCTAAAAAA TTAGGTCTAT GTGGCAGAACATGTTGTGAACAGTTTCAGATC TGGGAGCCT TGCTTTGGAGGCCTTCAAAAATGATGCAG TCCATGAGT GCACAGTGCAGGGTGATCTCTTCTTCTTTT GTCCCTTA CTATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCC ATATTGTC CCACACTTGTCTCATACTCCCTCGAAGCTT CCCTGGTC ATTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTTCCT ATTCTGTG AGTCCAGAACAGCTTCTGATGTCATCGGAGCC TTGACAGCT TAGAACCATCCCCGCGGAAGAGCACCTATA ACTGACGAG GTCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAGGTCGG CAAGATCCA TGCCGTGTGAGTACTTGAATCTGCTTGAA TTGTTTTG ATCAACGGGTTCCCTGTAAGAGTGTATGAAC TGCCCCTTC TGTGGTTGGAAAATTGCTATTCCACTGGAT CATTAATC TACCCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTT GGGGTCAAT TCCTCCCATGAGGTCTTTAAAAGCATTGTCT
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0601]

		GGCTGTAG CTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTC CAGGCCTG GCCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTCTCGCT TGTGAGATC AATTGTTGTGTTTCCCATGCTCTCCCCACAA TCGATGTT CTACAAGCTATGTATGCCATCCTCACCTG AAAGGCAA CTTTATAGAGGATGTTTCATAAGGGTTCCTG TCCCCAAC TTGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTCTCT TGGCCCCG AGAACTGCCTCAAGAGGTCTCGCTGTTGC TTGGCTGTA TCAAAATTGACTCTAACATGTTACCCCCATC CAACAGGGC TGCCCCCTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACTA AAGTTATAG CCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTCAG TGATGACCC CCAGAACTGGGTGCTTGTCTTCAGCCTTCA AGATCATT AAGATTGGATACTTGACTGTGAAAGCAAG CCAAGGTCT GTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAG TCTGTGACT GTTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTGG CATTGTGCC AAATTGATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTCA ACATCCCAA ACTCTTACACACCACTTGCACCCCTGCTGAG GCTTCTCA TCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTG GTCTAGTTG CTGTGTTGTTAAGTCCCCATATACCCCTG AAGCCTGG GGCCTTCAGACCTCATGATCTGGCCTTCAG CTTCTCAA GGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTCTGC ACTGAGCCT CCCCACTTCAAAACATTCTTGTGATGTTG ACTTTAAA TCCACAAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGAC TTCTGAGTC TCTGTAGGTCTTGTACATCTCTCTTCC TCATGAT CCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCC AACCCATTC AGAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAG CCTTCACAT
--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

		CTGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTTCTCAAT GCTTGCCT CCATTGGAAGCTCTTAACCCCTTAGACAAG GACATCTG TTGCTCAATGGTTCTCAAGACAAATGCGCA ATCAAATGC CTAGGATCCACTGTGCG
[0602]	13	<p>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昔 ( "T" ) 替换为尿嘧啶 ( "U" ) 提供了 RNA 序列)</p> <p>GCGCACCGGGGATCCTAGGCATTTGTTGC GCATTTGT TGTGTTATTTGTTGCACAGCCCTCATCGTGG GACCTTCA CAAACAAACCAAACCACCCAGCCATGGGCCA AGGCAAGTCC AAAGAGGGAAGGGATGCCAGCAATACGAGC AGAGCTGAAA TTCTGCCAGACACCACCTATCTGGACCTCT GAAC TGCAA GTCATGCTGGCAGAGATTGACAGTTAGTC AGATGCCAT GACCACTATCTCTGCAGACACTGCCTGAACC TCCTGCTGT CAGTCTCCGACAGGTGCCCTCTGCAAACA TCCATTGCC AACCAAAC TGAAAATATCCACGGCCCCAAC TCTCCACCC CCTTACGAGGAGTGACGCCCGAGCCCCAAC ACCGACACA AGGAGGCCACCAACACAACGCCAACACGG AACACACACA CACACACCCACACACACATCCACACACACGC GCCCCACA ACGGGGCGCCCCCCCCGGGGTGGCCCCCG GGTGCTCGG GCGGAGCCCCACGGAGAGGCCAATTAGTCG ATCTCCTCGA CCACCGACTTGGTCAGCCAGTCATCACAGGA CTTGCCTT AAGTCTGTACTTGCCCACAACACTGTTCATAC ATCACCGTG TTCTTGACTTACTGAAACATAGCCTACAGTC TTTGAAAG TGAACCAAGTCAGGCACAAGTGACAGCGGT CCAGTAGAAT GGATCTATCTATACACAACACTCTGGAGAATT GTGCTAATT TCCGACCCCTGTAGATGCTCACCAGTTCTGA ATCGATGTA GAAGAAGGCTCCAAGGACGTCAAAATT TCCATAACC CTCGAGCTCTGCCAAGAAAACCTCTCATATCC TTGGTCTCC</p>

[0603]

		AGTTTCACAACGATGTTCTGAACAAGGCTTC TTCCCTCAA AAAGAGCACCCATTCTCACAGTCAAGGGCAC AGGCTCCA TTCAGGCCAATCCTCTCAAAATCAAGGGAT CTGATCCG TCCAGTATTTCTTGAGCCTATCAGCTCAAG CTCAAGAG AGTCACCGAGTATCAGGGGTCCATATA GTCCTCAA CTCTTCAGACCTAATGTCAAAAACACCATCG TTCACCTTG AAGATAGAGTCTGATCTAACAGGTGGAGGC ATTCGTCCA AGAACCTTCTGCCACCTCACCTTAAAGAG GTGAGAGCA TGATAGGAACCTCAGCTACACCTGGACCTTGT AACTGGCAC TTCACTAAAAAGATCAATGAAAACCTCCTCA AACAAATCAG TGTTATTCTGGTTGTGAGTGAAATCTACTGTA ATTGAGAA CTCTAGCACTCCCTCTGTATTATTATCATGT AATCCCAC AAGTTCTCAAAGACTTGAATGCCTTGGAT TTGTCAAGC CTTGTGGATTAGCATGGCAGCATTGCACAC AATATCTCC CAATCGGTAAAGAGAACCATCCAAATCCAAAT TGCAAGTCA TTCCTAAACATGGGCCTCTCCATATTTTGT CACTACTT TTAAGATGAATGATTGGAAAGGCCCAATGC TTCAGCGCC ATCTTCAGATGGCATCATGTCTTATGAGGG AACCATGAA AAACTCCTAGAGTTCTGCTTGTGCTACAA ATTCTCGTA CAAATGACTCAAACACTTGTAAAGGG GTTTTGCA GACATCCCTGTACTAACGACAAATTCA ACAAGGCTT GAGTCAGAGCGCTGATGGAAATTACAAGAT CAGAAAATA GAACAGTGTAGTGTTCGCTCCCTCTCCACTTA ACTACATG AGAAATGAGCGATAAAGATTCTGAATTGATA TCGATCAAT ACGCAAAGGTCAAGGAATTGATTCTGGGAC TCCATCTCA TGTTTTGAGCTCATATCAGACATGAAGGG
--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0604]

		AAGCAGCTG ATCTTCATAGATTTAGGGTACAATGCCTC ACAGATTGG ATTACATGGTTAAACTTATCTTGCCTCCAG TAGCCTG AACTCTCAGGCTCCTGCTACATAATCACAT GGGTTCAA GTGCTTGAGGCTTGAGCTCCCTCATTCTCC CTTTCACA GGTCAGCTAAGACCCAAACACCCAACTCAA AGGAATTAC TCAGTGAGATGCAAATATAGTCCAAAGGAG GGGCCTCAA GAGACTGATGTGGTCGCAGTGAGCTCTGGA TGACTTTGC CTGTCACAAATGTACAACATTATGCCATCAT GTCTGTGGA TTGCTGTCACATGCGCATCCATAGCTAGATC CTCAAGCAC TTTCTAATGTATAGATTGTCCCTATTTTAT TTCTCACA CATCTACTCCCAAAGTTTGCAAAGACCTA TAAAGCCTG ATGAGATGCAACTTGAAAGGCTGACTTATT GATTGCTTC TGACAGCAACTTCTGTGCACCTCTTGTGAAC TTACTGCAG AGCTTGTCTGGAGTGTCTTGATTAATGATG GGATTCTT CCTCTGGAAAGTCATTACTGATGGATAAAC CACTTCTG CCTCAAGACCATTCTTAATGGGAACAACCTA TTCAAATTC AGCCAATTATGTTGCCAATTGACTTAGATC CTCTTCGA GGCCAAGGATGTTCCCAACTGAAGAATGGC TTCCTTTT ATCCCTATTGAAGAGGTCTAAGAAGAATTCT TCATTGAAC TCACCATTCTTGAGCTTATGATGTAGTCTCCT TACAAGCC TTCTCATGACCTCGTTCACTAGGACACAAT TCTTCAAT AAGCCTTGGATTCTGTAACCTCTAGAGCCA TCCAACCAA TCCTTGACATCAGTATTAGTGTAAAGCAAAA ATGGGTCCA AGGGAAAGTTGGCATATTTAAGAGGTCTAA TGTTCTTT CTGGATGCAGTTACCAATGAAACTGGAACA CCATTTGCA
--	--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0605]

		ACAGCTTGTACGGCAATTGTATCTATTGTTTC ACAGAGTT GGTGTGGCTTTACACTAACGTTGTGTAAT GCTGCTGA CACAAATTTGTTAAAAGTGGGACCTCTTCC CCCCACACA TAAAATCTGGATTAAATTCTGCAGCAAATC GCCCAACCA CACTTTCGGACTGATGAACCTGTTAAGCAA GCCACTCAA ATGAGAATGAAATTCCAGCAATACAAGGACT TCCTCAGGG TCACTATCAACCAGTTCACTCAATCTCCTATC AAATAAGG TGATCTGATCATCACTGATGTGTAAGATTCT GGTCTCTC ACCAAAAATGACACCGATAACAATAATTAATG AATCTCTCA CTGATTAAGCCGTTAAAGTCAGAGGCATTAT GTAAGATTC CCTGTCCCCATGTCAATGAGACTGCTTATATG GGAAGGCAC TATTCTTAATTCAAAATATTCTCGAAAGATTCT TTTCAGTC ACAGTTGTCTCTGAACCCCTAAGAAGTTCA GCTTGATT TGATATATGATTTCATCATTGCATTACAACA GGAAAAGG GACCTCAACAAGTTGTGCATGTGCCAAGTT AATAAGGTG CTGATATGATCCTTCCCGAACGCACATACT GGTCATCAC CCAGTTGAGATTTGAAGGAGCATTAAAAA CAAAATGG GCACATCATTGGCCCCCATTGCTATGATCC ATACTGTAG TTCAACAAACCCCTCTGCACATTGATGGTCA TTGATAGAA TTGCATTTCAAATTCTTGTCAATTGTTAAG CATGAACC TGAGAAGAAGCTAGAAAAAGACTCAAAATA ATCCTCTATC AATCTTGTAAACATTTCATTGTTCTCAAATCCCC AATATAAA GTTCTCTGTTCCCTCAACCTGCTCTTGTAT GATAACGC AAACTCAACCTCCCGAACGACCAACT GAAGTGTAT GACGTTGGTGAECTCCTCTGAGTAAAAACATA AATTCTTA AAGCAGCACTCATGCATTGTCATGATAG
--	--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0606]

		AGCCTTACT TAGAGACTCAGAATTACTTCCCTTCACTAA TTCTAAC TCTTCTTCTAGTTGTCCCAGTCAAACCTGAA ATTCA CTTGTCTTGCATGTGCCTGTATTCCCTGAG TATGCATT TGCATTCAATTGCAGTAGAATCATTTCATAC ACGAAAAC CAATCACCCCTCTGAAAAAAACTCCTGCAGA GGTTTTTG CCATTTCATCCAGACCACATTGTTCTTGACA GCTGAAGT GAAATACAATGGTGACAGTTCTGTAGAAGTT TCAATAGCC TCACAGATAAATTTCATGTCATCATTGGTGA GACAAGATG GGTCAAAATCTTCCACAAGATGAAAAGAAAAT TTCTGATAA GATGACCTTCCTTAAATATGCCATTACCTG ACAATATA GTCTGAAGGTGATGCAATCCTTTGTATTTC AAACCCCA CCTCATTTCCCTTCATTGGTCTTCTGCTTC TTTCATA CCGCTTTATTGTGGAGTTGACCTTATCTTCTA AATTCTTG AAGAAACTTGTCTCTTCTTCTTCCCCATCAAAGC ATATGTC CTGAGTCACCTCTAGTTCCCAGCTCTGTT TCTTTAGA GCCGATAACCAATCTAGAGACCAACTTGAA ACCTTGAC TCGTAATCTGAGTGGTCAATTGTACTTCTG CTTTCTCA TGAAGCTCTGTGATCTGACTCACAGCACT AACAAAGCAA TTTGTAAAATCATACTCTAGGAGCCGTTCCC CATTTAAA TGTTTGTAAACAACCACACTTTGTTGCTGGC AAGGTCTA ATGCTGTTGCACACCCAGAGTTAGTCATGGG ATCCAAGCT ATTGAGCCTCTCTCCCTTGAATCAAA GTGCCATTG TTGAATGAGGACACCACATGCTAAAGGCCT CCAGATTGA CACCTGGGGTTGTGCGCTGACAGTCAACTTC TTTCCCAGT GAACCTCTTCATTGGTCATAAAAAACACAC TCTTCCTCA
--	--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0607]

	GGGGTGATTGACTCTTAGGGTTAACAAAGA AGCCAACT CACTTTAGGCTCAAAGAATTCTCAAAGCA TTAATTG ATCTGTAGCCTATCAGGGTTCCCTTGTA TTAAATGA CACAGGTATGACACATTCAACATGAACCTGA ACTTGC TCAACAGTACCTTCACCAGTCCAAAAAC AGTTTGAT CAAAAATCTGAGCAATTGTACACTACTTC TCAGCAGGT GTGATCAAATCCTCCTCAACTGTCCATCAA TGATGTGG ATGAGAAGTCTGAGACAATGCCATCACTAA ATACCTAAT GTTTGAACCTGTTTGATTCCCTTTGTTG GGTTGGTG AGCATGAGTAATAATAGGGTCTCAATGCAA TCTCAACAT CATCAATGCTGTCCTCAAGTCAGGACATGA TCTGATCCA TGAGATCATGGTGTCAATCATGTTGTGCAAC ACTTCATCT GAGAAGATTGGTAAAAAGAACCTTTGGGT CTGCATAAA AAGAGATTAGATGCCATTGGACCTGTAT AGAATAACA CCTTGAGGATTCTCCAGTCTTGATACAGCA GGTGATAT TCCTCAGAGTCCAATTTATCACTGGAAA ATACCTCTT TACATTCCACCACTGATACCTTACAGAGCC CAATTGGTT TTGTCTTAATCTAGCAACTGAACCTGTTCA TACTGTTT GTCAAAGCTAGACAGACAGATGACAATCTT TCAAACAT GCATGTTCTTAATTGTTCCGTATTAGGCTGG AAATCATA ATCTTCAAACCTTGATAATACATTAGGAT GAGTTCCG GACCTCATGAAATTCTCAAACCTCAATAATG GTATGTGGC ACTCATGCTCAAGATGTTCAGACAGACCATA GTGCCAAA ACTAAGTCCCACCACTGACAAGCACCTTG ACTTTAAA ATGAACCTTATGGATGTTCTAACAAAT CCTCAAGAG ATACCTTCTATACGCCTTGACTTCTCCTG
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0608]

		TTCCTTAG AAGTCTGATGAACCTTCCTGGTGCTATGA AAGCTCAC AACCTATCATTACACTCCCATAGCAACAAAC CAACCCAGT GCTTATCATTTTGACCCCTTGAGTTAGAC TGTTTGAT CAACGAAGAGAGACACAAGACATCCAAATT CAGTAACTGT CTCCTCTGGTGTCAATAATTAAACTTT AACTTTGT TCAACATAGAGAGGAGCCTCTCATACTCAGT GCTAGTCTC ACTTCCTCTCTCATAACCATGGGTATCTGCTG TGATAAAAT CTCATCAAAGGACAGGATTCAACTGCCTCCT TGCTTAGTG CTGAAATGTCATCACTGTCAGCAAGAGTCTC ATAAAGCTC AGAGAATTCTTAATTAAATTCCGGGGTTG ATTTCTGA AAACTCCTCTTGAGCTTCCCAGTTCCAAGTC TCTTCTAA ACCTGCTGTAAAGGGAGTTATGCCAAGAAC CACATCATC GCAGTTCATGTTGGGTTGACACCATCATGG CACATTTC ATAATTTCATCATTGTGAAATGATCTTCATC TTTCAAGA TTTCATAGAGTCTATACCGAACGCTTATC AACAGTGGT CTTGAGAGATTGCAAAGTCTGAAGTACTCA GATTCTCA AAGACTTCTCATCTGGCTAGAATACTCTA AAAGTTAA ACAGAAGGTCTCTGAACCTGAAATTACCCA CTCTGGCAT AAAGCTGTTATCATAATCACACCGACCATCC ACTATTGGG ACCAATGTGATAACCGCAATGGCAAGGTCTT CTTGATAC AGGCTAGTTATTGGTGTCTCTATAAAATTTC TTCTCAAA ACTAGCTGGTGTGCTTCTAACGAAGCACTCA AGAAGAATG AGGGAATTGTCAATCAGTTATAACCACAG GAATGATCA AAGGCAGTCCGGGCACACAATCCCAGACTC TATTAGAAT TGCCTCAACAGATTATCATCATGGTTGTGTA TGCAGCCG
--	--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

		CTCTTGTCAGCAGCACTGTCTATCTCTATACAACG CGACAAAA GTTTGAGTCCCTCTATCAATACCAATTCTGGGT TCTCTTG CCCTAAAAAGTTGAGCTTCTGCCTTGACAAC CTCTCATCT TGTTCATGTGGTTAAGCACAACCTCTCAA CTCCGAAA TAGCCTCATCCATTGCGCATCAAAAAGCCTA GGATCCTCG GTGCG
[0609]	14	<p>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)</p> <p>CGCACCGGGGATCCTAGGCTTTGGATTGC GCTTCCCTC AGCTCCGTCTGTGGAGAATGGGTCAAATT GTGACGATG TTTGAGGCTCTGCCTCACATCATTGATGAGG TCATTAACA TTGTCAATTATCGTGTCTTATTATCATCACGAGC ATCAAAGC TGTGTACAATTGCCACCTGCGGGATACTT GCATTGATC AGCTTTCTTTCTGGCTGGCAGGTCTGTGG AATGTATG GTCTTGATGGGCCTGACATTACAAAGGGGT TTACCGATT CAAGTCAGTGGAGTTGACATGTCTTACCTT AACCTGACG ATGCCCAATGCATGTTGGCAAACAACTCCC ATCATTATA TAAGTATGGGGACTTCTGGATTGGAGTTAAC CTTCACAAA TGACTCCATCATCACCCACAACCTTTGTAATC TGACTTCC GCCCTCAACAAGAGGACTTTGACCACACAC TTATGAGTA TAGTCTCAAGTCTGCACCTCAGCATTAGAGG GGTCCCCAG CTACAAAGCAGTGTCTGTGATTAAACAAT GGCATCACT ATTCAATACAACCTGTCATTTCTAATGCACA GAGCGCTC TGAGTCATGTAAGACCTTCAGGGGGAGAGT CCTGGATAT GTTCAAGACTGCTTTGGAGGAAAGTACATG AGGAGTGGC TGGGGCTGGACAGGTTCAAGATGGCAAGACTA CTTGGTGCA GCCAGACAAACTACCAATATCTGATTATACA AAACAGGAC TTGGGAAAACCACTGCAGGTACGCAGGCCCT TTCGGAATG</p>

[0610]

	TCTAGAATTCTCTCGCTCAAGAAAAGACAA GGTTTCTAA CTAGAAGGCTTGCAGGCACATTCACTGGAC TTTATCAGA CTCATCAGGAGTGGAGAATCCAGGTGGTTAC TGCTTGACC AAGTGGATGATCCTCGCTGCAGAGCTCAAGT GTTTGAGA ACACAGCTGTTGCAAAGTGAATGTAAATCA TGATGAAGA GTTCTGTGATATGCTACGACTGATTGATTAC AACAAAGGCT GCTTTGAGTAAATTCAAAGAAGATGTAGAAT CCGCTCTAC ATCTGTTCAAGACAAACAGTGAATTCTTGAT TTCTGATCA GCTTTGATGAGAAATCACCTAAGAGACTTG ATGGGAGTG CCATACTGCAATTACTCGAAATTCTGGTATCT AGAGCATG CAAAGACTGGTGAGACTAGTGTCCCCAAGTG CTGGCTTGT CAGCAATGGTTCTTATTGAATGAAACCCAT TTCAGCGAC CAAATTGAGCAGGAAGCAGATAATATGATC ACAGAAATGC TGAGAAAGGACTACATAAAAAGGCAAGGGA GTACCCCTCT AGCCTTGATGGATCTATTGATGTTTCTACAT CAGCATAT TTGATCAGCATTTCTGCATCTTGTGAGGAT ACCAACAC ACAGACACATAAAGGGCGGCTCATGCCAA AACCACATCG GTTAACCAAGGAAATCTGTAGTTGTGGT GCATTTAAA GTACCAGGTGTGGAAACCAACCTGGAAAAGA CGCTGAACAG CAGCGCCTCCCTGACTCACCACCTCGAAAGA GGTGGTGAG TCAGGGAGGCCAGAGGGTCTAGAGTGT CGACATTG GACCTCTGAAGATTAGGTATGTGGTAGGAT ATTGTGGAC AGTTTCAGGTGGGGAGCCTGCCCTGGAG GCGCTTCA AAGATGATACAGTCCATGAGTGCACAGTGTG GGGTGACCT CTTCTTTCTGTCCCTCACTATTCCAGTGT GCATCTT GCATAGCCAGCCATATTGTCCCAGACTTG
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0611]

