(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108778308 A
(43)申请公布日 2018.11.09

(21)申请号 201680080908.5

(22)申请日 2016.12.22

(30)优先权数据
PCT/EP2015/081000 2015.12.22 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.08.02

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2016/082487 2016.12.22

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/109134 EN 2017.06.29

(71)申请人 库瑞瓦格股份公司
地址 德国图宾根

(72)发明人 蒂尔曼·鲁斯 马丁·孔泽
本雅明·亚兹丹·潘纳
萨利赫·耶尔马兹
马库斯·康策尔曼

(74)专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事务所(普通合伙) 11201
代理人 宋融冰

(51)Int.Cl.
A61K 38/00(2006.01)
A61K 39/00(2006.01)
A61K 48/00(2006.01)

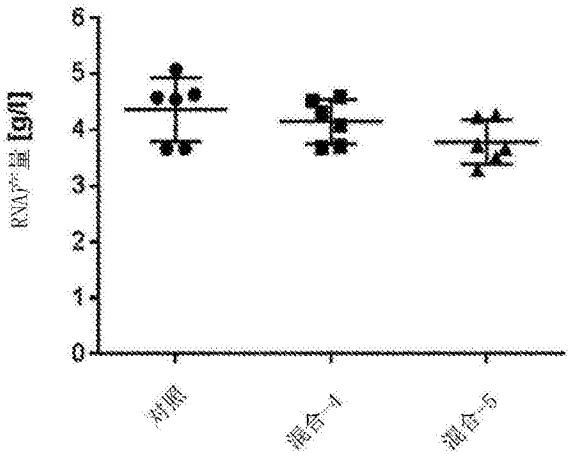
权利要求书18页 说明书94页
序列表54页 附图11页

(54)发明名称

生产RNA分子组合物的方法

(57)摘要

本发明涉及用于生产包含n种不同RNA分子种类的核糖核酸(RNA)分子组合物的方法,该方法包括在单一反应容器中平行地,即同时地进行m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的混合物的RNA体外转录的步骤,以及获得RNA分子组合物的步骤。还提供了由本发明方法提供的RNA组合物和包含其的药物组合物以及药物容器。此外,本发明提供了用于作为药物使用的RNA组合物和药物组合物。



CN 108778308 A

1.用于生产核糖核酸(RNA)分子组合物的方法,所述核糖核酸(RNA)分子组合物包含n种不同RNA分子种类,所述方法包括以下步骤:

a)在单一反应容器中同时地进行m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的混合物的RNA体外转录,其中所述m种不同DNA分子种类中的每一种编码所述n种不同RNA分子种类中的一种或多种,从而产生所述n种不同RNA分子种类,和

b)获得包含步骤a)中产生的所述n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物,

其中n是至少为2的整数,并且其中m是至少为2的整数。

2.根据权利要求1所述的方法,在步骤a)之前还包括以下步骤:

c1)采用细菌扩增产生所述m种不同DNA分子种类的混合物,

c2)采用聚合酶链式反应(PCR)产生所述m种不同DNA分子种类的混合物,

c3)采用DNA化学合成法产生所述m种不同DNA分子种类的混合物,和/或

c4)采用酶扩增,例如通过滚环扩增,产生所述m种不同DNA分子种类的混合物。

3.根据权利要求2所述的方法,其中步骤c1)包括以下步骤:

d)用m种不同DNA质粒种类的混合物的至少一种单一DNA质粒种类转化细菌细胞培养物,其中每种DNA质粒种类编码所述n种不同RNA分子种类中的一种或多种。

4.根据权利要求3所述的方法,其中步骤c1)包括以下步骤:

d1)用所述m种不同DNA质粒种类的单一DNA质粒种类转化m种单一细菌细胞培养物中的每一种,其中所述单一DNA质粒种类编码所述n种不同RNA分子种类中的一种或多种,或

d2)用m种不同DNA质粒种类的混合物转化单一细菌细胞培养物,其中每种DNA质粒种类编码所述n种不同RNA分子种类中的一种或多种。

5.根据权利要求3或4所述的方法,还包括以下步骤:

e)为所述m种不同DNA质粒种类的混合物中的每种DNA质粒种类分离出至少一种单一细菌细胞克隆,和

f)在单独的细菌细胞克隆培养物中培养步骤e)中分离出的所述至少一种单一细菌细胞克隆中的每一种。

6.根据权利要求4所述的方法,在步骤d1)之后还包括以下步骤:

e1)分离出经过步骤d1)转化的所述m种单一细菌细胞培养物中的每一种的至少一种单一细菌细胞克隆,

f1)在单独的细菌细胞培养物中培养步骤e1)中分离出的所述单一细菌细胞克隆中的每一种,

g1)可选地确定在步骤f1)中培养的所述细菌细胞克隆培养物中的每一种的所述DNA质粒种类的同一性,

h1)为所述m种不同DNA质粒种类中的每一种选择至少一种细菌细胞克隆培养物。

7.根据权利要求4所述的方法,在步骤d2)之后还包括以下步骤:

e2)分离出至少m种单一细菌细胞克隆,和

f2)在单独的细菌细胞克隆培养物中培养在步骤e2)中分离出的所述至少m种单一细菌细胞克隆中的每一种,

g2)确定在步骤f2)中培养的所述至少m种单一细菌细胞克隆培养物中的每一种的所述DNA质粒种类的同一性,

h2)为所述m种不同DNA质粒种类中的每一种选择至少一种单一细菌细胞克隆培养物。

8.根据权利要求5至7中任一项所述的方法,还包括以下步骤:

i)确定所述至少一种单一细菌细胞克隆培养物的至少一种生长动力学参数和/或质粒DNA的量,和

j)根据步骤i)中确定的所述参数为所述m种不同DNA质粒种类中的每一种选择一种或多种细菌细胞克隆培养物,优选地为所述m种不同DNA质粒种类中的每一种选择一种细菌细胞克隆培养物。

9.根据权利要求8所述的方法,其中步骤i)包括以下步骤:

i1)通过在一段时间间隔后测量所述细菌细胞克隆培养物的光密度来确定生长动力学参数,优选使用酶标仪或通过散射光在线测量,和/或

i2)确定每单位体积和时间的细菌细胞培养物所生产的质粒量。

10.根据权利要求8或9所述的方法,其中为所述m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的一种或多种细菌细胞克隆培养物表现出相似或相同的生长动力学和/或相似或相同的DNA生产水平,优选所述相似或相同的生长动力学和/或相似或相同的DNA生产水平尽可能高。

11.根据权利要求2至10中任一项所述的方法,其中步骤c1)还包括以下步骤:

k1)在单一反应容器中接种并培养一定量的为步骤j)的所述m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的所述一种或多种细菌细胞克隆培养物中的至少一种,或

k2)在所述m种不同DNA质粒种类中的每一种的一个或多个单独的反应容器中接种并培养一定量的为步骤j)的所述m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的所述一种或多种细菌细胞克隆培养物中的至少一种,可选地其中将所述m种不同DNA质粒种类的一种或多种细菌细胞克隆培养物在单一反应容器中一起培养。

12.根据权利要求11所述的方法,其中接种等量的每种细菌细胞克隆培养物。

13.根据权利要求11或12所述的方法,其中选择用于在步骤k1或k2)中接种的每种细菌细胞克隆培养物的量,从而获得相等或相似量的所述m种不同DNA质粒种类中的每一种。

14.根据权利要求2至13中任一项所述的方法,其中步骤c1)还包括以下步骤:

l)获得在步骤k1)和/或k2)中培养的所述细菌细胞克隆培养物的所述m种不同DNA质粒种类,

m)可选地将步骤l)中所得的所述m种不同DNA质粒种类线性化,和

n)获得所述m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的混合物。

15.根据前述权利要求中任一项所述的方法,在步骤a)之前还包括以下步骤:

o)确定所述m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类中的每一种的转录效率参数。

16.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述RNA分子组合物中的所述n种不同RNA分子种类中的每一种的量与所述m种不同DNA分子种类的混合物中的相应DNA分子种类的量或其至少90%成比例。