	TCCTCATAT TCTCTGAAGCTCTTAGTCATCTAACATC GATGAGCT TAATGTCTCTCTGTTGTGAATCTAGGAGT TTCCTGAT GTCATCAGATCCCTGACAACCTAGGACCATT CCCTGTGGA AGAGCACCTATTACTGAAGATGTCAGCCCAG GTTGTGCAT TGAAGAGGTCAAGGTCCATGCCATGTGA GTATTTGGA GTCCTGCTGAATTGTTTGATCAGTGGTT CTCTATAG AAATGTATGTACTGCCATTCTGTGGCTGAA ATATTGCTA TTCTACCGGGTCATTAAATCTGCCCTCAATG TCAATCCA TGTAGGAGCGTTAGGGTCAATACCTCCCAG AGGTCCCTC AGCAACATTGTTGGCTGTAGCTTAAGCCA CCTGAGGTG GGCCCGCTGCCCAAGGCGCTGGTTGGTGA GTTGGCCAT AGGCCTCTCATTGTCAGATCAATTGTTGT TCTCCCAT GCTCTCCCTACAACGTGATGTTCTACAAGCTAT GTATGGCC ACCCCTCCCTGAAAGACAGACTTGTAGAG GATGTTCTC GTAAGGATTCCCTGTCTCCAACCTGATCAGAA ACAAACATG TTGAGTTCTTCTTGGCCCCAAGAACTGCTT CAGGAGAT CCTCACTGTTGCTGGCTTAATTAAGATGGAT TCCAACAT GTTACCCCCATCTAACAAAGGCTGCCCTGCT TTCACAGCA GCACCGAGACTGAAATTGTAGCCAGATATGT TGATGCTAG ACTGCTGCTCAGTGATGACTCCCAAGACTGG GTGCTTGTC TTTCAGCCTTCAAGGTCACTTAGGTTGGGT ACTTGACT GTGAAAGCAGCCAAGGTCTGTGAGTGCTT GCACAAACGT CATTGAGTGAGGTTGTGATTGTTGCCAT ACAAAGCCAT TGTAAAGCTGGCATTGTGCCGAATTGATTGT TCAGAACT GATGAGTCCTCACATCCCAGACCCCTCACCA CACCATTG
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0612]

		CACTCTGCTGAGGTCTCCTCATTCCAACCATT TGCAGAAT CTGAGATCTTGGTCAAGCTGTTGCTGTTA AGTTCCCC ATGTAGACTCCAGAAGTTAGAGGCCTTCAG ACCTCATGA TTTTAGCCTTCAGTTTCAAGGTCAGCTGCA AGGGACAT CAGTTCTTCTGCACTAAGCCTCCACTTTA GAACATTC TTTTTGATGTTGACTTAGGTCCACAAGGGA ATACACAG TTTGGTTGAGGCTTCTGAGTCTCTGTAAATCT TTGTCATC CCTCTTCTCTTCCTCATGATCCTCTGAACAT TGCTCACC TCAGAGAAGTCTAATCCATTAGAAGGCTGG TGGCATCCT TGATCACAGCAGCTTCACATCTGATGTGAA GCCTTGAAG CTCTCTCTCAATGCCTGGGTCCATTGAAAG CTTTTAACT TCTTTGGACAGAGACATTTCAGTGACTCAGTG GATTTC GTCAAATGCGCAATCAAAATGCCTAGGATCC ACTGTGCG
15	LCMV 的 MP 毒株的 NP 蛋白的氨基酸序列	MSLSKEVKSFWQTQALRRELQGFTSDVKA AVIKDATSLLN GLDFSEVSNVQRIMRKEKRDDKDLQRLRSLNQ TVYSLVDL KSTSNNVNLKVGR LSAEELMSLAADLEKLKAK IMRSE RPL TSGVYMGNLTAQQLDQRSQILQMVGMRRPQQ SANGVVRVW DVKDSSLNNQFGT MPSLTMACMAKQS QTLS NDVVQALTD LGLLYTVKYPN LSDLERLKD KHPV LGVITEQQ SSINISGY NFSLGA AAVKAGA ALLDGGNM LESILIKPS NSED LLKAVLG AKKKLN MFV SDQVGDR NPYENILY KVCLSGE GWPYIACRT SVVGRA WENTT IDLT NERPM ANSPK PAPGAAG PPQVGLSY SQTMLL KDL MGG IDP NAPT WIDIE GRF NDP VEI AIFQPQN GQYIH FYREPTD QKQFK QDSK YSHG MDL ADLF NAQ PGLTS SVIGAL PQGM VLSC QGS DD IRK LL DSQ NRR DIK LID VEMT KEAS REY EDK VWD KYG WLCK MHTG IVD DKK

		KKEVTPHCAL MDCIIFESASKARLPDLKTVHNILPHDLIFRGPN VVTL
16 [0613]	LCMV 的 MP 毒株的 GP 蛋白的氨基酸序列	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIIITSIKAVY NFAT CGILALISFLFLAGRSCGMYGLDGPDIYKGVYR FKSVEFD MSYLNLTMPNACSANNSHHYISMGTSGLELTF TNDSIITH NFCNLTSALNKRTFDHTLMSIVSSLHLSIRGVPS YKAVSC DFNNGITIQYNLSFSNAQSALSQCKTFRGRVLD MFRTAFG GKYMRSRGWGTGSDGKTTWCSQTNYQYLIQ NRTWENHCR YAGPFGMSRILFAQEKFTRFLTRRLAGTFTWTLS DSSGVEN PGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNH DEEFCDMLR LIDYNKAALSKFKEDVESALHLFKTTVNSLISD QLLMRNH LRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKC WLVSNGSYL NETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYIKRQGSTP LALMDLL MFSTSAYLISIFLHLVRIPTHRHIKGGSCKPKPHR LTSKGI CSCGAFKVPGVETTWKRR
17	LCMV 的 MP 毒株的 Z 蛋白的氨基酸序列	MDEAISELRELCLNHIEQDERLSRQKLNFLGQR EPRMVLI EGLKLLSRCIEIDSADKSGCIHNHDDKSVEAILI ESGIVC PGLPLIIPDGYKLIDNSLILLECFVRSTPASFEKK FIEDT NKLACIKEDLAIAGITLVPIVDGRCDYDNSFMP EWVNFKF RDLLFKLLEYSSQDEKVFESEYFRLCESLKT VDKRSGI DSMKILKDARSFHNDIMKCHDGVNPNMNC DDVVLGINS LYSRFRRDLETGKLKRSFQKINPGNLIKEFSELY ETLADS DDISALSKEAVESCPLMRFITADTHGYERGSET STEYERL LSMLNKVKSLKLLNTRRRQLLNLDVLCLSSLIK QSKLKGS KNDKHWVGCCYGSVNDRLVSFHSTKEEFIRLL RNRRKSKA YRKVSLEDFRTSINEFILKVQRCLSVVGLSFG HYGLSEH

[0614]

		LEHECHIPFIEFENFMRSGTHPIYMYYTKFEDYDF QPNTEQ LRNMHSLKRLSSVCLALTNSMKTSSVARLRQN QLGSVRYQ VVECKEVFCQVIKLDSEEHLLYQKTGESSRC YSIQGPNG HLISFYADPKRFFLPIFSDEVLHNMDTMISWIR SCPDLK DSIDDVEIALRTLLLLMLTNPTKRNQKQVQNI YLVMAIV SDFSSTSLSMDKLKEDLITPAEKVVYKLLRFLIK TVFGTGE KVLLSAKFKFMLNVSYLCHLITKETPDRLTDQI KCFEKFF EPKSEFGFFVNPKESITPEEECVFYDQMKKFTG KEVDCQR TTPGVNLEAFSMMVSSFNNGTLIFKGEKRLNSL DPMTNSG CATALDLASNKSVVVNKHLNGERLLEYDFNK LLVSAVSI TESFMRKQKYKLNHSDYEYKVSKLVSRLVIGS KETEAGKL EGDSADICFDGEEETSFFKNLEDKVNSTIKRYE RSKKTNE GENEVGFENTKGLHHLQTILSGKMAYLKVIL SEISFH EDFDPSCLTNDDMKFICEAIETSTELSPLYFTSA VKEQCG LDEMAKNLCRKFFSEGDWFSCMKMILLQMNA NAYSGKYRH MQRQGLNFKFDWDKLEEDVRISERESNSESLS KALSLTKC MSAALKNLCFYSEESPTSYTSGPDSGRLKFAL SYKEQVG GNRELYIGDLRTKMFTRLIEDYFESFSSFFSGSC LNNDKE FENAILSMTINVREGLLNYSMDHSKWPMMCP FLFLMLLQ NLKLGDDQYVRSGKDHI STLLTWHMHKLVEV PFPVVNAMM KSYIKSKLKL RGSETTVTERIFREYFELGIVPS HISSLI DMGQQGILHNASDFYGLISERFINYCIGVIFGERP ESYTSS DDQITLFDRRLSELVSDPEEVVLLEFHSHLS GLLNKFI SPKSVVGRFAAEFKSRFYVWGEVPLLTKFVS AALHNVKC KEPHQLCETIDTIADQAVANGVPVSLVNCIQKR TLDLLKY ANFPLDPFLLNTNTDVKDWLGSRGYRIQRLIE
--	--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0615]		ELCPSET KVMRRLVRRLHHKLNGEFNEEFFLDLFNRDK KEAILQLG NILGLEEDLSQLANINWLNLNELFPLRMVLRQ KVVYPSVM TFQEERIPSILKTLQNKLCSKFTRGAQKLLSEAI NKSFAQ SCISSGFIGLCKTLGSRCVRNKNRDNLYIRKVL EDLAMDA HTVTAIRHDGIMLYICDRQSHPEAHCDHISLLR PLLWDYI CISLSNSFELGVWVLAEPVKGKNEGSSSLKHLN PCDYVAR KPESSRLLEDKISLNHVIQSVRRLYPKIYEDQLL PFMSDM SSKNMRWSPRIKFLLDCVLIDINSESLSLISHVV KWKRDE HYTVLFSDLVNSHQRSDSLVDFFVVSTRDVC KNFLKQVY FESFVREFVATSRTLGSFSWFPHKDMMPSEDG AEALGPFQ SFILKVVVKNMERPMFRNDLQFGFGWFSYRLG DIVCNAAM LIKQGLTNPKAFKSLRNLWDYMINNTEGVLEF SITVDFTH NQNNTDCLRKFSLIFLVKCQLQGPGVAEFLSCS HLFKGEV DRRFLDECLHLLRSDSIFKVNDGVFDIRSEEFED YMEDPL ILGDSLELELIGSRKILDGIRSLDFERIGPEWEPV PLTVR MGALFEGRSLVQNIVVKLETKDMRVFLAELEG YGNFDDVL GSLLLHRFRGEHLQGSEISTILQELCIDRSILLV PLSLV PDWFTFKDCRLCFSKSKNTVMYETVVGKYRL KGKSCDDWL TKSVVEEID
18	LCMV 的 MP 毒株的 Z 蛋白的氨基酸序列	MGQGKSKEGRDASNTSRAEILPDPTYLGPLNC KSCWQRFD SLVRCHDHYLCRHCLNLLSVSDRCPLCKHPLP TKLKIST APSSPPPYEE
19	胡宁病毒 Candid #1 毒株片段 L	GCGCACCGGGGATCCTAGGCGTAACCTCATCA TTAAAATCTCAGATTCTGCTCTGAGTGTGACT TACTGCGAAGAGGGCAGACAAATGGGCAACTG CAACGGGGCATCCAAGTCTAACCAAGGCCAGAC TCCTCAAGAGGCCACACAGCCAGCCGCAGAAT TTAGGAGGGTAGCTCACAGCAGTCTATATGGT AGATATAACTGTAAGTGCTGGTTGCTGA

[0616]

	<p>TACCAATTGATAACCTGTAATGATCACTACCT      TTGTTAAGGTGCCATCAGGGTATGTTAAGGA      ATTCAAGATCTCTGCAATATCTGCTGGAAGCCC      CT      GCCCACCAACATCACAGTACCGGTGGAGCCA      ACAGCACCAACACCATAAGGCAGACTGCACAG      GGTCAGACCCGACCCCCCGGGGGGCCCCAT      GGGGACCCCCCGTGGGGGAACCCGGGGT      GATGCCATTAGTCATGTTGATCTGA      CTTGTGCTTCAGTGGCCTGCATGTCACCCCT      TTCAATCTGAACGTCCCTGGGGATCTGATAT      CAGCAGGTCAATTAAAGATCT      GCTGAATGCCACCTTGAAATTGAGAATTCCA      ACCAGTCACCAAATTATCAAGTGAACGGAT      CAACTGCTTTGTGTA      GATCATAAACGAGGACAAAGTCCTCTGCTG      AAATAATATTGTTGTGATGTTGTTAGATA      AGGCCATAGTTGGCTT      AATAAGGTTCCACACTATCAATGTCCTCTAG      TGCTCCAATTGCTTGACTATGACATCCCCAG      ACAACTCAACTCTATA      TGTTGACAACCTTCATTACCTCTGAAAAGA      TACCCCTTTCAAGACAAGAGGTTCTCCTGG      GTTATCTGGCCCAATGA      GGTCAATATGCATACTGTTACTTAGTTCAGAAT      AAAAGTCACCAAAGTGAACCTAACATGGCT      CAGAATATTGTCATCA      TTTGTCGAGCGTAGCCTGCATCAATAAACAA      GCCAGCTAGGTCAAAGCTCTCATGGCCTGTG      AACATGGTAGGCTAGC      GATAACCAGTGCACCATCCAACAATGAGTGG      CTTCCCTCAGACCCAGAAACACATTGACTCAT      TGCATCCACATTCTAGCT      CTAATTCAAGGGTACCGACATCATCCACTCCT      AGTGAACATGACAATGGTGTAACTGTACACCA      TCTTCTCTAAGTTA      AATTTGTCGAAACTCGTGTGTTCTACTG      AATGATCAATTAGTTCACAGCTTCTGGC      AAGCAACATTGCGCAA      CACAGTGTGCAGGTCCATCATGTCCTCTGAG      GCAACAAAGGAGATGTTGTCACAGAGACACC      CTCAAGGAAAACCTTGA      TATTATCAAAGCTAGAAACTACATAACCCATT      GCAATGTCCTCAACAAACATTGCTCTGATAC      TTTATTATTCTAATCT      GACAAGGTAAAATCTGTGAGTTCAGCTAGAT      CTACTGACTGTCATCTTAGATCTAGAACT      TCATTGAACCAAAAGAA      GGATTGAGACACGATGTTGACATGACTAGT      GGGTTATCATCGAAGATAAGACAACTTGCAC      CATGAAGTTCTGCAA</p>
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0617]	<p>CTTGCTGTGGGCTGATGCCAACTTCCCAATT      GTATACTCTGACTGTCTAACATGGGCTGAAGC      GCAATCACTCTGTTTC      ACAATATAAACATTATTATCTCTTACTTTCAAT      AAGTGAATTATAATCCCTAACAGTTTCATTCATC      ATGTCTAGAGCCAC      ACAGACATCTAGAAACTTGAGTCTTCCACTAT      CCAAAGATCTGTTCACTTGAAGATCATTCTA      AAGGGTGCCTAAATGTT      CTTCAAATAGTTGGGTAATTCTTCGTATAG      AATGCAATACATGGTCATGCCTAATTGGTCTT      CTATCTGTCGTACT      GCTTGTTAACAGCCCAGAAGAAATTCTT      ATTACATAAGACCCAGAGGGGCCTGTGGACTC      TTAATAGCAGAAAACAC      CCACTCCCCTAACTCACAGGCATTGTCAGCA      CCAAAGAGAAGTAATCCCACAAAATTGGTTT      AGAAAATTGGTTAACTT      CTTTAAGTGATTTGACAGTAAATAACTTTA      GGCTTCTCTCACAAATTCCACAAAGACATG      GCATTATTGAGTAAAT      ATGTCCTTATATACAGAAATCCGCCCTTACCA      TCCCTAACACACTTACTCCCCATACTCTTACA      AAACCCAATGAAGCC      TGAGGCAACAGAAGACTGAAATGCAGATTG      TTGATTGACTCTGCCAAGATCTTCTTCAGGCC      TTTTGTGAAATTCTTG      ACAGCCTGGACTGTATTGTCCTTATCAATGTT      GGCATCTCTCTTCTCTAACACTCTCGACT      TGTCTAGGTTGGTC      CTCAAGACCAACCTCAAGTCCCCAAAGCTCG      CTAAATTGACCCATCTGTAGTCTAGAGTTGT      CTGATTTCATCTTCACT      ACACCCGGCATATTGCAGGAATCCGGATAAA      GCCTCATCCCCCTCCCTGCTTATCAAGTTGAT      AAGGTTTCTCAAAGA      TTTGCCTCTCTTAATGTCATTGAACACTTTCC      TCGCGCAGTCCTTATAAACATTGTCCTTAT      CATCAGAAAAATA      GCTTCAATTTCCTCTGTAGACGGTACCCCTCT      AGACCCATCAACCCAGTCTTGACATCTTGT      CTTCAATAGCTCCAAA      CGGAGTCTCTGTATCCAGAGTATCTAATCA      ATTGGTTGACTCTAACAGGAAATCTTGACACT      ATATGAGTGCTAACCC      CATTAGCAATACATTGATCACAAATTGTGTCTA      TGGTCTCTGACAGTTGTGGAGTTTACAC      TTAACGTTGTAGA      GCAGCAGACACAAACTTGGTGAGTAAAGGA      GTCTCTCACCCATGACAAAAAAATCTTGACTT      AAACTCAGCAACAAAGTTCCATCACACTC</p>
--------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0618]

		TTTGGGCTGATAAACTGTTAATTAGAAGA TAAGAATTCATGGAAGCACACCATTCCAGC AGTT CTGTCCTGTCTGAAACTTTCATCACTAAGG CAAGGAATTATAAGGCTAACCTGGTCATC GCTGGAGGTATAAGTG ACAGGTATCACATCATACAATAAGTCAAGTGC ATAACACAGAAATTGTTAGTAATTAGCCCAT ATAAACTGTGATGTGTT GTGCAAGATTCCCTGGCCCATGTCCAAGACA GACATTATATGGCTGGGACCTGGTCCCTGA CTGCAGATACTGGTGA AAAACCTTCACCAACACTAGTACAGTCACA ACCCATTAACCTAAAGATCTCTCAATTCC CTACACAGTAGGCTTCT GCAACATTAATTGAACTTCAACGACCTATG AAGATGCCATTGAGAATGTTCAATTACTGGTT CAAGATTACCTTGT TCTATCTCTGGATTCTCAATTCTAATGTGTA CAAAAAAGAAAGGAAAAGTGTGGCTCAT AGTTGGTCCCCATTG AGTGGTCATATGAACAGGACAAGTCACCATT GTTAACAGCCATTTCATATCACAGATTGCAC GTTCGAATTCTTCT GAATTCAAGCATGTGTATTCAATTGAAC CACAGCTCTGAGAAGTCTCAACTAACCTG GTCATCAGCTTAGTGT GAGGTCTCCCACATACAGTTCTCTATTGAGC CAACCTGCTCCTATAACTTAGTC AAGTTCCCTGTATTG AGCTGATGCTTGTGAACCTGTAGGAGAGTC GTCTGAATAGAAACATAATTCCGTAGGGCTG CATTGTA TTGTCTAGCTTATCAGCAATGGCTCAGAATT GCTTCCCTGGTACTAAGCCGAAACCTCATCCT TTAGTCTCAGAACTTC ACTGGAAAAGCCAATCTAGATCTACTTCTAT GCTCATAACTACCCAAATTCTGATCATAATGTC CTTGAATTAAAAGAT ACTTGAAGCATTCAAAGAATTCACTTCTGG TAGGCTATTGTTGTCAAATTGTTAATAACAAA CCCAAAGGGCAGATG TCCTGCGGTGCTCAAGAAAATAAGTCAATT AAATGGAGATAGATAAACAGCATCACATAACT CTTATACACATCAGA CCTGAGCACATCTGGATCAAAATCCTCACCT CATGCATTGACACCTCTGCTTAATCTCTCTC AACACTCCAAAAGGGG CCCACAATGACTCAAGAGACTCTCGCTCATC AACAGATGGATTGATTCAACTTGGTGA TCTCAACTTTGTCCCC
--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0619]

		TCACTATTAGCCATCTGGCTAGTGTCAATTGT ACGTCAATTCTAATACCCCTCAAAGGCCCTAC TTGATCCTCTGTAA ACTCTCATACATCACTGATAATTCTTCTTGATT GGTTCTGGTTCTGAACCGGTGCTCACAGA CCTGTTAGATTTTA ATATTAAGTAGTCCATGGAATCAGGATCAAGA TTATACCTGCCTTTGTTAAACCTCTCAGCC ATAGTAGAAACGCAT GTTGAAACAAGTTCTCCTTATCATAAACAGA AAGAATATTCCAAGTTCGTCGAGCTGGGA TTACACACTTTATT GCTTGACAGATCCAGAGCTGTGCTAGTGATG TTAGGCCTGTAGGGATTGCTTTCAGTCACC TGTAACCTTAAGTCTC CTCTATTGAAGAGAGAAATGCAGAAGGACAA AATCTCTTACACACTCCTGGAATTGAGTAT CTGAGGAAGTCTTAGCC TCTTGGAAAAGAATCTGCCAATCCTCTTAT CATGGTGTCTCTTGTCCAGTGTAGACTCC CACTTAGAGGGGGGTT TACAACAAACACAATCAAACCTGACTTGGC TCAATAAACTCTCAAAACACTTATTGATC TGTCAAGCGATCAGGTG TCTCTTGGTACCAAGTGACACAGATAACTA ACATTTAATAGATATTAAACCTCTTGCAAAG TAAAGATCTGCATCT TCCCCTTCACCCAAAATTGTCTGGAAAAGTTC CACAGCCATCCTCTGAATCAGCACCTCTGATC CAGACATGCAGTCGAC CCTTAACTTGACATCAAATCCACATGATGGA TTTGATTGATATGCCATCAAGAAATATCTTA GACCTTGAAAAATG TCTGGTTCTTGGAAAGGGAACAGAGTAC AGCTAACACTAACATCTTAATATTGGCCTTG TCATTGTCAATGAGTTCG TGGCTAAAATCCAACCAGCTGGTCATTCCTC ACACATTCAATTAAACACATCCTCCGAAAATA TAGGCAGGAAAATCT CTTGGATCACAGTAAAAGAGCCTGTTCTT CCAATACCCATTGATGGATAGATAGATAGAAT AGCACCTTGACTTCT CACCTGTTTGGTAAAACAAGAGAGACAAA TGTATTCTTGTCAAGATGAAATCTTGTACATA ACACTCTCTTAGTCTA ACATTCCAAAATCTAGAATACTCTTCA TTGATTAACAATCGGGAGGAAAATGATGTCTT CATCGAGTTGACCAA TGCAAGGGAAATGGAGGACAAAATCCTAAAT AATTCTCTGCTCACCTCCACTAAGCTGCT GAATGGCTGATGTCTAC
--	--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0620]

		AGATTTCTCAAATTCTTGTAAATAGTATATC TCATCACTGGTCTGTCAGAAACAAGTGCCTG AGCTAAAATCATCAAG CTATCCATATCAGGGTGTATTAGTTTCC AGCTGTGACCAGAGATCTGATGAGAGTTCT TCAATGTTCTGGAACA CGCTTGAACCCACTTGGGGCTGGTCATCAATT TCTTCCTTATTAGTTAACCGCCTCCAGAATAT CTAGAAGTCTGTCA TGACTAACATTAACATTGTCCAACAACTATT CCCGCATTCTAACCTTACAATTGCATCATCA TGCCTTTGAAAAGA TCACAAAGTAAATTGAGTAAAACTAAGTCCA GAAACAGTAAAGTGTCTCCTGGTGTGAA AACTTTAGACCTTCAC TTTGTACACACGGAAAGGGCTTGAAGATAA CACCTCTACAGCATCAATAGATATAGAATT TCATCTGACTGGCTT CCATGTTGACTTCATCTATTGGATGCAATGCG ATAGAGTAGACTACATCCATCAACTTGTGTTGC ACAAAAAAGGGCAGCTG GGCACATCACTGTCTTGTGGCTCCTAATAA GATCAAGTCATTATAAGCTAGACTTTGTG AAAATTGAATTCCCC CAACTGCTTGTCAAAATCTCCTTAAACC AAAACCTTAACCTTATGAGTTCTCTTATG ACAGATTCTCTAATGT CTCCTCTAACCCAAACAAAGAGGGATTCA AACCTCTCATCATAACCCAAAGAATTCTTTT CAAGCATTGATGTT TCTAATCCAAGCTCTGGTTTTGTGTTGGA CAAACATGGATCAATCGCTGGTATTCTTGT CTTCAATATTAATCTC TTGCATAAAATTGATTCTTAGGATGTCGAT CAGCAACCACCGAACTCTTCAACAAACCCAA TCAGCAAGGAATCTAT TGCTGTAGCTAGATCTGCCATCAACCACAGGA ACCAACGTAATCCCTGCCCTAGTAGGTCGGA CTTCTGGTTAAGAGC TTTGACATGTCACTCTCCATTCTCTCAAA CTCATCAGGATTGACCCTAACAAAGGTTCCA ATAGGATGAGTGTGTT CCCTGTGAGTTGAAGCCATCCGGAATGACTT TTGGAAGGGTGGGACATAGTATGCCATAGTCA GACAGGATCACATCAA CAAACCTCTGATCTGAATTGATCTGACAGGCG TGTGCCTCACAGGACTCAAGCTCTACTAAC TTGACAGAAGTTGAAC CCTTCCAACAAACAGAGAGCTGGGGTGTGTT GAGATAAAAAGATGTCCTTGGTATGCTAGC TCCTGTCTTCTGGAAA
--	--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

		ATGCTTCTAATAAGGCTTTATTCATTAC TGATTCCATGCTCAAGTGCGCCTAGGAT CCTCGGTGCG
20	胡宁病毒 Candid #1 毒 株片段 S  [0621]	GCGCACCGGGATCCTAGGCGATTTGGTTAC GCTATAATTGTAAGTGTCTGTTGGACAA CATCAAAAACATCCATTGCACAATGGGGCAG TTCATTAGCTCATGCAAGAAATACCAACCTT TTGCAGGAGGCTCTGAACATTGCTCTGTTG C AGTCAGTCTCATTGCCATCATTAAGGGTATAG TGAACCTGTACAAAAGTGGTTATTCCAATTC TTTGTATTCCCTAGCGC TTGCAGGAAGATCCTGCACAGAAGAAGCTT CAAAATCGGACTGCACACTGAGTTCCAGACT GTGTCCTTCTCAATGGTG GGTCTCTTCCAACAATCCACATGACCTACC TTTGTGTGTACCTTAAACAAGAGGCCATCTT ACATTAAGGGGGCAA TGCTTCATTCAGATCAGCTTGATGATATTGC AGTATTGTTGCCACAGTATGATGTTATAATACA ACATCCAGCAGATA TGAGCTGGTGTCCAAAAGTGTGATCAAATT TGGTTGTCTCAGTGGTTCATGAATGCTGTGGG ACATGATTGGCATCTA GACCCACCATTTCTGTGTAGGAACCGTGCAA AGACAGAAGGCTCATCTTCAAGTCAACAC CTCCAAGACTGGTGTCAA TGGAAATTATGCTAAGAAGTTAAGACTGGCA TGCATCATTATAGAGAATATCCTGACCCTT GCTTGAATGGCAAAC TGTGCTTAATGAAGGCACAACCTACCAAGTGTG GCCTCTCCAATGCCACTCGACCACGTTAAC CATTACACTTCCCTTACA AGAGGTAAAAACATTCAACTCCAAGGAGGT CCTTGAAAGCATTCTCTCCTGGTCTTGACA GACTCATCCGGCAAGGA TACCCCTGGAGGCTATTGTCTAGAAGAGGTGGA TGCTCGTAGCAGCCAAAATGAAGTGTGTTGG CAATACTGCTGTAGCAA AATGCAATTGAATCATGACTCTGAATTCTGT GACATGTTGAGGCTTTGATTACAACAAAAAA TGCTATCAAAACCTA AATGATGAAACTAAGAAACAAGTAAATCTGA TGGGGCAGACAATCAATGCCCTGATATCTGAC AATTATTGATGAAAAAA CAAAATTAGGAACTGATGAGTGTCCCTTACT GCAATTACACAAAATTTGGTATGTCAACCAC ACACTTTCAGGACAAC ACTCATTACCAAGGTGCTGGTTAATAAAAAAC AACAGCTATTGAACATCTGACTTCCGTAA TGACTGGATATTAGAA

[0622]

		<p>AGTGACTTCTTAATTCTGAAATGCTAAGCAA      AGAGTATTGGACAGGCAGGGTAAACTCCT      TTGACTTAGTTGACAT      CTGTATTGGAGCACAGTATTCTTCACAGCGT      CACTCTCCTTCACTGGTGGGTATACCCTCC      CACAGACACATCAGGG      GCGAAGCATGCCCTTGCACACAGGTTGAA      CAGCTGGGTGGTGCAGATGTGGTAAGTAC      CCCAATCTAAAGAACCA      ACAGTTGGCGTAGAGGACACTAAGACCTCC      TGAGGGTCCCCACCAGCCGGGCACTGCCCG      GGCTGGTGTGGCCCCCAGTCCGCGGCCTGG      CCGCGGACTGGGGAGGCAGTGCTTACAGTGC      ATAGGCTGCCTTCGGGAGGAACAGCAAGCTC      GGTGGTAATAGAGGTGTAGGTTCTCCTCATA      GAGCTTCCCCTAGCACTGACTGAAACATTA      TGCAGTCTAGCAGAGCACAGTGTGGTCACT      GGAGGCCAACTTGAAGGGAGTATCCTTTCC      CTCTTTCTTATTGACAACCCTCCATTGTGA      TATTG      CATAAGTGACCATATTCTCCCAGACCTGTTG      ATCAAACACTGCCTGGCTGTTCAGATGTGAGCT      TAACATCAACCAGTT      AAGATCTCTTCCATGGAGGTCAAACA      ACTTCCTGATGTATCGGATCCTGAGTAGTCACA      ACCATGTCGGAGGC      GCAAGCCGATCAGTAACAAAGAACTCCTGG      CATTGCATCTCTATGTCCTTCATTAAGATGCC      GTGAGAGTGTCTGCTA      CCATTTAAACCCCTTCTCATCATGTGGTTT      CTGAAGCAGTGAATGTACTGCTTACCTGCAG      GTTGAATAATGCCAT      CTCAACAGGGTCAGTGGCTGGCCTCAATG      TCGAGCCAAGGGTGTGGTGGGGTCGAGTT      TCCCCACTGCCTCTGA      TGACAGCTCTGTATCTGTCAAGTTAGCC      AATCTCAAATTCTGACCGTTTTTCCGGCTG      TCTAGGACCAGCAACT      GGTTCTTGTCAAGTCAAACTTGTGTTGTC      CCATGACCTGCCTGTGATTGTGATCTAGAAC      CAATATAAGGCCAAC      ATGCCAGAAAGACAAAGTTGTACAAAAGG      TTTCTATAAGGATTCTATTGCCTGGTTCTCA      TCAATAAACATGCCTT      CTCTCGTTAACCTGAATGGTTGATTGT      GGGAAAGAGAAGTTCTGGGGTACTCTGAT      TGTTTCCAACATGTT      CCACCATCAAGAACATGCTCCAGCCTTAC      TGCAGCTGAAAGACTGAAGTTGTAACCAGAA      ATATTGATGGAGCTTC      ATCTTAGTCACAATCTGAAGGCAGTCATGTT</p>
--	--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0623]		<p>CCTGAGTCAGTCTGTCAAGGTCACTTAAGTTT      GGATACTTCACAGTGT      ATAGAACGCCAACAGTGAGGTTAAAGCTTGTAT      GACACTGTTCATTGTCTCACCTCCTGAACAG      TCATGCATGCAATTGTC      AATGCAGGAACAGAGCCAAACTGATTGTTA      GCTTGAGGGTCTTAAACATCCCATATCCTC      ACCACACCATTCCCCC      AGTCCCTTGCTGTTGAAATCCCAGTGTCTCA      ATATCTCTGATCTTAGCAAGTTGTGACTGG      GACAAGTTACCCATGT      AAACCCCCCTGAGAGCCTGCTCTGCTCTTCTT      ATCTTGTTTTTAATTCTCAAGGTCAAGACGC      CAACTCCATCAGTTCA      TCCCTCCCCAGATCTCCCACCTTGAAAAGTGT      GTTTCGTTGAACACTCCTCATGGACATGAGTC      TGTCAACCTCTTATT      CAGGTCCCTCAACTTGTTGAGGTCTTCTCCC      CCTTTTACTGCTTCTGAGTGCCCCGCTGCACC      TGTGCCACTTGGTTGA      AGTCGATGCTGTCAGCAATTAGCTTGGCGTCC      TTCAAAACATCTGACTTGACAGTCTGAGTGA      ATTGGCTCAAACCTCTC      CTTAAGGACTGAGTCCATCTAAAGCTTGGAA      CCTCCTGGAGTGTGCCATGCCAGAAGTTCT      GGTGATTTGATCTAGAA      TAGAGTTGCTCAGTGAAGTGTAGACACTAT      GCCTAGGATCCACTGTGCG</p>
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)	<p>MSLSKEVKSFQWTQALRRELQSFTSDVKA      VIKDATNLNLNGDFSEVS      NVQRIMRKEKRDDKDL      QRLRSLNQTVHSLV      DLKSTS      KKNVLKV      GRLSA      EELMSLAADLEKL      KAKIMR      SERP      QASGVY      MG      NLTTQQLD      QRSQLQ      ILQIV      GMRK      PQQG      ASGV      VVRV      WDV      KDS      LLNN      QFGT      MP      SLT      MAC      MAK      QSQTP      LND      VV      QAL      TDL      GLLY      TV      KYP      NLD      LER      LKDK      HPV      LGV      ITE      QQ      SS      IN      IS      GYN      FSL      GAA      V      KAG      AAL      LDGG      NM      LES      I      LK      P      S      N      ED      LL      K      A      V      L      G      A      K      R      K      L      N      MF      V      SD      QV      G      DR      N      PY      E      N      I      LY      K      V      C      L      S      G      E      G      W      P      Y      I      A      C      RTS      IV      GRA      W      E      N      T      I      D      L      T      S      E      K      P      A      V      N      S      P      R      P      A      G      A      G      PP      QV      G      L      S      Y      S      Q      T      M      L      K      D      L      M      G      G      I      D      P      N      A      P      T      W      I      D      E      G      RF      N      D      P      V      E      I      A      I      F      Q      P      Q      N      G      Q      F      I      H      F      Y      R      E      P      V      D      Q      K      Q      F      K      Q      D      S      K      Y      S      H      G      M      D      L      A      D      L      F      N      A      Q      P      G      L      T      S      S      V      I      G      A      L      P      Q      G      M      V      L      S      C      Q      G      S      D      D      I      R      K      L      D      S      Q      N      R      K      D      I      K      L      I      D      V      E      M      T      R      E      A      S      R      E      Y      E      D      K      V      W      D      K      Y      G      W      L      C      M      H      T      G      I      V      R      D      K      K      K      K      E      I      T      P      H      C      A      L      M      D      C      I      I      F      E      S      A      K      A      R      L      P      D      L      K      T      V      H      N      I      L      P      H      D      L      I      F      R      G      P      N      V      V      T      L</p>
22	LCMV 的克隆 13 毒株的 GP 蛋白的氨基酸序列 (GenBank Accession No.)	<p>MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIVITGI      KAVY      NFATCGIFALISFLLLAGRSC      GMYGLKG      PDIYKG      VYQFKSVEF      DMSHLNLT      MPNAC      SANN      SHYIS      MGTSG      LE      LT      FT      N      D      S      I      I      S      H      N      F      C      N      L      T      S      A      F      N      K      K      F      D      H</p>

	ABC96001.2; GI:116563462)	TLMSIVSSLHLSIRGNSNYKAVSCDFNNGITIQY NLTFSDAQSAQSQCRTFRGRVLMFRTAFFGK YMRSGWGWTGSDGKTTWCSQTSYQYLIQNR TWENHCTYAGPGFMSRILLSQEKTFLTRRLAG TFTWTLSDDSGVENPGGYCLTKWMILAAELKC FGNTAVAKCNVNHDDEFCDMLRLIDYNKAALS KFKEDVESALHLFKTTVNSLISDQLLMRNHLR DLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCWL VTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYI KRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLVSIFLHLVKIPT HRHIKGGSCKPKHRLTNKGICSCGAFKVPGVKT VWKRR
23 [0624]	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 YSNQNEKVFEESEYFRLCESLKTIDKRSGMDS MKILKDARSTHNDEIMRMCHEGINPNMSCDDV VFGINSLSRFRRDLESGKLKRNFKVNPVPEGLI KEFSELYENLADSDDILTLSREAVESCPLMRFIT AETHGHERGSETSTEYERLLSMLNKVKSLKLL NTRRRQLLNLDVLCSSLIKQSKFKGLKNDKH WVGCCYSSVNDRLVSFHSTKEEFIRLLRNRRKKS KVFRKVSFEELFRASISEFIAKIQKCLLVGLSFE HYGLSEHLEQECHIPTEFENFMKIGAHPIMYY TKFEDYNFQPSTEQLKNIQLSRLSSVCLALTNS MKTSSVARLQRQNQIGSVRYQVVECKEVFCQVI KLDSEEHLLYQKTGESSRCYSIQGPDGHLISFY ADPKRFFLPIFSDEVLYNMIDIMISWIRSCPDLK DCLTDIEVALRTLLLMLTNPTKRNQKQVQSVR YLVMAIVSDFSSTSLMDKLREDLITPAEKVVYK LLRFLIKTIFGTGEKVLLSAKFKMLNVSYLCH LITKETPDRLTDQIKCFEKKFEPKSQFGFFVNPK EAITPEEECVFYEQMKRFTSKEIDCQHTTPGVN LEAFSLMVSSFNNGTLIFKGEKKLNSLDPMTNS GCATALDLASNKSVVNVKHLNGERLLEYDFNK LLVSAVSQITESFVRKQKYKLSHSDYEYKVSKL VSRLVIGSKGEETGRSEDNLAEICFDGEEETSFF KSLEEKVNNTIARYRRGRRANDKGDGKLTNT KGLHHLQLILTGKMAHLRKVILSEISFHLVEDF DPSCLTNDDMKFICEAVEGSTELSPLYFTSVIKD QCGLDEMAKNLCKFFSENDWFSCMKMILLQ MNAANAYSGKYRHMQRQGLNFKFDWDKLEED VRISERESNSESLSKALSLTQCMASAALKNLCFY SEESPTSYTSGVPDSGRLKFALSYKEQVGGNRE LYIGDLRTKMFTRLIEDYFESFSSFFSGSCLNNND KEFENAIALSMTINVREGFLNYSMDHSKVGPM MCPFLFLMFLQNLKLGDDQYVRSGKDHVSTLL TWHMHKLVEVPFPVVNAMMKSYVKSCLKLLR GSETTVTERIFRQYFEMGIVPSHISSLIDMGQGI

[0625]		LHNASDFYGLLSERFINYCYIGVIFGERPEAYTSS DDQITLFDRRLSDLVSDPPEEVVLLEFQSHLS GLLNKFISPKSAGRFAEFKSRFYVWGEVPL LTKFVSAALHNVKCKEPHQLCETIDTIADQAIA NGVPVSLVNSIQRRTL DLLKYANFPLDPFLNT NTDVKDWLGSRGYRIQRLIEELCPNETKVVR KLVRKLHHKLKNGEFNEEFFLDLFNRDKKEAIL QLGDLLGLEEDLNQLADVNWLNLNEMFPLRM VLRQKVVYPSVMTFQEERIPSILKTLQNKLCSK FTRGAQKLLSEAINKSAFQSCISSGFIGLCKTLG SRCVRNKNRENLYIKLLEDLTTDDHVTRVCN RDGITLYICDKQSHPEAHRDHICLLRPLLWDYIC ISLSNSFELGVWVLAEPKGKNNSENLTALKHLN PCDYVARKPESSRLLEDKVNLNQVIQSVRRLYP KIFEDQLLPFMSDMSSKNNMRWSPRIKFLDLCVL IDINSESLSLISHVVWKWRDEHYTVLFSDLANS HQRSDSSLVDEFVVSTRDVCKNFLKQVYFESF VREFVATTRTLGNFSWFPHKEMMPSEDGAEAL GPFQSFVSKVVKNVERPMFRNDLQFGFWFS YRMGDVVCNAAMLIIRQGLTNPKAFKSLKDLW DYMLNYTKGVLEFSISVDFTHNQNNTDCLRKF SLIFLVRRCQLQNPVGVAELLSCSHLFKGEIDRML DECLHLLRTDSVFKVNDGVFDIRSEEFEDYME DPLILGDSLELELLGSKRILDGIRSIDFERVGPE WEPVPLTVKMGALFEGRNLVQNIIVKLETKDM KVFLAGLEGYEKISDVLGNLFLHRFRTEHLLG SEISVILQELCIDRSILLIPLSLLPDWFAFKDCRL CFSKSRSRSTLMYETVGGRFRLKGRSCDDWLGG VAEDID
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)	MGQQGKSREEKGTNSTNRAEILPDTTYLGPLSC KSCWQKFDSDLVRCHDHYLCRHCLNLLSVSDR CPLCKYPLPTRLKISTAPSSPPPYEE
25	LCMV 的 WE 毒株的 GP 蛋白的氨基酸序列	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIIITSIKAVY NFATCGILALVSFLFLAGRSCGMYGLNGPDIYK GVYQFKSVEFDMSHLNLTMPNACSANSHHYI SMGSSGLELTFTNDISLNLHNFNCNLTSAFNKKTF DHTLMSIVSSLHLSIRGNNSNHKAVENTCDFNNGITI QYNLSFSDPQSAISQCRTFRGRVLFDMFRTAFFG KYMRSQGWGAGSDGKTTWCSQTSYQYLIQN RTWENHCRYAGPFGMSRILFAQEKTFLTRRLA GTFTWTLSGSSGVENPGGYCLTKWMILAAELK CFGNTAVAKCNVNHDDEFCDMLRLIDYNKAAL SKFKQDVESALHVFKTTVNSLISDQLLMRNHL RDLMGVPCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCW LVTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKD YIKRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLISIFLHLVKI PTHRHIKGGSCPCKPHRLTNKGICSCGAFKVPGV KTIWKRR