17.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中步骤b)包括以下步骤:

p)纯化所述n种不同RNA分子种类,可选地经由HPLC进行。

18.根据前述权利要求中任一项所述的方法,还包括以下步骤:

q)定性和/或定量分析步骤b)中所得的所述RNA分子组合物。

19.根据前述权利要求中任一项所述的方法，其中所述m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的DNA序列彼此具有至少80％的同一性。

20.根据权利要求3至19中任一项所述的方法，其中所述m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的所述DNA质粒种类具有相同的质粒骨架。

21.根据权利要求3至20中任一项所述的方法，其中所述m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的所述DNA质粒种类的开放阅读框彼此具有至少80％的同一性。

22.根据权利要求3至21中任一项所述的方法，其中所述m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的所述DNA质粒种类的开放阅读框的长度最多变化100个或50个核苷酸。

23.根据前述权利要求中任一项所述的方法，其中所述n种不同RNA分子种类的RNA序列彼此具有至少80％的同一性。

24.根据前述权利要求中任一项所述的方法，其中所述m种不同DNA分子种类中的每一种编码所述n种不同RNA分子种类中的一种或多种，其中所述n种不同RNA分子种类中的每一种编码病原体的不同血清型或菌株的抗原、不同的过敏原、不同的自身免疫性抗原、病原体的不同抗原、不同的佐剂蛋白、癌症或肿瘤抗原的不同同种型或变体、单名患者的不同肿瘤抗原、靶向一种蛋白质或一组蛋白质的不同表位的一组抗体中的一种抗体、代谢途径的不同蛋白质、在受试者中存在缺陷的一组蛋白质中的单一蛋白质、或用于分子疗法的蛋白质的不同同种型。

25.根据权利要求24所述的方法，其中所述病原体选自由病毒、细菌、朊病毒、真菌、原生动物、类病毒和寄生虫所组成的组。

26.根据权利要求25所述的方法，其中所述病原体选自由以下各项所组成的组：鲍曼不动杆菌、无形体属、嗜吞噬细胞无形体、巴西钩口线虫、十二指肠钩口线虫、溶血隐秘杆菌、人蛔虫、曲霉属、星状病毒科、巴贝虫属、炭疽芽孢杆菌、蜡样芽胞杆菌、汉赛巴尔通体、BK病毒、人酵母菌、皮炎芽生菌、百日咳博德特氏菌、博氏疏螺旋体、疏螺旋体属、疏螺旋体属某些种、布鲁氏菌属、马来丝虫、布尼亚病毒科、洋葱伯克霍尔德菌和其它伯克霍尔德菌、鼻疽伯克霍尔德菌、假鼻疽伯克霍尔德菌、杯状病毒科、弯曲菌属、白念珠菌、念珠菌属某些种、沙眼衣原体、肺炎嗜衣原体、鹦鹉热衣原体、CJD朊病毒、华枝睾吸虫、肉毒梭状芽胞杆菌、艰难梭状芽胞杆菌、产气荚膜梭状芽胞杆菌、产气荚膜梭状芽胞杆菌、梭状芽胞杆菌属某些种、破伤风梭状芽胞杆菌、球孢子菌属某些种、冠状病毒、白喉棒状杆菌、贝纳特氏立克次体、克里米亚-刚果出血热病毒、新型隐球菌、隐孢子虫属、巨细胞病毒(CMV)、登革热病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)、脆弱双核阿米巴、埃博拉病毒(EBOV)、棘球绦虫属、恰菲埃里希氏体、埃翁氏埃里希氏体、埃里希氏体属、溶组织内阿米巴、肠球菌属、肠道病毒属、肠道病毒(主要为柯萨奇A病毒和肠道病毒71(EV71))、表皮癣菌属某些种、爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)、大肠埃希氏菌(O157:H7、O111和O104:H4)、肝片吸虫和大片吸虫、FFI朊病毒、丝虫目超家族、黄病毒属、土拉热弗朗西斯氏菌、梭杆菌属、白地霉、肠贾第虫、颚口虫属某些种、GSS朊病毒、瓜纳瑞托病毒、杜克雷氏嗜血杆菌、流感嗜血杆菌、幽门螺旋杆菌、亨尼帕病毒(亨德拉病毒、尼帕病毒)、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、单纯疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2)、夹膜组织胞浆菌、HIV(人类免疫缺陷病毒)、威尼克外瓶霉、人博卡病毒(HBoV)、人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7)、人偏肺病毒(hMPV)、人乳头瘤病毒(HPV)、人副流感病毒(HPIV)、日本脑炎病毒、JC