26  [0626]	<p>HBV HBe 抗原的核苷酸序列 (GenBank Accession No. E15688.1; GI: 5710371)</p>	<pre> ATGGACATTGACACGTATAAGAATTGGAGC TACTGTGGAGTTACTCTCGTTTGCCTCTG ACTTCTTCCTCCGTCAAGAGATCTCCTAGAC ACCGCCTCAGCTCTGTATCGAGAAGCCTAG AGTCTCCTGAGCATTGCTCACCTCACCATCT GCACTCAGGCAAGCCATTCTCTGCTGGGGGG AATTGATGACTCTAGCTACCTGGGTGGTAAT AATTGGAAGATCCAGCATCCAGGGATCTAGT AGTCAATTATGTTAATACATGGTTAA AGATCAGGCAACTATTGTGGTTCATATATCTT GCCTTACTTTGGAAGAGAGACTGTACTTGAA TATTGCTCTTCGGAGTGTGGATTGAC TCCTCCAGCCTATAGACCACCAAATGCCCTA TCTTATCAACACTCCGGAAACTACTGTTGTT TAA </pre>
------------------	-----------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## 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+ 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+ 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+ T细胞。细胞内细胞因子分析衡量生产干扰素(IFN)-γ、肿瘤坏死因子(TNF)-α和/或白细胞介素(IL)-2的CD8+ 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IPQSLDSWWTLS(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。对照小组未治疗。免疫后10天,通过使用MHC I类多聚体测量血液中的CD8+ 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+ 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+ T细胞反应。用rLCMV/HBs-HBc接种诱导的抗HBs和抗HBc CD8+ 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+ 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+ T细胞频率稍微更高,提出了抗HBc CD8+ 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+ 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+ 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+ 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+ 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] atgcagtggaa attccacaac cttccaccaa actctgcaag atcccaaggt gagaggcctg 60  
[0019] tatttccctg ctgggtggctc cagttcagga acagtcaacc ctgttctgac cactgcctct 120  
[0020] cccttgtcat caatcttctc caggattggg gaccctgctc tgaacatggaa gaacatcaca 180  
[0021] tcaggattcc tgggaccctt tcttgtgtt caggcagggt ttttcttggta gacaagaatc 240  
[0022] ctcacaatcc ctcagagtct ggactcttgg tggacttctc tcaattttctt gggggaaacc 300  
[0023] acagtgtgtc ttggccaaaa ttctcagtcc ccaacctcca atcactcacc aacctttgt 360  
[0024] cctccaaactt gtcctggta cagatggatg tgtctgagga gattcatcat cttcctcttc 420  
[0025] atcctgctgc tgtgcctcat cttttttttt gttttttttt actatcaagg aatgttgcca 480  
[0026] gtttgcctc tgattccagg atcctcaaca accagcaactg gaccatgcag gacctgcatt 540  
[0027] accactgctc aaggaacctc aatgtatccc tcctgttgcgcaccaacc ttcagatggaa 600  
[0028] aattgcacct gcattcccat cccatcatcc tgggcttttgcaccaacc ttgggagttgg 660  
[0029] gcctcagccca gattctccctg gctcagtttgcaccaacc ttgttcagtgcaccaacc ttgggagttgg 720  
[0030] cttccccca ctgtttggct ttcaatgtt gttatgttggg gccaagtctg 780  
[0031] tacagcatct tgagtccctt ttgcctctg ttgcaccaatctt tctttgtctt ttgggtctac 840  
[0032] attaa 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 acccttacaa agaatttgaa gcaactgtgg agttgtctc cttttgcct 60  
[0041] tctgacttctt ttccttcagt gagagatctt cttgacactg cttcagctctt gtacaggaa 120

[0042] gccttggagt ctcctgagca ttgttcacct caccacactg cactcaggca agcaattctt 180  
 [0043] tgctgggggg aactcatgac tctggcaacc tgggtgggtg tcaatttgga agatccagcc 240  
 [0044] tcaagagacc ttgtggtcag ttatgtcaac acaaacatgg gcctgaagtt caggcaactc 300  
 [0045] ttgtggttc acatttcttgc tctcactttt ggaagagaaaa cagtcattga gtatttggtg 360  
 [0046] tctttggag tgtggatcag gactcctcca gcttacagac caccaaattgc cccaaatcctg 420  
 [0047] tcaacacttc cagagaccac tgtgtcaga agaagaggca ggtccccag aagaagaact 480  
 [0048] ccctcaccaa gaagaagaag gtctcaatct cccagaagga gaagatctca atcaagggaa 540  
 [0049] tctcaatgtt 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 atcttccac cagcaatcct ctgggattct ttccagacca ccagttggat 60  
 [0058] ccagcattca gagcaaacac tgcaaattccaa gattggact tcaatccaa caaggacacc 120  
 [0059] tggccagatg ccaacaaggt gggagctgga gcatttggc tgggttcac cccacccat 180  
 [0060] ggaggccctt tgggtggag ccctcaggct cagggcattc tgcaaacttt gccagcaa 240  
 [0061] ccacccctg cctccaccaa caggcattca ggaaggcagc ccacccctt gtctccac 300  
 [0062] ttgagaaaca ctcatcattca ggcattgcag tggattccaa caacccattca ccaaactctg 360  
 [0063] caagatccaa gagtgagagg cctgtatttc cctgctggtg gtcgcattc aggaacagtc 420  
 [0064] aaccctgttca tgaccactgc ctctcccttgc tcatcaatct ttcaggat tggggacc 480  
 [0065] gctctgaaca tggagaacat cacatcagga ttccctggac cccttctgt gttgcaggca 540  
 [0066] gggttttct tggacaag aatccatcaca atccctcaga gtctggactc ttgggtggact 600  
 [0067] tctctcaatt ttctgggggg aaccacagtgt tgcattggcc aaaattctca gtccccaaacc 660  
 [0068] tccaaatcaact caccaacccctt tttccctccaa acttgcatttgc tttacagatg gatgtgtctg 720  
 [0069] aggagattca tcatcttctt cttcatcatttgc ctgcattgc tcatcttctt gttgggttctt 780  
 [0070] ctggacttac aaggaatgtt gccagttgtt cctctgatttgc caggatcctc aacaaccaggc 840  
 [0071] actggaccat gcaggacactg catgaccact gctcaaggaa cctcaatgtt tccctcctgt 900  
 [0072] tgctgcacca aacccatcaga tggaaatttgc acctgcatttgc ccatccatc atccctggct 960  
 [0073] ttggaaaaat tccttgggaa gtggccctca gccagattct cctgcatttgc ttgcattttgt 1020  
 [0074] ccatttgcatttgc agtgggttgc tggctttcc cccactgtttt ggcttcagt gatttggatg 1080  
 [0075] atgtggattt gggggccaaag tctgtacaggc atcttgatgtt ccttttgc tctgttgc 1140  
 [0076] atttctttt gtctttgggtt ctacattatg gacatttgcatttgc cttacaaaga atttggagca 1200  
 [0077] actgtggatgtt tgctctcatttttgc tttgcatttgc gacttgcatttgc cttcatttgc ttcacccatc 1260  
 [0078] gacactgcctt cagctctgttca cagggaaatcccttgc ttggatgcatttgc ttcacccatc 1320  
 [0079] cacactgcac tcaggcaaggc aattcttgc tggggggaaatcccttgc tcatgactctt ggcacccatc 1380  
 [0080] gtgggtgtca atttggaaatcccttgc tggggggaaatcccttgc tcatgactctt ggcacccatc 1440  
 [0081] aacatggggcc tgaagtttcag gcaactcttgc tgggttgcatttgc ttcacccatc 1500  
 [0082] agagaaacag tcatttgcatttgc tttggatgtt ggcatttgcatttgc ttcacccatc 1560  
 [0083] tacagaccac caaatcccccaatcccttgc tcatgactctt ggcacccatc 1620

- [0084] agaggcagg t ccccaaga aagaactccc tcaccaagaa gaagaaggc tcaatctccc 1680  
[0085] agaaggagaa gatctcaatc aaggaaatct 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] ggcgcaccgg gatcctaggc ttttggatt ggcgttcct ctagatcaac tgggtgtcag 60  
[0094] gcccctatcct acagaaggat gggcagaat ctccacca gcaatcctct gggattctt 120  
[0095] ccagaccacc agttggatcc agccttcaga gcaaacactg caaatccaga ttggacttc 180  
[0096] aatcccaaca aggacacactg gccagatgcc aacaagggtgg gagctggagc atttggctg 240  
[0097] ggttcaccc caccatgg aggcctttg gggtgagcc ctcaggctca gggcattctg 300  
[0098] caaacttgc cagcaaattcc acctcctgcc tccaccaaca ggcagtcagg aaggcagccc 360  
[0099] acccctctgt ctccacccctt gagaacact catcctcagg ccatgcagtg gaattccaca 420  
[0100] accttccacc aaactctgca agatcccaga gtgagaggcc tgcatttccc tgctggcgc 480  
[0101] tccagttcag gaacagtcaa ccctgttctg accactgcct ctcccttgc atcaatctc 540  
[0102] tccaggattt gggaccctgc tctgaacatg gagaacatca catcaggatt cctggaccc 600  
[0103] cttcttgtt tgcaggcagg gttttcttg ttgacaagaa tcctcacaat ccctcagagt 660  
[0104] ctggactctt ggtggacttc tctcaatttt ctgggggaa ccacagtgtg tctggccaa 720  
[0105] aattctcagt ccccaacctc caatcactca ccaacctt gtcctccaa ttcgtctgg 780  
[0106] tacagatgga tgggtctgag gagattcatc atttcctct tcatcctgct gctgtgcctc 840  
[0107] atcttcttgt tgggtcttct ggactatcaa ggaatgttgc cagttgtcc tctgattcca 900  
[0108] ggatcctcaa caaccagcac tggaccatgc aggacactgca tgaccactgc tcaaggaacc 960  
[0109] tcaatgtatc cctcctgtt ctgcacccaa ccttcagatg gaaattgcac ctgcattccc 1020  
[0110] atcccatcat cctggctt tggaaaattt ctttggagt gggcctcagc cagattctcc 1080  
[0111] tggctcagtt tgcgggtcc atttgttgc tgggttgc tgcattcccc cactgttgg 1140  
[0112] cttcagtga tttggatgat gtggatttg gggcaagtc tgtacagcat cttgagtccc 1200  
[0113] ttttgcctc tgggtccaaat tttctttgt ctgggtct acattatgga cattgaccct 1260  
[0114] tacaagaat ttggagcaac tggaggatgg ctctccttt tgcctctga cttcttcct 1320  
[0115] tcagtggag atcttcttgc cactgcctca gctctgtaca gggaaaggctt ggagtctcct 1380  
[0116] gagcattgtt cacccatcca cactgcactc aggcaagca ttcttgc tggggactc 1440  
[0117] atgactctgg caacctgggt ggggtcaat ttggaaagatc cagcctcaag agacccgt 1500  
[0118] gtcagttatg tcaacacaaa catggccctg aagttcaggc aactcttgc gtttacatt 1560  
[0119] tcttgcctca ctttggaaag agaaacagtc attgaggatt tgggtctt tggagtgtgg 1620  
[0120] atcaggactc ctccagctt cagaccacca aatgccccaa tcctgtcaac acttccagag 1680  
[0121] accactgtt tcaagaagaag aggcaaggcc cccagaagaa gaactccctc accaagaaga 1740  
[0122] agaaggctc aatctccag aaggagaaga tctcaatcaa gggaaatctca atgttagaga 1800  
[0123] acagcgcctc cctgactctc cacccatcca gaggtggaga gtcaggagg cccagagg 1860  
[0124] ctttagagtgt cacaacattt gggcctctaa aaatttaggtc atgtggcaga atgtgtgaa 1920  
[0125] cagtttgc tgcggcgc cttgttttgc aggccgttcc aaaaatgtatc cagttccatca 1980



- [0168] ccaaatgccc caatcctgtc aacacttcca gagaccactg ttgtcagaag aagaggcagg 540  
[0169] tccccagaa gaagaactcc ctcaccaaga agaagaaggt ctaatctcc cagaaggaga 600  
[0170] agatctaat caaggaaatc tcaatgttag agaacagcgc ctccctgact ctccacac 660  
[0171] aaagagggtgg agagtcaggg aggcccagag ggtcttagag tgtcacaaca tttgggcctc 720  
[0172] taaaaattag gtcatgtggc agaatgttgt gaacagttt cagatctggg agccttgctt 780  
[0173] tggaggcgct ttcaaaaaatg atgcagtc a tgagtgcaca gtgcgggtg atctcttct 840  
[0174] tcttttgc ctttactatt ccagtatgc ttttacacaa ccagccatat ttgtcccaca 900  
[0175] ctttatcttc atactccctc gaagcttccc tggcatttc aacatcgata agcttaatgt 960  
[0176] ccttccttatt ttgtgagtcc agaagcttcc tggatgtc a gggcccttga cagcttagaa 1020  
[0177] ccatccccctg cgaaagagca cctataactg acgaggtcaa cccgggttgc gcattgaaga 1080  
[0178] ggtcgccaag atccatgcgc tgtagtact tggaaatctt cttgaattgt ttttgcataa 1140  
[0179] cgggttccct gtaaaaagtgt atgaactgccc cgttctgtgg ttggaaaatt gctatttcca 1200  
[0180] ctggatcatt aaatctaccc tcaatgtcaa tccatgttagg agcgttgggg tcaatttccc 1260  
[0181] ccatgaggc tttaaaagc attgtctggc tgtagcttac gcccacctga ggtggacctg 1320  
[0182] ctgctccagg cgctggcctg ggtgagttga ctgcagggtt ctgcgttgc agatcaattt 1380  
[0183] ttgtgtttc ccatgctctc cccacaatcg atgttctaca agctatgtat ggcacatc 1440  
[0184] cacctgaaag gcaaacttta tagaggatgt tttcataagg gttcctgtcc ccaacttgg 1500  
[0185] ctgaaacaaa catgttgagt tttctcttgg ccccgagaac tgccttcaag agatcctcgc 1560  
[0186] tggatgttgg cttgatcaaa attgactcta acatgttacc cccatccaac agggctgccc 1620  
[0187] ctgccttcac ggcagcacca agactaaagt tatagccaga aatgttgatg ctggactgct 1680  
[0188] gttcagtgtat gacccccaga actgggtgt tgtagttc ctttcaaga tcattaagat 1740  
[0189] ttggatactt gactgtgtaa agcaagccaa ggtctgttag cgcttgcata acgtcattga 1800  
[0190] gcgaggctg tgactgtttt gccatacaag ccatagttt acctggcatt gtgccaattt 1860  
[0191] gattgttcaa aagtgtatgat tcttcacat cccaaactct taccacacca cttgcaccct 1920  
[0192] gctgaggctt tctcatccca actatctgtt ggtctgaga tctttggctt agttgctgt 1980  
[0193] ttgttaagtt cccatataat acccctgaag cctgggcct ttcagacccct atgatcttgg 2040  
[0194] ctttcagctt ctaagggtca gcccgaagag acatcagtcc ttctgcactg agcctcccc 2100  
[0195] ctttcaaaac attttttt gatgttgact ttaaatccac aagagaatgt acagtctgg 2160  
[0196] tgagacttct ggtctctgt aggtctttt catctctt ttccttcctc atgatctct 2220  
[0197] gaacattgt gacccatcagag aagtccaaacc cattcagaag gttgggtgca tcctaatga 2280  
[0198] cagcaggctt cacatctgtat gtgaagctct gcaattctt tctcaatgt tgcgtccatt 2340  
[0199] ggaagcttta aacttcctt gacaaggaca tcttggctt caatggtttca aagacaaa 2400  
[0200] tgcgcaatca aatgcctagg atccactgtcg 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] ggcacccggg gatccttaggc tttttggatt ggccttcctt ctagatcaac tgggtgtcag 60  
[0209] gcccatttc acagaaggat gcagtggat tccacaaacct tccaccaaac tctgcacat 120

[0210] cccagagtga gaggcctgta tttccctgct ggtggctcca gttcaggaac agtcaaccct 180  
 [0211] gttctgacca ctgcctctcc ctgtcatca atcttctcca ggattggga ccctgctctg 240  
 [0212] aacatggaga acatcacatc aggattcctg ggacccttc ttgtttgca ggcagggtt 300  
 [0213] ttcttgtga caagaatcct cacaatccct cagagtctgg actcttggc gacttctctc 360  
 [0214] aattttctgg ggggaaccac agtgtgtctt ggccaaaatt ctcagtcctt aacctccaaat 420  
 [0215] cactcaccaa cctcttgcc tccaaacttgt cctggttaca gatggatgtc tctgaggaga 480  
 [0216] ttcatcatct tcctcttcat cctgctgctg tgcctcatct tcttgggt tcttctggac 540  
 [0217] tatcaaggaa tggccaggat ttgcctctg attccaggat cctcaacaac cagcactgga 600  
 [0218] ccatgcagga cctgcatgac cactgctcaa ggaacctcaa tgtatccctc ctgttgctgc 660  
 [0219] accaaacctt cagatggaaa ttgcacactgc attcccatcc catcatcctg ggctttgga 720  
 [0220] aaattccctt gggagtgggc ctgcaggat ttctctggc tcagttgtctt ggtggcattt 780  
 [0221] gttcagttgtt ttgttggct ttccccact gtttggctt cagtgatttgc gatgtatgtgg 840  
 [0222] tattggggc caagtctgtt cagcatctt agtcccttt tgcctctgtt gccaattttc 900  
 [0223] ttttgcctt gggctacat ttaaagaaca gcgcctccct gactctccac ctcgaaagag 960  
 [0224] gtggagagtc agggaggccc agagggctt agagtgtcac aacatttggg cctctaaaaaa 1020  
 [0225] ttaggtcatg tggcagaatg ttgtgaacag ttttcagatc tgggagccctt gctttggagg 1080  
 [0226] cgcttcaaa aatgatgcag tccatgagt cacagtgcgg ggtgatctt ttcttctttt 1140  
 [0227] tgtcccttac tattccagta tgcattttac acaaccagcc atatttgcac cacactttat 1200  
 [0228] cttcataactc cctcgaagct tccctggta tttcaacatc gataagctt aatgtccttcc 1260  
 [0229] tattttgtga gtccagaagc ttctctgtt catcgagcc ttgacagctt agaaccatcc 1320  
 [0230] cctgcggaaag agcacctata actgacgagg tcaacccggg ttgcgcattt aagaggtcgg 1380  
 [0231] caagatccat ggcgtgtgag tacttggat cttgcttga ttgttttga tcaacgggtt 1440  
 [0232] ccctgtaaaaa gtgtatgaac tgcccttctt gtgggtggaa aattgctatt tccactggat 1500  
 [0233] cattaaatct accctcaatg tcaatccatg taggagcggtt ggggtcaatt cctccatga 1560  
 [0234] ggtctttaa aagcattgtc tggctgtac ttaagccac ctgaggtgga cctgctgctc 1620  
 [0235] caggcgctgg cctgggtgag ttgactgcag gtttctcgct tgcgtatca attgttgtgt 1680  
 [0236] ttcccattgc tctccccaca atcgatgttca tacaagctat gtatggccat cttcacccctg 1740  
 [0237] aaaggcaaac ttatagagg atgtttcat aagggttctt gtcccaact tggctgaaa 1800  
 [0238] caaacatgtt gagtttctt tggcccgaa gaactgcctt caagagatcc tcgctgttgc 1860  
 [0239] ttggcttcat caaaaattgtac tctaacatgt taccccccattt caacaggcgtt gcccctgcct 1920  
 [0240] tcacggcagc accaagacta aagttatagc cagaaatgtt gatgtggac tgctgttgc 1980  
 [0241] tgcgtatccca cagaactggg tgcttgcattt tcagccattt aagatcattt agatttggat 2040  
 [0242] acttgactgt gtaaagcaag ccaaggcttg tgagcgctt tacaacgtca ttgagcggag 2100  
 [0243] tctgtactg ttggccata caagccatag ttagacttgg cattgtgccaa aattgattgt 2160  
 [0244] tcaaaagtga tgagtcttca acatccaaa ctcttaccac accactgca ccctgctgag 2220  
 [0245] gctttctcat cccaaactatc tgttagatct gagatcttgc gtctagttgc tggcttgc 2280  
 [0246] agttccccat atataccctt gaagcctggg gccttcaga cctcatgatc ttggccctca 2340  
 [0247] gcttctcaag gtcagccgca agagacatca gttctctgc actgagcctc cccactttca 2400  
 [0248] aaacattctt ctgtatgtt gactttaaat ccacaagaga atgtacagtc tgggttggagac 2460  
 [0249] ttctgactgt ctgttaggtct ttgtcatctc tctttccctt cctcatgatc ctctgaacat 2520  
 [0250] tgctgacccctc agagaagtcc aaccattca gaagggttggt tgcatcctta atgacagcag 2580  
 [0251] cttcacatc tgcgtatgttca ctcttcttca tgcttgcgtc cattggaaag 2640