病毒、胡宁病毒、金格杆菌、肉芽肿杆菌、库鲁朊病毒、拉沙病毒、嗜肺性军团病杆菌、利什曼原虫属、钩端螺旋体属、单核细胞增多性李斯特菌、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)、马丘坡病毒、马拉色霉菌属某些种、马尔堡病毒、麻疹病毒、横川后殖吸虫、微孢子虫门、接触传染性软疣病毒(MCV)、腮腺炎病毒、麻风分枝杆菌和弥漫型麻风分枝杆菌、结核分枝杆菌、溃疡分枝杆菌、肺炎支原体、福氏耐格里阿米巴、美洲板口线虫、淋病奈瑟氏菌、脑膜炎奈瑟氏菌、星形诺卡氏菌、诺卡氏菌属某些种、旋盘尾丝虫、恙虫病东方体、正粘病毒科(流感病毒)、巴西副球孢子菌、并殖吸虫属某些种、卫氏并殖吸虫、细小病毒B19、巴斯德菌属、疟原虫属、耶氏肺孢子虫、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒、呼吸道合胞体病毒(RSV)、鼻病毒、鼻病毒、小蛛立克次氏体、立克次体属、普氏立克次体、立氏立克次体、伤寒立克次体、裂谷热病毒、轮状病毒、风疹病毒、萨比亚病毒、沙门氏菌属、疥螨、SARS冠状病毒、血吸虫属、志贺氏菌属、辛诺柏病毒、汉坦病毒、申克孢子丝菌、葡萄球菌属、葡萄球菌属、无乳链球菌、肺炎链球菌、酿脓链球菌、粪类圆线虫、绦虫属、有钩绦虫、蜱传脑炎病毒(TBEV)、犬弓蛔虫或猫弓蛔线虫、刚地弓形虫、苍白密螺旋体、旋毛虫、阴道滴虫、毛癣菌属某些种、毛首鞭虫、布氏锥虫、克氏锥虫、解脲脲原体、水痘-带状疱疹病毒(VZV)、水痘-带状疱疹病毒(VZV)、重型天花或轻型天花、vCJD朊病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、霍乱弧菌、西尼罗病毒、西方马脑炎病毒、班氏线虫、黄热病病毒、结肠炎耶尔森菌、鼠疫耶尔森菌和假结核耶尔森菌，病原体优选地选自由以下所组成的组：流感病毒、呼吸道合胞体病毒(RSV)、单纯疱疹病毒(HSV)、人乳头瘤病毒(HPV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、疟原虫、金黄色酿脓葡萄球菌、登革病毒、沙眼衣原体、巨细胞病毒(CMV)、乙型肝炎病毒(HBV)、结核分枝杆菌、狂犬病病毒、轮状病毒和黄热病病毒。

27.根据前述权利要求中任一项所述的方法，其中所述m种不同DNA分子种类中的每一种编码所述n种不同RNA分子种类中的一种或多种，其中所述n种不同RNA分子种类中的每一种编码不同的致病性抗原或其片段或变体，所述致病性抗原选自由以下各项所组成的组：