[0252] tcttaacttc cttagacaag gacatcttgt tgctcaatgg tttctcaaga caaatgcgca 2700  
 [0253] atcaaatgcc taggatccac tgtcg 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] ggcgcaccggg gatccttaggc gtttagttgc gctgttttgt tgcacaactt tcttcgttag 60  
 [0263] gctgtcagaa gtggacactgg ctgatagcga tgggtcaagg caagtccaga gaggagaaag 120  
 [0264] gcaccaatag tacaaacagg gccgaaatcc taccagatac cacctatctt ggccctttaa 180  
 [0265] gctgcaaatc ttgctggcag aaatttgaca gcttggttaag atgccatgac cactacctt 240  
 [0266] gcaggcactg tttaaacctt ctgctgtcag tatccgacag gtgtcctt tggtaatatc 300  
 [0267] cattaccaac cagattgaag atatcaacag ccccaagctc tccacctccc tacgaagagt 360  
 [0268] aacaccgtcc ggccccggcc ccgacaaaca gcccagcaca agggaaaccgc acgtcaccctt 420  
 [0269] acgcacacag acacagcacc caacacagaa cacgcacacaca cacacacaca cacacccaca 480  
 [0270] cgcacgcgcc cccaccacccg gggggcgccc ccccccgggg ggcggccccc cgggagcccg 540  
 [0271] ggcggagccc cacggagatg cccatcagtc gatgtcctcg gccaccgacc cgccccagcca 600  
 [0272] atcgtcgcag gaccccccct tgagtctaaa cctgcccccc actgtttcat acatcaaagt 660  
 [0273] gctcctagat ttgctaaaac aaagtctgca atccttaaag gcgaaccagt ctggcaaaag 720  
 [0274] cgacagtgga atcagcagaa tagatctgtc tatacatagt tcctggagga ttacacttat 780  
 [0275] ctctgaaccc aacaaatgtt caccagttct gaatcgatgc aggaagaggt tcccaaggac 840  
 [0276] atcactaatac tttcatagc cctcaagtcc tgctagaaag actttcatgt ctttgtctc 900  
 [0277] cagcttcaca atgatatttt ggacaagggt tcttccttca aaaagggcac ccatctttac 960  
 [0278] agtcagtggc acaggctccc actcaggtcc aactctctca aagtcaatag atctaattccc 1020  
 [0279] atccagtatt cttttggagc ccaacaactc aagctcaaga gaatcaccaa gtatcaaggg 1080  
 [0280] atcttccatg taatcctcaa actcttcaga tctgatatca aagacaccat cgttcacctt 1140  
 [0281] gaagacagag tctgtcctca gtaagtggag gcattcatcc aacattctc tatctatctc 1200  
 [0282] acccttaaag aggtgagagc atgataaaag ttcagccaca cctggattct gtaattggca 1260  
 [0283] cctaaccaag aatatcaatg aaaatttcct taaacagtc gatattttct gattgtgcgt 1320  
 [0284] aaagtccact gaaattgaaa actccaatac ccctttgtg tagttgagca tgttagtccc 1380  
 [0285] cagatcctt aaggatttaa atgccttgg gtttgcagg ccctgcctaa tcaacatggc 1440  
 [0286] agcattacac acaacatctc ccattcggtt agagaaccac ccaaaccacaa actgcaaatc 1500  
 [0287] attcctaaac ataggccctt ccacatcccc gttcaccacc tttgagacaa atgattgaaa 1560  
 [0288] gggcccgat gcctcagcac catttcaga tggcatcatt tctttatgag ggaaccatg 1620  
 [0289] aaaattgcct aatgtcctgg ttgttgcac aaattctcg acaaattgatt caaaatcac 1680  
 [0290] ctgttttaag aagttcttgc agacatccct cgtgctaaca acaaattcat caaccagact 1740  
 [0291] ggagtcagat cgctgatgag aatggcaag gtcagaaaaac agaacagtgt aatgttcatc 1800  
 [0292] cctttccac ttaacaacat gagaaatgag tgacaaggat tctgagttaa tatcaattaa 1860  
 [0293] aacacagagg tcaaggaatt taattctggg actccacccctc atgttttttg agctcatgtc 1920

[0294] agacataaat ggaagaagct gatcctcaaa gatctggga tatagccgcc tcacagattg 1980  
 [0295] aatcaacttgg ttcaaattca cttgtcctc cagtagccct gagctctag gctttcttgc 2040  
 [0296] tacataatca catgggttta agtgcctaa agttaggttc tcactgttat tcttcccttt 2100  
 [0297] ggtcggttct gctaggaccc aaacacccaa ctcaaaaagag ttgctcaatg aaatacaaaat 2160  
 [0298] gtagtcccaa agaagaggcc taaaaggca tatatgatca cggtgggctt ctggatgaga 2220  
 [0299] ctgttgtca caaatgtaca gcgttatacc atcccgattt caaactcttgc tcacatgatc 2280  
 [0300] atctgtggtt agatcctcaa gcagctttt gatatacaga tttccctat tttgtttct 2340  
 [0301] cacacacctg cttccttagag tttgcaaaag gcctataaaag ccagatgaga tacaactctg 2400  
 [0302] gaaagctgac ttgttgattt cttctgacag cagttctgt gcaccccttgc tgaatttact 2460  
 [0303] acaaagtttgc ttctggagtg tctgtatcaa tggatggattt cttcccttgc ggaaagtcat 2520  
 [0304] cactgatggaa taaaccaccc ttgtctttaa aaccatccctt aatggaaaca ttccattcaa 2580  
 [0305] attcaaccagg ttaacatctg ctaactgattt cagatcttctt tcaagaccga ggaggtctcc 2640  
 [0306] caattgaaga atggcctcctt tttatctctt gttaaatagg tctaagaaaa attcttcatt 2700  
 [0307] aaattcacca ttttgagct tatgtgcag tttccttaca agcttcttgc caaccccttgc 2760  
 [0308] ttccatttagga cacagttcctt caatgagtctt ttgtattctgt taacctcttag aaccatccag 2820  
 [0309] ccaatcttc acatcagtgt tggtattcag tagaaatggaa tccaaaggaa aattggcata 2880  
 [0310] cttaggagg tccagtttgc tccttggat actattactt agggagactg ggacgccatt 2940  
 [0311] tgcgatggct tggatctgcaaa ttgtatctat tggatcttgc agttgatgtg gcttttaca 3000  
 [0312] ctgcacatttgc tggatcgctg cagataaaaa ctgttgagttt aagggactt cctccccc 3060  
 [0313] tacatagaat cttagattaa attctgcagc gaacccccc gccacactttt ttggctgtat 3120  
 [0314] aaatttgcattt aacaagccgc tcagatgaga ttggaaattcc aacaggacaa ggacttcctc 3180  
 [0315] cgatcactt acaaccaggactt cactcagctt cctatcaaat aaagtgtatctt gatcatcaact 3240  
 [0316] tgatgtgtaa gcctctggc ttgccttgc gataacacca atgcagtttgc tgatgaaccc 3300  
 [0317] ctgcctaagc aaaccataga agtcagaagc attatgcaag attccctgcc ccatatcaat 3360  
 [0318] aaggctggat atatggatg gcactatccc catttcaaaaa tattgtctga aaattctctc 3420  
 [0319] agtaacagtt gtttctgaac ccctgagaag ttttagcttc gacttgacat atgatttcat 3480  
 [0320] cattgcatttca acaacaggaa agggaccc gacaagcttgc tgatgtgttgc aagttacaaa 3540  
 [0321] agtgctaaca tgatcttcc cggAACGcac atactggtca tcacctgttgc tgagattttgc 3600  
 [0322] tagaaacattt aagaacaaaaa atgggcacat cattggtccc catttgcgttgc gatccataact 3660  
 [0323] atagtttaag aacccttccc gcacattgttgc agtcatttgc aagatttgcattt tttcaaaattt 3720  
 [0324] ctatcatttgc tttaaacagg agcctgaaaaa gaaacttgaa aaagactcaa aataatcttgc 3780  
 [0325] tattaaaccttgc tggatcaattt ttgccttcaaa atctccaaata tagatgttgc tatttcccc 3840  
 [0326] aacctgctcttgc ttataagata gtgcattttt cagccttcca gagtcaggac ctactgaggat 3900  
 [0327] gtatgtgtttttttt ctgagtttgc gacagatgttgc ttcaaggacat cactcataaca 3960  
 [0328] ttgtgtcaac gacagatgttgc tactaaggaa ctcagaatttgc cttcccttgc cactgatttgc 4020  
 [0329] cacgtcttgc tccagtttgc cccagtttgc aatggatgttgc ttgcatttgc tttgcatttgc 4080  
 [0330] cctgttatttgc cctgagtttgc catttgcatttgc catttgcac agaatttgcatttgc tcatgcaaga 4140  
 [0331] aaaccaatca ttctcagaaaaa agaactttgc acaaaggatgttgc ttgcatttgc catcgaggcc 4200  
 [0332] acactgatcttgc ttaatgtacttgc aggtgaaataa caaaggatgttgc agctctgtgg aaccctcaac 4260  
 [0333] agcctcacatcataaaatttca tggatcttgc gtttagacat gatgggtcaaa agtcttgc 4320  
 [0334] taaatggaaa gatatttgc ttttgc ttttgc ttttgc ttttgc ttttgc ttttgc ttttgc ttttgc 4380  
 [0335] aataagctgttgc aatgtatgttgc gtccttttgc atttgcatttgc ttttgc ttttgc ttttgc ttttgc ttttgc 4440

[0336] attggccctc ctacctttc tgtaccgtgc tattgtggt ttgacctttt ctgcagact 4500  
 [0337] ttgaagaag cttgtcttt ctctccatc aaaacatatt tctgccaggt tgtctccga 4560  
 [0338] tctccctgtc tcttctccct tggaaaccgat gaccaatcta gagactaact tggaaacttt 4620  
 [0339] atattcatag tctgagtggtc tcaacttata ctttgtttt cttacgaaac tctccgtaat 4680  
 [0340] ttgactcaca gcactaacaa gcaatttggt aaagtcatat tccagaagtc gttctccatt 4740  
 [0341] tagatgctta ttaaccacca cactttgtt actagcaaga tctaattgtc tcgcacatcc 4800  
 [0342] agagtttagtc atgggatcta ggctgttttag cttcttctt ccttgaaaaa ttaaagtgcc 4860  
 [0343] gttgttaaat gaagacacca ttaggctaaa ggctccaga ttaacacctg gagttgtatg 4920  
 [0344] ctgacagtca atttcttac tagtgaatct cttcatttgc tcatagaaca cacattttc 4980  
 [0345] ctcaggagtg attgcttctt tggggttgac aaaaaaacc aattgacttt tgggctcaaa 5040  
 [0346] gaactttca aaacattttt tctgatctgt tagcctgtca ggggtcttctt ttgtatcaa 5100  
 [0347] atgacacagg tatgacacat tcaacataaa tttaaattttt gcactcaaca acacatttctc 5160  
 [0348] accagtagcca aaaaatgttt ttatttagaa tctaaggcgc ttatacacca ctttcagc 5220  
 [0349] aggtgtgatc agatcctccc tcaacttac cattaatgtat gtagatgaaa aatctgacac 5280  
 [0350] tattgccatc accaaatatac tgacactctg tacctgctt tgattctct ttgttgggtt 5340  
 [0351] ggtgaggatt agcaacaata gggcctcag tgcaacctca atgtcggtga gacagtctt 5400  
 [0352] caaatcagga catgatctaa tccatgaaat catgatgtct atcatattgt ataagacctc 5460  
 [0353] atctgaaaaa attggtaaaa agaacctttt aggatctgca tagaaggaaa ttaaatgacc 5520  
 [0354] atccgggcct tttatggagt agcacccgttga agattctcca gtctctggt ataataggt 5580  
 [0355] gtattcttca gagtccagtt ttattacttgc gcaaaacact tcttcattt ctaccactt 5640  
 [0356] atatctcaca gacccttattt gattttgcct tagtctagca actgagctag ttttcataact 5700  
 [0357] gttgttaag gccagacaaa cagatgataa tcttctcagg ctctgtatgt tcttcagctg 5760  
 [0358] ctctgtgctg ggttggaaat tgtaatcttca aaacttcgta taatacatta tcgggtgagc 5820  
 [0359] tccaattttc ataaagttct caaattcagt gaatggatg tggcattttt gctcaagggt 5880  
 [0360] ttccagacagt ccgtaatgtc cgaaactcag tcccaccact aacaggcatt tttgaatttt 5940  
 [0361] tgcaatgaac tcactaatag atgccctaaa caattcctca aaagacacct ttctaaacac 6000  
 [0362] ctttgcattt tttctattcc tcaaaagtct aatgaactcc tctttatgtc tgtgaaagct 6060  
 [0363] taccagccta tcattcacac tactatagca acaacccacc cagttttat cattttttaa 6120  
 [0364] cccttgaat ttgcactgtt ttatcaatga ggaaagacac aaaacatcca gatttaacaa 6180  
 [0365] ctgtctcctt ctgttattca acagttcaa actcttgact ttgtttaaca tagagaggag 6240  
 [0366] cctctcatat tcagtgcgt tctcacttcc ccttcgtgc ccatgggtct ctgcagttat 6300  
 [0367] gaatctcatac aaaggacagg attcgactgc ctccctgtt aatgttaaga tatcatcact 6360  
 [0368] atcagcaagg ttttcataga gctcagagaa ttcccttgatc aagccttcag gtttacttt 6420  
 [0369] ctgaaagttt ctcttaatt tcccacttca taaatctttt ctaaacctgc tgaaaagaga 6480  
 [0370] gtttatttca aaaaccatcatcagact catgttgggg ttgtgcctt cgtggcacat 6540  
 [0371] cctcataatt tcatcattgt gagttgaccc tgcacatttc agaattttca tagatccat 6600  
 [0372] accggagcgc ttgtcgatag tagtctcag ggactcacag agtctaaaat attcagactc 6660  
 [0373] ttcaaagact ttctcattttt ggttagaata ctccaaaagt ttgaataaaa ggtctctaaa 6720  
 [0374] ttgtttttt gcccactctg gcataaaaact attatcataa tcacaacgac catctactat 6780  
 [0375] tggaaactaat gtgacacccg caacagcaag gtctccctg atgcacccca atttggatgt 6840  
 [0376] gtcctctata aatttcttca caaaactggc tggagtgctc ctaacaaaac actcaagaag 6900  
 [0377] aatgagagaa ttgtctatca gttgttaacc atcaggaatg ataagtggta gtcctggca 6960

- [0378] tacaattcca gactccacca aaattgttcc cacagactta tcgtcgtggt tgtgtgtgca 7020  
[0379] gccactcttg tctgcactgt ctatttcaat gcagcgtgac agcaacttga gtccctcaat 7080  
[0380] cagaaccatt ctgggttccc tttgtcccg aaagttgagt ttctgccttg acaacctctc 7140  
[0381] atcctgttct atatagttt aacataactc tctcaattct gagatgattt catccattgc 7200  
[0382] gcatcaaaaaa gccttaggatc ctgggtgcg 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] cgcacgggg atccttaggt tttggattt cgctttcctc tagatcaact gggtgtcagg 60  
[0418] ccctatccta cagaaggatg ggtcagattt tgacaatgtt tgaggctctg cctcacatca 120  
[0419] tcgatgaggt gatcaacatt gtcattattt tgcttatcgt gatcacgggt atcaaggct 180

[0420] tctacaattt tgccaccctgt gggatattcg cattgatcag tttcctactt ctggctggca 240  
 [0421] ggtcctgtgg catgtacggt cttaaaggac ccgacattta caaaggagtt taccaattta 300  
 [0422] agtcagtggaa gtttgatatg tcacatctga acctgaccat gcccaacgca tgttcagcca 360  
 [0423] acaactccca ccattacatc agtatggga cttctggact agaattgacc ttcaccaatg 420  
 [0424] attccatcat cagtcacaac tttgcaatc tgacctctgc cttcaacaaa aagacctttg 480  
 [0425] accacacact catgagtata gtttcgagcc tacacctcag tattcagaggg aactccaact 540  
 [0426] ataaggcagt atcctgcgac ttcaacaatg gcataaccat ccaataacaac ttgacattct 600  
 [0427] cagatcgaca aagtgcctc agccagtgt aacacccatc aggttagatc ctagatatgt 660  
 [0428] ttagaactgc cttcgggggg aaatacatga ggagtggctg gggctggaca ggctcagatg 720  
 [0429] gcaagaccac ctgggttagc cagacgagtt accaataacct gattatacaa aatagaacct 780  
 [0430] gggaaaacca ctgcacatat gcaggtcctt ttggatgtc caggattctc cttcccaag 840  
 [0431] agaagactaa gttcttcaact aggagactag cgggcacatt cacctggact ttgtcagact 900  
 [0432] cttcagggtt ggagaatcca ggtggattt gcctgaccaa atggatgatt ctgcgtcgc 960  
 [0433] agcttaagtg tttcgggaaac acagcagttg cgaaatgca tgtaaatcat gatgccgaat 1020  
 [0434] tctgtacat gctgcgacta attgactaca acaaggctgc tttgagtaag ttcaaagagg 1080  
 [0435] acgtagaatc tgccttgcac ttattcaaaa caacagtgaa ttcttgatt tcagatcaac 1140  
 [0436] tactgatgag gaaccactt agagatctga tgggggtgcc atattgcaat tactcaaagt 1200  
 [0437] tttggcacct agaacatgca aagaccggcg aaactagtgt ccccaagtgc tggcttgtca 1260  
 [0438] ccaatggttc ttacttaaat gagacccact tcagtgatca aatcgaacag gaagccgata 1320  
 [0439] acatgattac agagatgtt aggaaggatt acataaagag gcagggagt acccccccctag 1380  
 [0440] cattgatgga ccttctgatg tttccacat ctgcataatct agtcagcatc ttccctgcacc 1440  
 [0441] ttgtcaaaat accaacacac aggacatcaa aaggtggctc atgtccaaag ccacaccgat 1500  
 [0442] taaccaacaa aggaatttgt agtgtgggt catttaaggt gcctgggtta aaaaccgtct 1560  
 [0443] gggaaaagacg ctgaagaaca gcgcctccct gactctccac ctcgaaagag gtggagagtc 1620  
 [0444] agggaggccc agagggctt agagtgcac aacatttggg cctctaaaaa ttaggtcatg 1680  
 [0445] tggcagaatg ttgtgaacag tttcagatc tgggagccctt gcttggagg cgctttcaaa 1740  
 [0446] aatgatgcag tccatgagtg cacagtgcgg ggtgatctt ttctctttt tgtcccttac 1800  
 [0447] tattccagta tgcattttac acaaccagcc atatttgtcc cacacttgtt cttcataactc 1860  
 [0448] cctcgaagct tccctggtca tttcaacatc gataagctt atgtccttcc tattctgtga 1920  
 [0449] gtccagaagc tttctgtatg catggagcc ttgacagctt agaaccatcc cctgcggaaag 1980  
 [0450] agcacctata actgacgagg tcaacccggg ttgcgcattt aagaggtcgg caagatccat 2040  
 [0451] gccgtgtgag tacttggat cttgcttcaa ttgttttga tcaacgggtt ccctgtaaaa 2100  
 [0452] gtgtatgaac tgcccggtct gtgggtggaa aattgctatt tccactggat cattaaatct 2160  
 [0453] accctcaatg tcaatccatg taggagcggtt ggggtcaatt cctcccatga ggtttttaa 2220  
 [0454] aagcattgtc tggctgttagc ttaagccac ctgaggtggc cctgtgcctc caggcgctgg 2280  
 [0455] cctgggtgaa ttgactgcag gtttctcgct tgtgagatca attgttgtgt tttcccatgc 2340  
 [0456] tctccccaca atcgatgttc tacaagctat gtatggccat cttcacctg aaaggcaaac 2400  
 [0457] ttatagagg atgtttcat aagggttctt gtcccaact tggctgaaa caaacatgtt 2460  
 [0458] gagttttctc ttggccccga gaactgcctt caagaggtcc tcgctgtgc ttggcttgat 2520  
 [0459] caaaaattgac tctaacaatgt tacccccattt caacagggtt gccctgcct tcacggcagc 2580  
 [0460] accaagacta aagttatagc cagaaatgtt gatgctggac tgctgttcag tgatgacccc 2640  
 [0461] cagaactggg tgcttgcctt tcagccttcc aagatcatta agattggat acttgactgt 2700

- [0462] gtaaaggcaag ccaaggctcg tgagcgcttg tacaacgtca ttgagcggag tctgtgactg 2760  
[0463] tttggccata caagccatag ttagacttgg cattgtgcca aattgattgt tcaaaagtga 2820  
[0464] tgagtcttc acatccaaa ctcttaccac accacttgca ccctgctgag gctttctat 2880  
[0465] cccaaactatc tgttagatct gagatcttg gtctagttgc tgtgttgta agttcccat 2940  
[0466] atataccctt gaagcctggg gccttcaga cctcatgatc ttggccttca gcttctcaag 3000  
[0467] gtcagccgca agagacatca gttcttcgc actgagccctc cccacttca aaacatttt 3060  
[0468] ctttgatgtt gactttaaat ccacaagaga atgtacagtc tggttgagac ttctgagtct 3120  
[0469] ctgttagtct ttgtcatctc tctttcctt cctcatgatc ctctgaacat tgctgacctc 3180  
[0470] agagaagtcc aaccattca gaaggttggg tgcatcctt atgacagcag cttcacatc 3240  
[0471] ttagtgaag ctctgcaatt ctcttctcaa tgcttgcgtc cattggaagc tcttaacttc 3300  
[0472] ctttagacaag gacatcttgt tgctcaatgg tttctcaaga caaatgcgca atcaaattgcc 3360  
[0473] taggatccac tgtgcg 3376  
[0474] <210> 12  
[0475] <211> 3377  
[0476] <212> DNA  
[0477] <213> 人工序列  
[0478] <220>  
[0479] <223> 淋巴细胞性脉络从脑膜炎病毒克隆13片段S, 全cDNA序列 (GenBank: DQ361065.2)  
[0480] <400> 12  
[0481] ggcgcacccggg gatcctaggc tttttggatt ggcgtttcct ctagatcaac tgggtgtcag 60  
[0482] gcccatttcct acagaaggat gggtcagatt gtgacaatgt ttgaggctct gcctcacatc 120  
[0483] atcgatgagg ttagtcaacat tggcatttatt gtgcattatcg ttagtacacggg tatcaaggct 180  
[0484] gtctacaatt ttgccacactg tggatattc gcattgatca gtttcctact tctggctggc 240  
[0485] aggtccctgtg gcatgtacgg tcttaaggga cccgacattt acaaaggagt ttaccaattt 300  
[0486] aagtcaatgg agtttgatat gtcacatctg aacctgacca tgcccaacgc atgttcagcc 360  
[0487] aacaactccc accattacat cagttatggg acttctggac tagaattgac ctccaccaat 420  
[0488] gattccatca tcagtcacaa cttttgcaat ctgacactcg cttcaacaa aaagacattt 480  
[0489] gaccacacac tcatgagttt agttcgagc ctacacctca gtatcagagg gaactccaaac 540  
[0490] tataaggcag tatcctgcga cttcaacaat ggcataacca tccaataccaa cttgacattc 600  
[0491] tcagatgcac aaagtgcgtca gagccagtgt agaacccatca gaggttagagt cctagatatg 660  
[0492] ttttagaactg cttcgaaaaa gaaatacatg aggagtggct ggggctggac aggctcagat 720  
[0493] ggcaagacca cttgggtgttag ccagacgagt taccaatacc tgattataca aaatagaacc 780  
[0494] tggaaaaacc actgcacata tgcaggctt tttggatgt ccaggattct ctttccaa 840  
[0495] gagaagacta agttcctcac taggagacta ggggcacat tcacctggac tttgtcagac 900  
[0496] tcttcagggg tggagaatcc aggtggttat tgcctgacca aatggatgtat tcttgctgca 960  
[0497] gagcttaagt gttcggaa cacagcgtt gcaaaatgc atgtaaatca tgatgaagaa 1020  
[0498] ttctgtgaca tgctgcact aattgactac aacaaggctg ctttgagtaa gttcaaaagag 1080  
[0499] gacgtagaat ctgccttgca cttattcaaa acaacagtga attcttgat ttcagatcaa 1140  
[0500] ctactgtga ggaaccactt gagagatctg atgggggtgc catattgcaaa ttactcaaaag 1200  
[0501] ttttggtacc tagaacatgc aaagaccggc gaaactagtg tcccaagtg ctggcttgctc 1260  
[0502] accaatggtt cttaacttaaa tgagaccacatc ttcagtgacc aaatgcgaca ggaagccgat 1320

- [0503] aacatgatta cagagatgtt gaggaggat tacataaaga ggcagggag taccccccta 1380  
 [0504] gcattgatgg accttctgat gtttccaca tctgcataatc tagtcagcat cttcctgcac 1440  
 [0505] ctgtcaaaa taccaacaca cagcacata aaaggtggct catgtccaaa gccacaccga 1500  
 [0506] ttaaccaaca aaggaatttgc tagttgtggc gcatttaagg tgcctgggtt aaaaaccgtc 1560  
 [0507] tgaaaagac gctgaagaac agccctccc tgactctcca cctcgaaaga ggtggagagt 1620  
 [0508] cagggaggcc cagagggtct tagagtgtca caacatttgg gcctctaaaa attaggtcat 1680  
 [0509] gtggcagaat gttgtgaaca gtttcagat ctgggagcct tgcttggag gcgcttcaa 1740  
 [0510] aaatgatgca gtccatgagt gcacagtgcg gggtgatctc tttcttctt ttgtccctta 1800  
 [0511] ctattccagt atgcatctt cacaaccagc catatttgc ccacactttg tcttcataact 1860  
 [0512] ccctcgaagc ttccctggtc atttcaacat cgataagctt aatgccttc ctattctgt 1920  
 [0513] agtccagaag ctttctgatg tcatcgagc cttgacagct tagaaccatc ccctgcggaa 1980  
 [0514] gagcacctat aactgacgag gtcaacccgg gttgacgattt gaagaggctg gcaagatcca 2040  
 [0515] tgccgtgtga gtacttgaa tcttgctga attgttttg atcaacgggt tccctgtaaa 2100  
 [0516] agtgtatgaa ctgcccgttc tgtgggttga aaattgctat ttccactgga tcattaaatc 2160  
 [0517] taccctcaat gtcaatccat gtaggagcgt tgggtcaat tcctccatg aggtctttt 2220  
 [0518] aaagcattgt ctggctgttag cttaagccca cctgaggtgg acctgctgct ccaggcgctg 2280  
 [0519] gcctgggtga attgactgca gtttctcgc ttgtgagatc aattgttgc tttccatg 2340  
 [0520] ctctcccac aatcgatgtt ctacaagcta tggatggcca tccttcaccc gaaaggcaaa 2400  
 [0521] ctttatagag gatgtttca taagggttcc tggcccaac ttggctgaa acaaacatgt 2460  
 [0522] ttagtttctt cttggccccc agaactgcct tcaagaggc ttcgctgttgc tttggctgaa 2520  
 [0523] tcaaaattga ctctaacatg ttaccccat ccaacaggc tggccctgccc ttcacggcag 2580  
 [0524] caccaagact aaagttatag ccagaaatgt tggatgttgc ctgctgttca gtgtatgaccc 2640  
 [0525] ccagaactgg gtgctgtct ttcaagccctt caagatcatt aagatttggc tacttgactg 2700  
 [0526] tgtaaagcaa gccaaggctt gtgagcgctt gtacaacgctt attgagcgaa gtctgtact 2760  
 [0527] gttggccat acaagccata gtttagacttgc gcattgtgcc aaattgatttgc ttcaaaatgt 2820  
 [0528] atgagtcttt cacatccaa actttacca caccacttgc accctgctga ggcttctca 2880  
 [0529] tcccaactat ctgttaggatc tggatctt ggtcttagttt ctgtgttgc tttttccca 2940  
 [0530] tatatacccc tgaagcctgg ggccttcag acctcatgtat cttggccctt agcttctcaa 3000  
 [0531] ggtcagccgc aagagacatc agttttctg cactgagcct cccactttc aaaacattct 3060  
 [0532] tcttgatgt tgactttaaa tccacaagag aatgtacatgt ctgggttgc cttctgatgt 3120  
 [0533] tctgttaggtc tttgtcatct ctctttcct tcctcatgtat cctctgaaca ttgctgaccc 3180  
 [0534] cagagaagtc caacccatc agaagggtgg ttgcacccctt aatgacagca gccttcacat 3240  
 [0535] ctgatgtgaa gctctgcaat tctttctca atgcttgcgt ccattggaa ctcttaactt 3300  
 [0536] ccttagacaa ggacatcttgc ttgctcaatg gtttctcaag acaaatgcgc aatcaaatgc 3360  
 [0537] cttagatcca 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病毒株MP片段L, 全cDNA序列  
 [0544] <400> 13

[0545] ggcacccgg gatcctaggc attttggc cgcatgggt tgtgttattt gttgcacagc 60  
[0546] cttcatcg gggacccca caaacaaacc aaaccaccag ccatggccca aggcaagtcc 120  
[0547] aaagaggaa gggatgccag caatacgagc agagctgaaa ttctgccaga caccacctat 180  
[0548] ctcggaccc tgaactgcaa gtcatgctgg cagagattt acagtttagt cagatgccat 240  
[0549] gaccactatc tctgcagaca ctgcctgaac ctgcctgt cagtcctccga caggtgccct 300  
[0550] ctctgcaaac atccattgcc aacccaaactg aaaatatcca cggccccaag ctctccaccc 360  
[0551] cttacgagg agtgcacgccc cgagcccaa caccacaca aggaggccac caacacaacg 420  
[0552] cccaaacacgg aacacacaca cacacaccca cacacacatc cacacacacg cgccccaca 480  
[0553] acggggcgc ccccccggg gtggccccc ggggtctcg gcggagcccc acggagaggc 540  
[0554] caattagtgc atctcctcga ccaccgactt ggtcagccag tcatcacagg acttgccctt 600  
[0555] aagtctgtac ttccccacaa ctgtttcata catcaccgtg ttcttgact tactgaaaca 660  
[0556] tagcctacag tcttggaaag tgaaccagtc aggacacaagt gacagcgta ccagtagaaat 720  
[0557] ggatctatct atacacaact cttggagaat tgtgctaatt tccgaccctt gtagatgctc 780  
[0558] accagttctg aatcgatgta gaagaaggct cccaaggacg tcatcaaaat ttccataacc 840  
[0559] ctcgagctc gccaagaaaa ctctcatatc cttggctcc agttcacaa cgatgttctg 900  
[0560] aacaaggctt cttccctcaa aaagagcacc catttcaca gtcaagggca caggctccca 960  
[0561] ttcaggccca atccctctcaa aatcaaggaa tctgatcccg tccagtattt tccttgagcc 1020  
[0562] tatcagctca agctcaagag agtcaccgag tatcaggggg tcctccatat agtcctcaaa 1080  
[0563] ctcttcagac ctaatgtcaa aaacaccatc gttcacctt aagatagagt ctgatctcaa 1140  
[0564] caggtggagg cattcgtcca agaaccttct gtccaccta ctttaaaga ggtgagagca 1200  
[0565] tgataggaac tcagctacac ctggacccctg taactggcac ttcactaaaa agatcaatga 1260  
[0566] aaacttcctc aaacaatcag tggttattctg gttgtgagtg aaatctactg taattgagaa 1320  
[0567] ctcttagact ccctctgtat tatttatcat gtaatcccac aagtttctca aagactgaa 1380  
[0568] tgccttgga tttgtcaagc cttgtttgat tagcatggca gcattgcaca caatatctcc 1440  
[0569] caatcgtaa gagaaccatc caaatccaaa ttgcaagtca ttcctaaaca tgggcctctc 1500  
[0570] catattttgc ttcaactactt ttaagatgaa tgattggaaa ggccccaatg cttcagcgcc 1560  
[0571] atcttcagat ggcatcatgt ctttatgagg gaaccatgaa aaacttccta gagttctgct 1620  
[0572] tgttgtaca aattctcgta caaatgactc aaaatacact tgttttaaaa agttttgca 1680  
[0573] gacatccctt gtactaacga caaattcatc aacaaggctt gagtcagagc gctgatggg 1740  
[0574] atttacaaga tcagaaaata gaacagtgtc gtgttgtcc ctcttccact taactacatg 1800  
[0575] agaaaatgagc gataaaagatt ctgaattgtat atcgatcaat acgcaaaggta caaggaattt 1860  
[0576] gattctggaa ctccatctca tgggtttgaa gctcatatca gacatgaagg gaagcagctg 1920  
[0577] atcttcatag attttaggt acaatgcct cacagattgg attacatggt ttaaacttat 1980  
[0578] cttgtctcc agtagccttgc aactctcagg ctgccttgc acataatcac atgggttcaa 2040  
[0579] gtgttgttgc cttgagcttc cctcatttcc cccttcaca gggtcagcta agacccaaac 2100  
[0580] acccaactca aaggaattac tcagttagat gcaaatatag tcccaaaggaa ggggcctcaa 2160  
[0581] gagactgatg tggcgtcagt gagttctgg atgacttgc ctgtcacaaa tgtacaacat 2220  
[0582] tatgcacatca tggcgtgaa ttgcgtcact atgcacatcc atagcttagat cctcaagcac 2280  
[0583] ttttctaattg tatagattgt cccttattttt atttctcaca catctacttc ccaaagttt 2340  
[0584] gcaaagaccaataaaggctt atgagatgca actttgaaag gctgactttagt tgattgttcc 2400  
[0585] tgacagcaac ttctgtgcac ctcttggaa cttactgcag agcttggttct ggagtgttcc 2460  
[0586] gattaatgtat gggattctt cctcttggaa agtcattact gatggataaa ccacttctg 2520

[0587] cctcaagacc attcttaatg ggaacaactc attcaaattc agccaattta tgtttgc当地 2580  
 [0588] ttgacttaga tcctcttgc当地 ggccaaggat gtttcccaac tgaagaatgg cttccctt当地 2640  
 [0589] atcccttattg aagaggctta agaagaattc ttcatgtac tcaccattct tgagctt当地 2700  
 [0590] atgttagtctc cttacaagcc ttctcatgac cttcgttca ctaggacaca attctt当地 2760  
 [0591] aagccttgg attctgttaac ctctagagcc atccaaccaa tccttgacat cagtattag 2820  
 [0592] gtaagcaaa aatgggtcca agggaaagtt ggcataat当地 aagaggctta atgttctt当地 2880  
 [0593] ctggatgcag tttaccaatg aaactggaac accatttgca acagcttgat cggcaattg 2940  
 [0594] atctattgtt tcacagagtt ggtgtggctc tttacactta acgttgatgta atgctgctg 3000  
 [0595] cacaat当地 gttaaaatgt ggacctctc cccccacaca taaaatctgg atttaaattc 3060  
 [0596] tgcatgcaat cgccccacca cactttcgg actgtatgaa ttgttaagca agccactcaa 3120  
 [0597] atgagaatga aattccagca atacaaggac ttccctcaggg tcactatcaa ccagttcact 3180  
 [0598] caatctccta tcaaataagg tgatctgatc atcaattgat gtgttaagatt ctggctctc 3240  
 [0599] accaaaaatg acaccgatac aataattaat gaatctctca ctgattaagc cgtaaaatg 3300  
 [0600] agaggcatta tgtaagattc cctgtcccat gtcaatgaga ctgcttat当地 gggaggc 3360  
 [0601] tattcctaatt tcaaaatatt ctgaaagat tcttcagtc acagttgtct ctgaaccct 3420  
 [0602] aagaagttt agctttgatt tgatatatga tttcatcatt gcattcaca cagaaaaagg 3480  
 [0603] gacctaaca agtttgca tggtccaaatgtaataaggta ctgatatgat ctttccg 3540  
 [0604] acgcacatac tggcatcac ccagttttagg atttgaagg agcattaaaa acaaaaaatg 3600  
 [0605] gcacatcatt ggccccatt tgctatgatc catactgtat ttcaacaacc cctctcg 3660  
 [0606] attgtggtc attgatagaa ttgcatttc aaattcttgc tcatgttta agcatgaaacc 3720  
 [0607] tgagaagaag ctagaaaaag actcaaaata atcctctatc aatctgtta acattttgc 3780  
 [0608] tctcaaattcc ccaatataaa gttctctgtt tcctccaacc tgctttgtt atgataacgc 3840  
 [0609] aaactcaac cttccggat caggaccaac tgaagtgtat gacgttggtg actcctctg 3900  
 [0610] gtaaaaacat aaattcttta aagcagcaact catgcattt gtcaatgata gagccttact 3960  
 [0611] tagagactca gaattactt cccttcact aattctaaca tcttcttca gtttgc当地 4020  
 [0612] gtcaaacttgc aaattcagac ctgtctttg catgtgcctg tattccctg agtatgcatt 4080  
 [0613] tgcatcatt tgcatgatc ttcatcttcat acacgaaaac caatcaccct ctgaaaaaaaa 4140  
 [0614] cttccctgc当地 aggtttttg ccatttcact cagaccacat tgttcttgc当地 cagctgaatg 4200  
 [0615] gaaatacaat ggtgacagtt ctgttagat ttcaatagcc tcacagataa atttcatgtc 4260  
 [0616] atcattggc当地 agacaagatg ggtcaaaccatc ttccacaaga tgaaaagaaa ttctgtataa 4320  
 [0617] gatgaccctc cttaaatatg ccattttacc tgacaatata gtctgaaggt gatgcaatcc 4380  
 [0618] tttgtat当地 tcaaaccctt cctcatttcc cccttcatttgc ttctcttgc ttcttcata 4440  
 [0619] ccgcttattt gtggagttga ccttatcttca taaattcttgc当地 aagaaaacttgc当地 tctcttcttca 4500  
 [0620] cccatcaaag catatgtctg ctgagtcacc ttcttagttc ccagttctg ttctttaga 4560  
 [0621] gcccataacc aatcttagaga ccaacttgc当地 aaccttgc当地 tcgtatctg agtggccaa 4620  
 [0622] tttgtacttc tgcttctca tgaagctctc tgcgtatctgatc ctcacagcac taacaaggca 4680  
 [0623] tttgttaaaa tcatactcttgc当地 ggagccgttcccccattt当地 tggtttttaa caaccacact 4740  
 [0624] ttgttgctg gcaaggctta atgctgttgc acacccagag ttagtcatgg gatccaagct 4800  
 [0625] attgaggctc ttctccctt tgaaaatcaa agtgc当地 catttgc当地 ttgaatgagg acaccatcat 4860  
 [0626] gctaaaggcc tccagatttgc当地 cacctgggttgc当地 cagtc当地 acttccagg 4920  
 [0627] gaacttcttgc当地 atttggctat aaaaaacaca ctcttc当地 cttccagg 4980  
 [0628] gttaaacaaag aagccaaact cacttttagg ctcaaagaat ttctcaaagc atttaat当地 5040

- [0629] atctgtcagc ctatcagggg tttcctttgt gattaaatga cacaggtatg acacattcaa 5100  
 [0630] catgaacttg aactttgcgc tcaacagtac ctttcacca gtccaaaaa cagtttgat 5160  
 [0631] caaaaatctg agcaatttg acactactt ctcagcaggt gtgatcaa at cctcattcaa 5220  
 [0632] ctgtccatc aatgatgtgg atgagaagtc tgagacaatg gccatcacta aataccta 5280  
 [0633] gtttgaacc tgttttgat tcctttgt tgggtggg agcatgagta ataatagggt 5340  
 [0634] tctcaatgca atctcaacat catcaatgct gtccttcaag tcaggacatg atctgatcca 5400  
 [0635] tgagatcatg gtgtcaatca tgggtgcaa cacttcatct gagaagattg gtaaaaagaa 5460  
 [0636] ccttttggg tctgcataaaa aagagattg atggccattt ggacccgtt tagaataaca 5520  
 [0637] cttgaggat tctccatct tttgatacag caggtgatat tcctcagagt ccaattttat 5580  
 [0638] cacttggcaa aataccttt tacattccac cacttgatac cttacagagc ccaattgggt 5640  
 [0639] ttgtcttaat ctagcaactg aacttgggg catactgttt gtcaagacta gacagacaga 5700  
 [0640] tgacaatctt ttcaaaactat gcatgttcc taattgttcc gtattaggct ggaaatcata 5760  
 [0641] atctcaaaac ttgtataat acattatagg atgagttccg gacccatga aattctcaaa 5820  
 [0642] ctcaataaaat ggtatgtggc actcatgctc aagatgtca gacagaccat agtgcacaaa 5880  
 [0643] actaagtccc accactgaca agcaccttg aactttaaa atgaactcat ttatggatgt 5940  
 [0644] tctaaacaaa tcctcaagag ataccttctt atacgcctt gacttctcc tggcccttag 6000  
 [0645] aagtctgatg aacttccct tggtgctatg aaagctcacc aacctatcat tcacactccc 6060  
 [0646] atagcaacaa ccaaccagg gcttattcatt tttgaccct ttgagtttag actgtttatgt 6120  
 [0647] caacgaagag agacacaaga catccaaatt cagtaactgt ctccctctgg tggcaataa 6180  
 [0648] ttttaaactt ttaactttgt tcaacataga gaggaggcctc tcataactcag tgctagtctc 6240  
 [0649] acttcctctc tcataaccat ggttatctgc tgtgataaat ctcatcaag gacaggattc 6300  
 [0650] aactgcctcc ttgcttagt ctgaaatgtc atcactgtca gcaagagtct cataaagctc 6360  
 [0651] agagaattcc ttaattaaat ttccggggtt gatttctga aaactcctct tgagctccc 6420  
 [0652] agtttccaag tctttctaa acctgctgt aaggaggtt atgccaagaa ccacatcatc 6480  
 [0653] gcagttcatg tttgggttga caccatcatg gcacatttc ataattcat cattgtgaaa 6540  
 [0654] tcatcttgc tcttcataaga tttcataga gtctataccg gaacgctt caacagtgg 6600  
 [0655] cttgagagat tcgcaaaatc tgaagtactc agattcctca aagacttct catcttggct 6660  
 [0656] agaatactct aaaagttaa acagaaggc tctgaactt aaattcacc actctggcat 6720  
 [0657] aaagctgtta tcataatcac accgaccatc cactattggg accaatgtga tacccgcaat 6780  
 [0658] ggcaggctc tctttgatac aggctgtttt attgggttcc tctataatt tcttcataaa 6840  
 [0659] actagctggt gtgcttctaa cgaagcactc aagaagaatg aggaaattgt caatcagttt 6900  
 [0660] ataaccatca ggaatgatca aaggcacttcc cgggcacaca atcccagact ctattagaat 6960  
 [0661] tgcctcaaca gatttatcat catgggtgt tatgcagccg ctctgtcag cactgtctat 7020  
 [0662] ctctatacaa cgcgacaaaaa gttgagttcc ctctatcaat accattctgg gttctttt 7080  
 [0663] ccctaaaaag ttgagcttgc ccttcatact tggctatgt gtttaagca 7140  
 [0664] caactctctc aactccgaaa tagcctcatc cattgcgcataaaaaagcct 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病毒株MP片段S, 全cDNA序列
- [0672] <400> 14
- [0673] cgcacccggg atcctaggct tttggattt cgcttcctc agctccgtct tgtggagaaa 60
- [0674] tgggtcaaat tgtgacgatg tttgaggctc tgcctcacat cattgatgag gtcattaaca 120
- [0675] ttgtcattat cgtgcttatt atcatcacga gcatcaaagc tgtgtacaat ttgcaccc 180
- [0676] gcggttacta tgcattgatc agctttctt ttctggctgg caggtcctgt ggaatgtatg 240
- [0677] gtcttgatgg gcctgacatt tacaaagggg tttaccgatt caagtcagt gaggttgaca 300
- [0678] tgtcttacct taacctgacg atgcccattt catgttcggc aaacaactcc catcattata 360
- [0679] taagtatggg gacttctgga ttggagttaa ctttcacaaa tgactccatc atcaccac 420
- [0680] actttgtaa tctgacttcc gccctcaaca agaggactt tgaccacaca cttatgagta 480
- [0681] tagtctcaag tctgcaccc agcatttagag gggtccccag ctacaaagca gtgtcctgtg 540
- [0682] atttaacaa tggcatcaact attcaataca acctgtcatt ttctaatgca cagagcgctc 600
- [0683] tgagtcaatg taagacccctc agggggagag tcctggatat gttcagaact gctttggag 660
- [0684] gaaaagtacat gaggagtggc tggggctgga caggttcaga tggcaagact acttggtgca 720
- [0685] gccagacaaa ctaccaatctt ctgattatac aaaacaggac ttggaaaac cactgcagg 780
- [0686] acgcaggccc ttccggatg tctagaattt ctttcgctca agaaaagaca aggtttctaa 840
- [0687] cttagaggct tgccggcaca ttcaacttggc ctttacatcata ctcatcagga gtggagaatc 900
- [0688] caggtggta ctgcatttgc aagtggatg tcctcgctgc agagctcaag tggtttggg 960
- [0689] acacagctgt tgccaaagtgc aatgtaaatc atgatgaaga gttctgtat atgctacgac 1020
- [0690] tgattgatta caacaaggct gcttggat aattcaaaaga agatgtgaa tccgctctac 1080
- [0691] atctgttcaa gacaacagtg aattcttgc tttctgtatca gctttgtat agaaatcacc 1140
- [0692] taagagactt gatgggatgt ccatactgca attactcgaa attctggat ctagagcatg 1200
- [0693] caaagactgg tgagactgt gtcccaagt gctggctgt cagcaatggc tcttatttgc 1260
- [0694] atgaaaccca ttccggcgcac caaatttgc aggaaggcaga taatatgatc acagaaatgc 1320
- [0695] tgagaaagga ctacataaaa aggcaaggga gtaccctct agccttgc gatctatttgc 1380
- [0696] tttttctac atcagcatat ttgtatcgc tcttctgc tcttgcagg ataccaacac 1440
- [0697] acagacacat aaaggccgc tcatgccc aaccacatcg gttaccaggc aaggaaatct 1500
- [0698] gtagttgtgg tgccattttaa gtaccaggatg tggaaaccac ctggaaaaga cgctgaacag 1560
- [0699] cagcgcctcc ctgactcacc acctcgaaag aggtggatg tcaggaggc ccagagggtc 1620
- [0700] tttaggtgtt acgacatttgc gaccccttgc gattaggatca tgtggatgaa tattgtggac 1680
- [0701] agttttcagg tcggggagcc ttgccttgc ggcgtttca aagatgatac agtccatgag 1740
- [0702] tgcacagtgtt ggggtgaccc ctttttttt cttgtccctc actattccatg tttgtcatctt 1800
- [0703] gcatagccag ccatatttgc cccagacttt gtcctcatat tcttttgc gttttttgt 1860
- [0704] catctcaaca tcgatgatgtt taatgtctt tctgtttgtt gatcttagga gttccctgtat 1920
- [0705] gtcatcagat ccctgacaac ttaggaccat tccctgtggc agagcaccta ttactgaaga 1980
- [0706] tgtcagccca ggttgtgc tgaagaggc agcaagggtcc atgcctatgt agtattttggc 2040
- [0707] gtcctgcttgc aattgtttt gatcaggatggg ttctctatag aaatgtatgt actgcccatt 2100
- [0708] ctgtggctga aatatttgc ttttaccgg gtcattaaat ctgcctcaaa tgtcaatcca 2160
- [0709] tgttaggagcg ttagggtcaa tacccat gaggtccttc agcaacatttgc tttggctgt 2220
- [0710] gcttaagccca acctgaggatg ggcccgctgc cccaggcgtt ggttgggtg agttggccat 2280
- [0711] aggccctctca tttgtcagat caattgttgc gttctccat gctccctca caactgtatgt 2340
- [0712] tctacaagct atgtatggcc accccctcccc tggaaagacag acttggatgaa ggttgc 2400

[0713] gtaaggattc ctgtctccaa cctgatcaga aacaaacatg ttgagttct tcttggcccc 2460  
 [0714] aagaactgct ttcaggagat cctcaactgtt gcttggctta attaagatgg attccaacat 2520  
 [0715] gttaccccca tctaacaagg ctgccccgtc tttcacagca gcaccgagac taaaattgtt 2580  
 [0716] gccagatatg ttgatgctag actgctgctc agtcatgact cccaagactg ggtgcttgc 2640  
 [0717] tttcagcctt tcaaggtcac ttagttcgg gtacttgact gtgtaaagca gcccaaggc 2700  
 [0718] tgtgagtgc tgcacaacgt cattgagtga gttttgtat tggtggcca tacaagccat 2760  
 [0719] tgtaagctt ggcattgtgc cgaattgatt gttcagaagt gatgagtccct tcacatccca 2820  
 [0720] gaccctcacc acaccattt cactctgctg aggtctccctt attccaacca tttgcagaat 2880  
 [0721] ctgagatctt tggtaagctt gttgtgtgt taagttcccc atgttagactc cagaagttt 2940  
 [0722] aggccttca gacctcatga ttttagcctt cagttttca aggtcagctg caagggacat 3000  
 [0723] cagttcttct gcactaagcc tccctacttt tagaacattt tttttgtat tgacttttag 3060  
 [0724] gtccacaagg gaatacacag tttgggttagt gcttctgagt ctctgtaaat ctttgtcatt 3120  
 [0725] cctcttctt ttcctcatga tcctctgaac attgctcacc tcagagaagt ctaatccatt 3180  
 [0726] cagaaggctg gtggcatctc tgcacacagc agcttcaca tctgtatgtga agccttgaag 3240  
 [0727] ctctctcctc aatgcctggg tccattgaaa gcttttaact tcttggaca gagacatttt 3300  
 [0728] gtcactcagt ggatttccaa gtcaaatgcg caatcaaaat gccttaggatc 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	240
[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	320
[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	400
[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	480
[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		
[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
[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
[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
[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
[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
[0884]	1	5	10
[0885]	Ala	Ile	Ser
[0886]	Glu	Leu	Arg
[0887]	Arg	Glu	Leu
[0888]	Pro	Asp	Ile
[0889]	Asp	Glu	Ile
[0890]	Ile	Glu	Ile
[0891]	Asp	Ile	Asp
[0892]	Asp	Asp	Ser
[0893]	Ile	Asp	Ala
[0894]	Asp	Asp	Asp
[0895]	Ile	Ile	Asp
[0896]	Leu	Leu	Lys
[0897]	Glu	Leu	Leu
[0898]	Leu	Glu	Ile
[0899]	Ile	Ile	Ile
[0900]	Ala	Ala	Gly
[0901]	Ile	Ile	Ile
[0902]	Gly	Ile	Thr
[0903]	Ile	Ile	Asn
[0904]	Ile	Ile	Asn
[0905]	Ile	Ile	Asn
[0906]	Ile	Ile	Asn
[0907]	Ile	Ile	Asn
[0908]	Ile	Ile	Asn
[0909]	Ile	Ile	Asn
[0910]	Ile	Ile	Asn
[0911]	Ile	Ile	Asn
[0912]	Ile	Ile	Asn
[0913]	Ile	Ile	Asn
[0914]	Ile	Ile	Asn
[0915]	Ile	Ile	Asn
[0916]	Ile	Ile	Asn
[0917]	Ile	Ile	Asn
[0918]	Ile	Ile	Asn
[0919]	Ile	Ile	Asn
[0920]	Ile	Ile	Asn
[0921]	Ile	Ile	Asn
[0922]	Ile	Ile	Asn

[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
[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
[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
[0953]	560		
[0954]	His Leu Ile Ser Phe Tyr Ala Asp Pro Lys Arg Phe Phe Leu Pro Ile		
[0955]	565	570	575
[0956]	Phe Ser Asp Glu Val Leu His Asn Met Ile Asp Thr Met Ile Ser Trp		
[0957]	580	585	590
[0958]	Ile Arg Ser Cys Pro Asp Leu Lys Asp Ser Ile Asp Asp Val Glu Ile		
[0959]	595	600	605
[0960]	Ala Leu Arg Thr Leu Leu Leu Met Leu Thr Asn Pro Thr Lys Arg		
[0961]	610	615	620
[0962]	Asn Gln Lys Gln Val Gln Asn Ile Arg Tyr Leu Val Met Ala Ile Val		
[0963]	625	630	635
[0964]	Ser Asp Phe Ser Ser Thr Ser Leu Met Asp Lys Leu Lys Glu Asp Leu		
	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
[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
[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
[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
[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] ggcgcacgggg gatcctaggc gtaacttcat cattaaaatc tcagattctg ctctgagtgt 60
- [1197] gacttactgc gaagaggcag acaaatggc aactgcaacg gggcatccaa gtctaaccag 120
- [1198] ccagactcct caagagccac acagccagcc gcagaattta ggagggttagc tcacagcagt 180
- [1199] ctatatggta gatataactg taagtgcgc tggtttgctg ataccaattt gataacctgt 240
- [1200] aatgatcaact acctttgttt aaggtgccat cagggtatgt taaggaattc agatctctgc 300
- [1201] aatatctgct ggaagccctt gcccaccaca atcacagtagc cggtggagcc aacagcacca 360
- [1202] ccaccatagg cagactgcac agggtcagac ccgacccccc ggggggcccc catggggacc 420
- [1203] ccccggtgggg gaaccccggg ggtgatgcgc cattagtcaa tgtcttgat ctcgactttg 480
- [1204] tgcttcagtg gcctgcatgt cacccttgc aatctgaact gcccttgggg atctgatatac 540
- [1205] agcaggtcat ttaaagatct gctgaatgcc accttgaaat ttgagaattc caaccagtca 600
- [1206] ccaaatttat caagtgaacg gatcaactgc tctttgtgta gatcataaac gaggacaaag 660
- [1207] tcctcttgct gaaataatat tggttgtgat gttgttttta gataaggcca tagttggctt 720
- [1208] aataagggttt ccacactatc aatgtcctct agtgctccaa ttgccttgac tatgacatcc 780
- [1209] ccagacaact caactctata tggacaac ctttcattac ctctgtaaaa gataccctct 840
- [1210] ttcaagacaa gaggttctcc tggtttatct ggcacatga ggtcatatgc atacttgttta 900
- [1211] cttagttcag aataaaagtc accaaagttg aacttaacat ggctcagaat attgtcatca 960
- [1212] tttgtcgag cgtagcctgc atcaataaac aagccagcta ggtcaaagct ctcattggct 1020
- [1213] gtgaacaatg gtaggcttagc gataaccagt gcaccatcca acaatgagtg gttccctca 1080
- [1214] gacccagaaaa cacattgact catgcattcc acattcagct ctaattcagg ggtaccgaca 1140
- [1215] tcatccactc ctagtgaact gacaatggtg taactgtaca ccatcttct tctaagttta 1200
- [1216] aattttgtcg aaactcgtgt gtgttctact tgaatgatca atttttagttt cacagcttct 1260

[1217] tggcaagcaa cattgcgcaa cacagtgtgc aggtccatca tgtcttcctg aggcaacaag 1320  
 [1218] gagatgttgt caacagagac accctaagg aaaaccttga tattatcaaa gctagaaact 1380  
 [1219] acataaccca ttgcaatgtc ttcaacaaac attgctctt atacttttatt attcctaact 1440  
 [1220] gacaaggtaa aatctgtgag tttagctaga tctacttgac tgtcatctc tagatctaga 1500  
 [1221] acttcattga accaaaagaa ggatttgaga cacgatgtt acatgactag tgggttatac 1560  
 [1222] atcgaagata agacaactt caccatgaag ttccctgaaa cttgtgtgg gctgatgcca 1620  
 [1223] acttcccaat ttgtataactc tgactgtcta acatggctg aagcgcaatc actctgtttc 1680  
 [1224] acaatataaa cattattatc tcttacttca aataagtgc ttataatccc taagtttca 1740  
 [1225] ttcatcatgt ctagagccac acagacatct agaaacttga gtcttccact atccaaagat 1800  
 [1226] ctgttcactt gaagatcatt cataaagggt gccaaatgtt cttcaaatacg tttgggtaa 1860  
 [1227] tttcttcgta tagaatgcaa tacatggttc atgcctaatt ggtcttctat ctgtcgtaact 1920  
 [1228] gcttgggtt taacagccca gaagaaattc ttattacata agaccagagg ggcctgtgga 1980  
 [1229] ctcttaatag cagaaaacac ccactccct aactcacagg cattgtcag cacaaagag 2040  
 [1230] aagtaatccc acaaaattgg ttttagaaaat tggtaactt cttaagtga ttttgacag 2100  
 [1231] taaataactt taggcttct ctcacaaattt ccacaaagac atggcattat tcgagtaat 2160  
 [1232] atgccttta tatacagaaa tccgcctta ccatccctaa cacacttact cccctactc 2220  
 [1233] ttacaaaacc caatgaagcc tgaggcaaca gaagactgaa atgcagattt gttgattgac 2280  
 [1234] tctgccaaga tcttcttcac gcctttgtt aaatttcttgc acaggctgga ctgtattgtc 2340  
 [1235] ctatcaatg ttggcatctc ttcttctt aacactctt gactgtcat gagttggc 2400  
 [1236] ctcaagacca acctaagtc cccaaagctc gctaaattga cccatctgta gtctagagtt 2460  
 [1237] tgtctgattt catcttcact acacccggca tattgcagga atccggataa agcctcatcc 2520  
 [1238] cctccctgc ttatcaagtt gataagggtt tcctcaaaga tttgcctct cttatgtca 2580  
 [1239] ttgaacactt tcctcgccca gttccttata aacattgtct cttatcatc agaaaaaaata 2640  
 [1240] gcttcaattt tcctctgttag acggtaccct ctagaccat caacccagtc tttgacatct 2700  
 [1241] tttcttcaa tagtccaaa cggagtctct ctgtatccag agtataat caattgggtt 2760  
 [1242] actctaattgg aaatcttga cactatatga gtgctaacc cattagcaat acattgatca 2820  
 [1243] caaattgtgt ctatggctc tgacagttt gttggagttt tacacttaac gttgtgtaga 2880  
 [1244] gcagcagaca caaacttggt gagtaaagga gtctttcac ccatacaca aaatcttgc 2940  
 [1245] tttaactcag caacaaaagt tcctatcaca ctcttggc tgataaactt gtttaatttta 3000  
 [1246] gaagataaga attcatggaa gcacaccatt tccagcagg ctgtctgtc ttgaaacttt 3060  
 [1247] tcatcactaa ggcaaggaat tttataagg ctaaccttgc catcgctgga ggtataagt 3120  
 [1248] acaggatca catcataca taagtcaagt gcataacaca gaaattgttc agtaattagc 3180  
 [1249] ccatataaat ctgatgtgtt gtgcaagatt ccctggccca tgtccaagac agacattata 3240  
 [1250] tggctgggaa cctggccct tgactgcaga tactggtaaa aaaacttttca accaacaacta 3300  
 [1251] gtacagtacca aacccattaa acctaaagat ctcttcaatt tccctacaca gttaggctt 3360  
 [1252] gcaacattaa ttggaacttc aacgacccat tgaagatgcc atttgagaat gttcattact 3420  
 [1253] ggtcaagat tcaccttgc tctatctctg ggattctca attctaattgt gtacaaaaaaa 3480  
 [1254] gaaaggaaaa gtgctggct catagttggt ccccatgg agtggcata tgaacaggac 3540  
 [1255] aagtccatc tgttaacagc cattttcata tcacagattt cacgttcgaa ttcctttct 3600  
 [1256] gaattcaagc atgtgttattt cattgaacta cccacagttt ctgagaagtc ttcaactaac 3660  
 [1257] ctggcatca gcttagtgtt gaggctccc acatacagtt ctcttatttga gccaacactg 3720  
 [1258] tccttataac ttagtccaaa ttcaagtgc cctgtatttgc agtctgatgtc tgtgaactct 3780

[1259] gtaggagagt cgtctgaata gaaacataaa ttccgtaggg ctgcattgt aaaataact 3840  
 [1260] ttgtctagct tatcagcaat ggcttcagaa ttgcttccc tggactaag ccgaacctca 3900  
 [1261] tccttagtc tcagaacttc actggaaaag cccaatctag atctacttct atgctcataa 3960  
 [1262] ctacccaatt tctgatcata atgtccttga attaaaagat acttgaagca ttcaaagaat 4020  
 [1263] tcatcttctt ggtaggctat tgtgtcaaa ttttttaata acaaacccaa agggcagatg 4080  
 [1264] tcctgcggtg cttcaagaaa ataagtcaat ttaaatggag atagataaac agcatcacat 4140  
 [1265] aactctttat acacatcaga cctgagcaca tctggatcaa aatccttcac ctcatgcatt 4200  
 [1266] gacacctctg cttaatctc tctcaacact cccaaagggg cccacaatga ctcaagagac 4260  
 [1267] tctcgctcat caacagatgg atttttgat ttcaacttgg tgatctcaac ttttgcctt 4320  
 [1268] tcactattag ccatcttggc tagtgtcatt tgtacgtcat ttctaatacc ctcaaaggcc 4380  
 [1269] ctacttgat cctctgttaa actctcatac atcaactgata attcttctt attgggtctg 4440  
 [1270] gttcttgaac cggtgctcac aagacctgtt agatttta atattaagta gtccatggaa 4500  
 [1271] tcaggatcaa gattatacct gcctttgtt ttaaacctct cagccatagt agaaacgcac 4560  
 [1272] gttgaaacaa gtttctcctt atcataaaaca gaaagaatat ttccaagttc gtcgagctt 4620  
 [1273] gggattacca cactttatt gcttgacaga tccagagctg tgctgtatgat gttggcctg 4680  
 [1274] tagggattgc tttcagttc acctgtact ttaagtcttc ctctattgaa gagagaaaatg 4740  
 [1275] cagaaggaca aaatctctt acacactcct ggaatttgag tatctgagga agtcttagcc 4800  
 [1276] tctttggaaa agaatctgtc caatcctt atcatgggt cctttgttc cagtgatgaa 4860  
 [1277] ctccccactta gaggggggtt tacaacaaca caatcaaact tgactttggg ctcaataaaac 4920  
 [1278] ttctaaaaac actttatttgc atctgtcagg cgatcagggtg tctctttgtt taccaagtga 4980  
 [1279] cacagataac taacattta tagatattta aaccttctt caaagtaaag atctgcacat 5040  
 [1280] tcccctcac cccaaattgt ctggaaaagt tccacagcca tcctctgaat cagcacctct 5100  
 [1281] gatccagaca tgcagtcac ccttaacttt gacatcaaact ccacatgatg gatttgattt 5160  
 [1282] gcatatgcca tcaagaaata tcttagacct tgtaaaaatg tctggttcct tttgaaagg 5220  
 [1283] gaacagagta cagctaacaac taacaatctt aatattggcc ttgtcattgt catgagttcg 5280  
 [1284] tggctaaaat ccaaccagct ggtcatttcc tcacacattt caattaacac atcctccgaa 5340  
 [1285] aatataggca ggaaaaatct ctttggatca cagtaaaaag agccttggc ttccaataacc 5400  
 [1286] ccattgtatgg atagatagat agaatagcac cttgacttct cacctgtttt ttggtaaaac 5460  
 [1287] aagagaccaa atgtattttt tgtcagatga aatctttgtt cataacactc tcttagtcta 5520  
 [1288] acattcccaa aatatctaga atactctt tcattgatta acaatcgaa gaaaaatgt 5580  
 [1289] gtcttcatcg agttgaccaa tgcaaggaa atggaggaca aaatcctaaa taatttctt 5640  
 [1290] tgctcacctt ccactaaatg gctgaatggc tgatgtctac agatttctc aaattcctt 5700  
 [1291] ttaatagttat atctcatcac tggctgtca gaaacaagtg cctgagctaa aatcatcaag 5760  
 [1292] ctatccatat cagggtgttt tattagttt tccagctgtg accagagatc ttgatgagag 5820  
 [1293] ttcttcataatg ttctggaaaca cgcttgaacc cacttggggc tggcatcaa ttcttcctt 5880  
 [1294] attagttaa tcgcctccag aatatctaga agtctgtcat tgactaacat taacattgt 5940  
 [1295] ccaacaacta ttcccgatt tcttaacctt acaattgcat catcatcggt tttgaaaaga 6000  
 [1296] tcacaaagta aattgagtaa aactaagtcc agaaacagta aagtgttct cctgggtttg 6060  
 [1297] aaaacttttta gaccttcac tttgttacac acggaaagg cttgaagata acacctctct 6120  
 [1298] acagcatcaa tagatataga attctcatct gactggctt ccatgttgc ttcatctatt 6180  
 [1299] ggatgcaatg cgatagagta gactacatcc atcaacttgt ttgcacaaaa agggcagctg 6240  
 [1300] ggcacatcac tgtcttgcgt gttcctaat aagatcaatg cattataag cttagacttt 6300

- [1301] tgtgaaaatt tgaattccc caactgcttg tcaaaaatct ccttcttaaa ccaaaacctt 6360  
 [1302] aactttatga gttcttcct tatgacagat tctctaattt ctccctcaac cccaaacaaag 6420  
 [1303] agggattcat ttaacctctc atcataaccc aaagaattct tttcaagca ttcgatgtt 6480  
 [1304] tctaattccca agctctggtt tttgtgttg gacaaactat ggataatcg ctggattct 6540  
 [1305] ttttcttcaa tattaatctc ttgcataaat tttgatttct ttaggatgtc gatcagcaac 6600  
 [1306] caccgaactc ttcaacaac ccaatcagca aggaatctat tgctgttagt agatctgcca 6660  
 [1307] tcaaccacag gaaccaacgt aatccctgcc ctttagtagt cgacttttag gtttaagagc 6720  
 [1308] tttgacatgt cactttcca ttttctctca aactcatcag gattgaccct aacaaagggt 6780  
 [1309] tccaatagga tgagtgttt ccctgtgagt ttgaagccat ccggaatgac ttttggagg 6840  
 [1310] gtgggacata gtatgccata gtcagacagg atcacatcaa caaacttctg atctgaattt 6900  
 [1311] atctgacagg cgtgtgcctc acaggactca agctctacta aacttgacag aagtttgaac 6960  
 [1312] ctttccaaca acagagagct ggggtgatgt tgagataaaa agatgtccct ttggtatgt 7020  
 [1313] agtcctgtc ttctggaaa atgcttcta ataaggctt ttatttcatt tactgattcc 7080  
 [1314] tccatgctca agtgcgcctt 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] ggcgcacccggg gatcctaggc gatTTgggt acgtataat tgtaactgtt ttctgtttgg 60  
 [1323] acaacatcaa aaacatccat tgcacaatgg ggcagttcat tagcttcatg caagaaatac 120  
 [1324] caacctttt gcaggaggct ctgaacattt ctcttggc agtcgtctc attgcacatca 180  
 [1325] ttaagggtat agtgaacttg tacaAAAGTG gtttattcca attcttgc ttcctagcgc 240  
 [1326] ttgcaggaag atcctgcaca gaagaagctt tcaAAATCgg actgcacact gagttccaga 300  
 [1327] ctgtgtcctt ctcaatgggtt ggtctttt ccaacaatcc acatgaccta ctttgggtt 360  
 [1328] gtacctaaa caagagccat cttacatta aggggggcaa tgcttcattt cagatcagct 420  
 [1329] ttgatgatat tgcagtattt ttgccacagt atgatgttat aatacaacat ccagcagata 480  
 [1330] tgagctgggtt ttccaaaagt gatgatcaaa ttgggttgc tcagtggttc atgaatgct 540  
 [1331] tgggacatga ttggcatcta gacccaccat ttctgtgttag gaaccgtgca aagacagaag 600  
 [1332] gcttcatctt tcaagtcaac acctccaaga ctgggtcaaa tggaaattat gctaagaagt 660  
 [1333] ttaagactgg catgcatcat ttatatacgaa aatatcctga cccttgctt aatggcaaac 720  
 [1334] tggcttaat gaaggcacaac cttaccagtt ggcctctcca atgtccactc gaccacgtt 780  
 [1335] acacattaca ctcccttaca agaggtaaaa acattcaact tccaaggagg cccttggaa 840  
 [1336] cattcttctc ctggtcttgc acagactcat ccggcaagga taccctggaa ggctattgtc 900  
 [1337] tagaagagtgt gatgctcgta gcagccaaaa tgaagtgttt tggcaataact gctgttagcaa 960  
 [1338] aatgcaattt gaatcatgac tctgaattct gtgacatgtt gaggctttt gattacaaca 1020  
 [1339] aaaatgctat caaaacccta aatgatgaaa ctaagaaaca agtaaatctg atggggcaga 1080  
 [1340] caatcaatgc cctgatattt gacaattttt tgatgaaaaa caaaatttagg gaactgatga 1140  
 [1341] gtgtccctta ctgcaattac acaaattttt ggtatgtcaa ccacacactt tcaggacaac 1200  
 [1342] actcattacc aagggtctgg ttaataaaaaa acaacagctt tttgaacatc tctgacttcc 1260

- [1343] gtaatgactg gatattagaa agtacttct taatttctga aatgctaagc aaagagtatt 1320  
 [1344] cgacaggca gggtaaaact ccttgactt tagtgacat ctgtatttgg agcacagtt 1380  
 [1345] tcttcacagc gtcactcttc cttcaacttgg tgggtatacc ctcccacaga cacatcaggg 1440  
 [1346] gcaagcatg cccttgcca cacaggttga acagcttggg tggtgcaga tgtggtaagt 1500  
 [1347] accccaatct aaagaaacca acagttggc gtagaggaca ctaagacctc ctgagggtcc 1560  
 [1348] ccaccagccc gggcaactgccc cgggctgggt tggcccccga gtccgcggcc tggccgcgg 1620  
 [1349] ctggggaggc actgcttaca gtgcataaggc tgccttcggg aggaacagca agctcggtgg 1680  
 [1350] taatagaggt gtaggttccct cctcatagag cttcccatct agcactgact gaaacattat 1740  
 [1351] gcagtcttagc agagcacagt gtggttcaact ggaggccaa ttgaaggag tatcctttc 1800  
 [1352] cctcttttc ttattgacaa ccactccatt gtgatatttgc cataagtgcac catatttctc 1860  
 [1353] ccagacctgt tgatcaaact gcctggcttg ttcagatgtg agcttaacat caaccagttt 1920  
 [1354] aagatctt cttccatggaa ggtcaaaacaa cttcctgtat tcacggatc cttgagtagt 1980  
 [1355] cacaaccatg tctggaggca gcaagccgat cacgtaaacta agaactcctg gcattgcac 2040  
 [1356] ttctatgtcc ttcatthaaga tgccgtgaga gtgtctgcta ccattttaa accctttctc 2100  
 [1357] atcatgtggt tttctgaagc agtgaatgtt ctgcatttgcctt gcaggttggaa ataatgccat 2160  
 [1358] ctaacacaggg tcagtggttg gtccttcaat gtcgagccaa aggggtttgg tggggtcgag 2220  
 [1359] ttccccact gcctcttgc tgacagcttc ttgtatctt gtcaagtttgc ccaatctcaa 2280  
 [1360] attctgaccg ttttttccg gctgtctagg accagcaact ggttcccttgc ttagatcaat 2340  
 [1361] acttgtgttgc tcccatgacc tgcctgtat ttgtatcttgc gaaccaatata aaggccaaacc 2400  
 [1362] atcgccagaa agacaaagtt tgtacaaaag gttttcataa ggatttctat tgcctggttt 2460  
 [1363] ctcatcaata aacatgcctt ctcttcgttt aacctgaatg gttgattttgc tgagggaaaga 2520  
 [1364] gaagtttctt ggggtgactc tgattgttca acacatgtt ccaccatcaa gaatagatgc 2580  
 [1365] tccagccctt actgcagctg aaagactgaa gttgtacca gaaatatttgc tggagctttc 2640  
 [1366] atcttagtc acaatctgaa ggcagtcattt ttcctgagtc agtctgtcaa ggtcactttaa 2700  
 [1367] gttggatac ttcacagtgt atagaagccc aagtggatggaa aagcttgcata tgacactgtt 2760  
 [1368] cattgtctca ctccttgc gatgtatgc tgcaatttgc aatgcaggaa cagagccaaa 2820  
 [1369] ctgattgtttt agctttgaag ggtctttaac atccatatac ctcaccacac catttcccc 2880  
 [1370] agtcccttgc tggtgaaatc ccagtgttctt caatatctt gatcttttagt caagttgtga 2940  
 [1371] ctgggacaag ttacccatgt aaaccccttgc agacgcgttgc tctgtcttc ttatcttgc 3000  
 [1372] tttaatttc tcaaggtcag acgccaactc catcagttca tccctccccaa gatctccac 3060  
 [1373] ctgtaaaact gtgttcgtt gaaacactcctt catggacatg agtctgtcaa cctctttatt 3120  
 [1374] caggtcccttca aacttgcgtt ggtcttcttgc ccccttttgc gatctgttgc gttcccgctt 3180  
 [1375] cacctgtgcc acttgggttgc agtgcgttgc gtcagcaattt agctggcgtt cttcaaaaac 3240  
 [1376] atctgacttgc acagtctgag tgaattggctt caaaccttc ctttgcgtt gatctgttgc 3300  
 [1377] aaagcttgc gaccccttgc agtgcgttgc gtcagcaattt ctgggttgc gatctgttgc 3360  
 [1378] tagagttgttgc cagtgaaatg gtttagacact atgccttgc tccactgttgc 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
[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
[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
[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
[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
[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
[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
[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 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 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
[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
[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 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
[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
[1842]	Ala Pro Ser Ser Pro Pro Pro Tyr Glu Glu		80
[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	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							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							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							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 agaatttggaa gctactgtgg agttactctc gttttgcct 60			
[1922]	tctgacttct ttccttcgt cagagatctc ctagacacccg cctcagctct gtatcgagaa 120			
[1923]	gccttagagt ctcctgagca ttgctcacct caccatactg cactcaggca agccattctc 180			
[1924]	tgctgggggg aattgatgac tctagctacc tgggtggta ataatttggaa agatccagca 240			
[1925]	tccagggatc tagtagtcaa ttatgttaat actaacatgg gtttaaagat caggcaacta 300			
[1926]	ttgtggttc atatatctt cctactttt ggaagagaga ctgtacttga atatttggtc 360			
[1927]	tcttcggag tgtggattcg cactcctcca gcctatagac caccaaatgc ccctatctta 420			
[1928]	tcaacacttc cgaaaaactac tgtgtttaa 450			

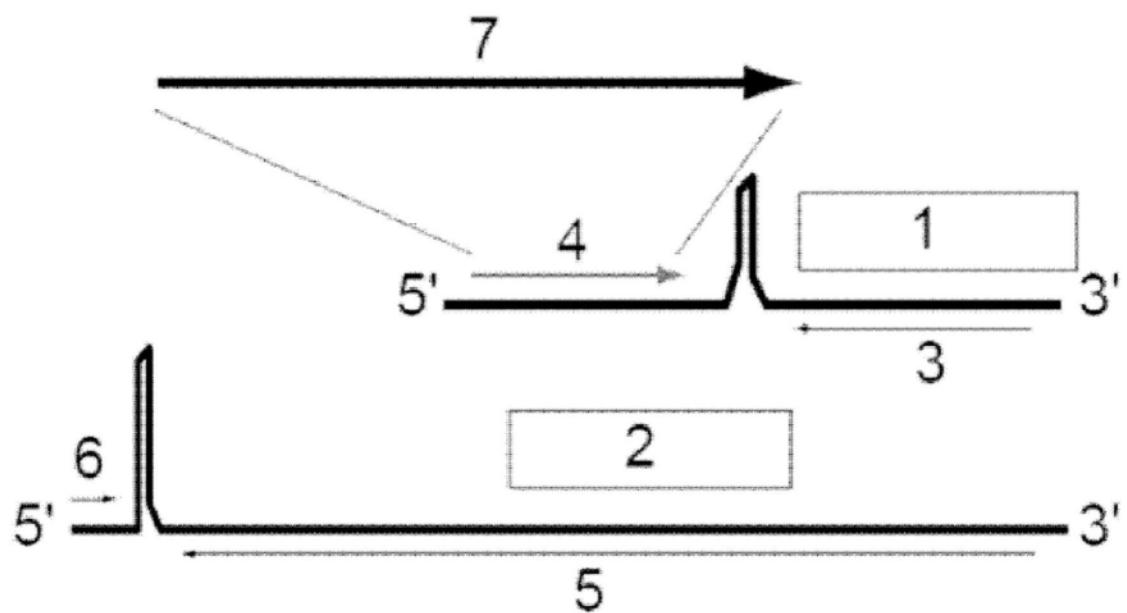


图1

**A**

wt LCMV

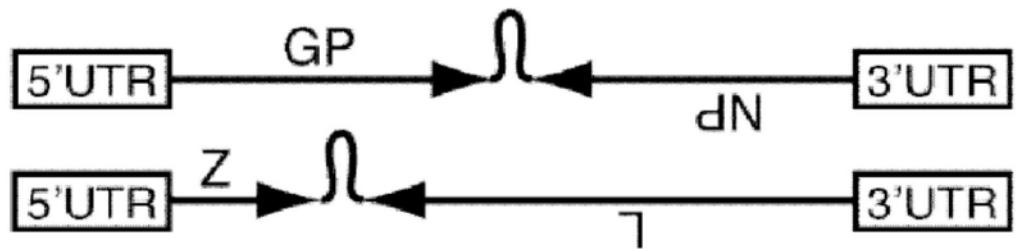
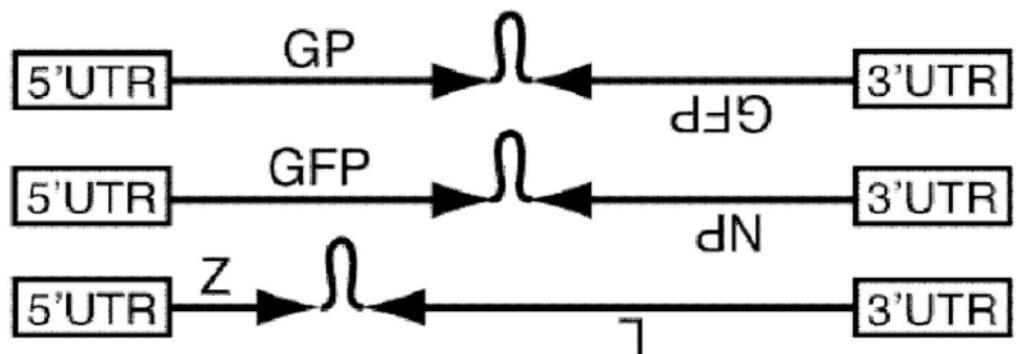
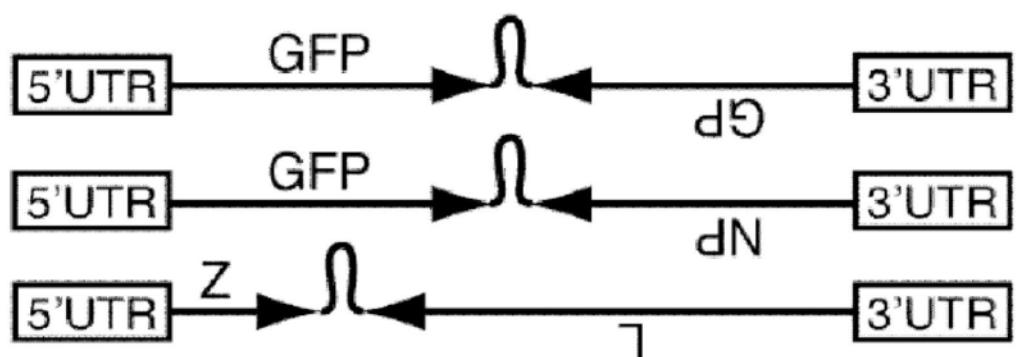
**B**r3LCMV-GFP<sup>nat</sup>**C**r3LCMV-GFP<sup>art</sup>

图2A-2C

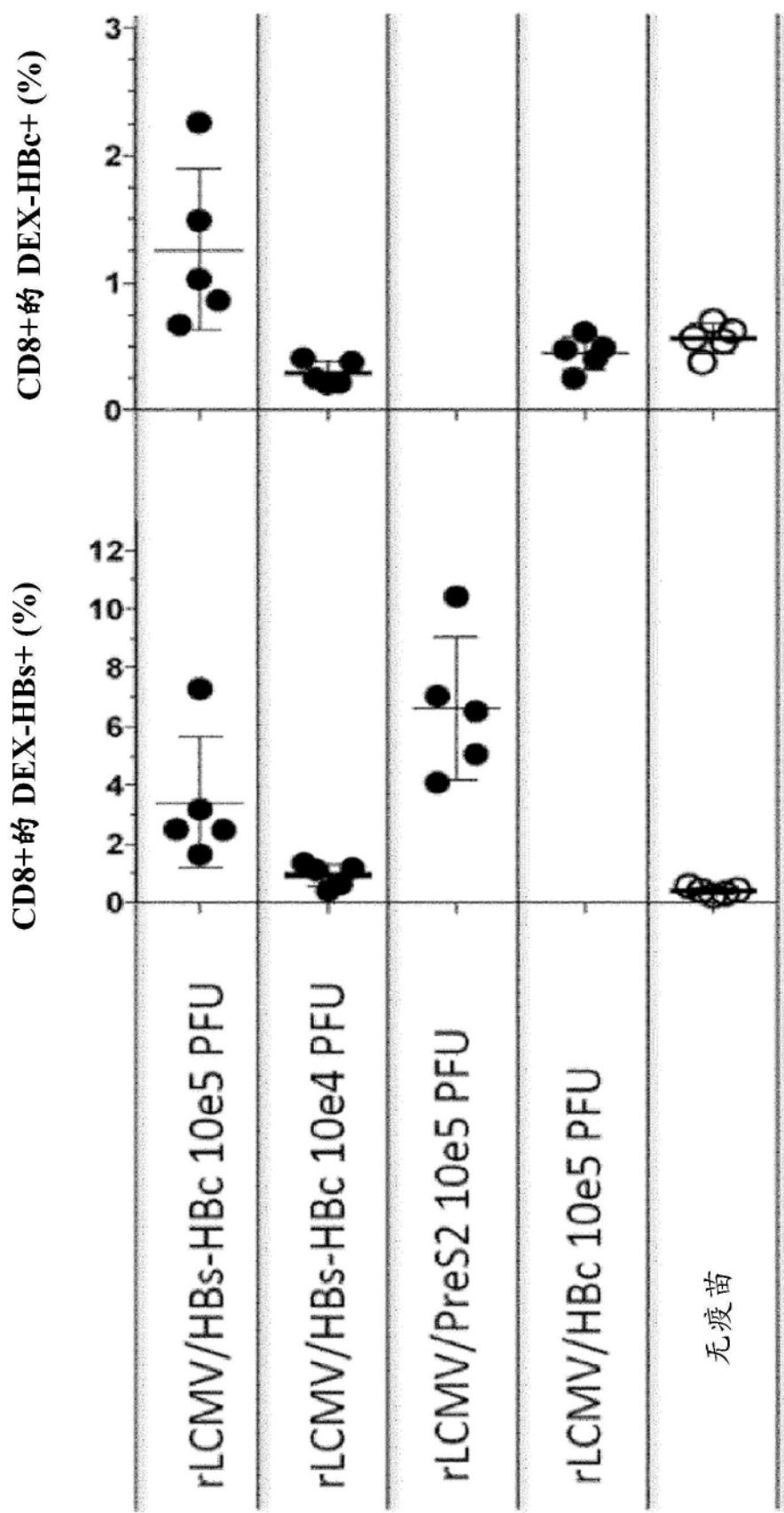


图3

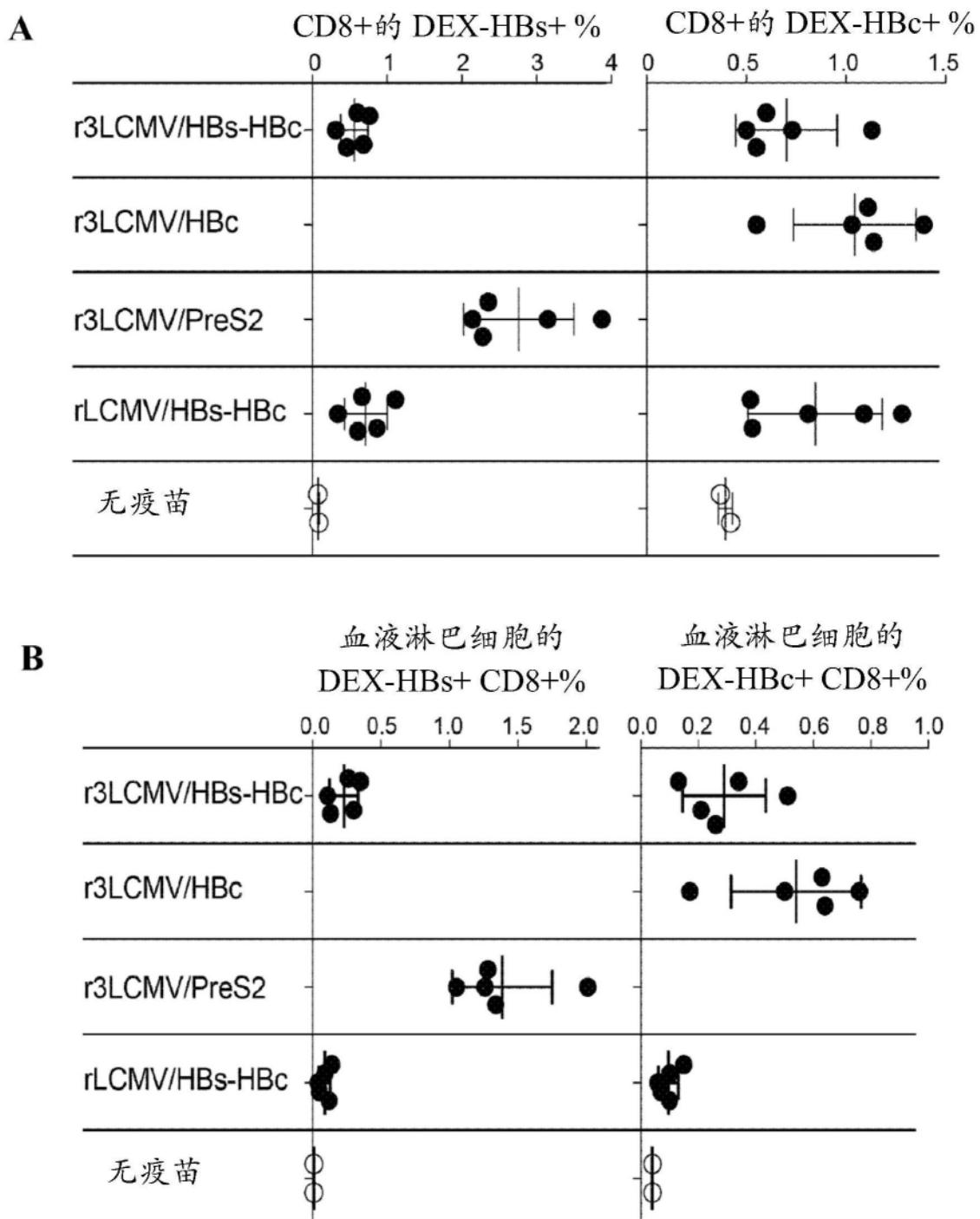


图4A-4B