鲍曼不动杆菌和不动杆菌属感染的流感病毒血凝素、流感病毒神经氨酸酶、流感病毒核蛋白、冠状病毒糖蛋白S、前列腺特异性抗原、外膜蛋白A OmpA、生物膜关联蛋白Bap、转运蛋白MucK；布氏锥虫的可变表面糖蛋白(VSG)、微管关联蛋白MAPP15、唾液酸转移酶(TSA)；HIV的HIV p24抗原、人类免疫缺陷病毒(HIV)包膜蛋白(Gp120、Gp41和Gp160)、多聚蛋白GAG、负向因子蛋白Nef、反式转录激活因子(Tat)；溶组织内阿米巴的半乳糖抑制性粘附蛋白(GIAP)、29kDa抗原Eh29、Gal/GalNAc凝集素、蛋白CRT、125kDa免疫优势抗原、蛋白M17、粘附素ADH112和蛋白STIRP；无形体属的主要表面蛋白1至5(MSP1a、MSP1b、MSP2、MSP3、MSP4、MSP5)、IV型分泌系统蛋白(VirB2、VirB7、VirB11、VirD4)；炭疽芽孢杆菌的保护性抗原PA、水肿因子EF、致死因子LF、S层同源蛋白(SLH)；溶血隐秘杆菌的隐秘溶素、磷脂酶D、胶原蛋白结合蛋白CbpA；胡宁病毒的核衣壳蛋白(NP)、糖蛋白前体GPC、糖蛋白GP1、糖蛋白GP2；人蛔虫的几丁质蛋白层蛋白、14kDa表面抗原A14、主要精子蛋白(MSP)、MSP聚合组织蛋白(MPOP)、MSP纤维蛋白2(MFP2)、MSP聚合活化激酶(MPAK)、ABA-1样蛋白(ALB)、蛋白ABA-1、表皮质(CUT-1)；曲霉属的41kDa过敏原Asp v13、过敏原Asp f3、主要分生孢子表面蛋白rodlet A、蛋白酶Pep1p、GPI锚定蛋白Gel1p、GPI锚定蛋白Crf1p；星状病毒科的家族VP26蛋白、VP29蛋白；巴贝虫属的棒状体关联蛋白1(RAP-1)、裂殖子表面抗原MSA-1、MSA-2(a1、a2、b、c)、12D3、11C5、21B4、P29、变异红细胞表面抗原VESA1、顶端膜抗原1(AMA-1)；蜡样芽胞杆

菌的溶血素、肠毒素C、PXO1-51、乙醇酸氧化酶、ABC-转运蛋白、青霉素结合蛋白、锌转运蛋白家族蛋白、假尿苷合酶Rsu、质粒复制蛋白RepX、寡肽链内切酶F、前噬菌体膜蛋白、蛋白HemK、鞭毛抗原H、28.5-kDa细胞表面抗原;BK病毒的大型T抗原LT、小型T抗原、衣壳蛋白VP1、衣壳蛋白VP2;人酵母菌的29kDa-蛋白、半胱天冬酶-3样抗原、糖蛋白;皮炎芽生菌的酵母表面粘附素WI-1;马丘坡病毒的核蛋白N、聚合酶L、基质蛋白Z、糖蛋白(GP);疏螺旋体属的外表面蛋白A(OspA)、外表面蛋白B(OspB)、外表面蛋白C(OspC)、核心蛋白聚糖结合蛋白A(DbpA)、核心蛋白聚糖结合蛋白B(DbpB)、鞭毛丝41kDa核心蛋白Fla、碱性膜蛋白A前体(BmpA)(免疫优势抗原P39)、外表面22kDa脂蛋白前体(抗原IPLA7)、可变表面脂蛋白vlsE;肉毒梭状芽胞杆菌的肉毒神经毒素BoNT/A1、BoNT/A2、BoNT/A3、BoNT/B、BoNT/C、BoNT/D、BoNT/E、BoNT/F、BoNT/G、重组肉毒毒素FHc结构域(FHc);萨比亚病毒的核衣壳、糖蛋白前体;布鲁氏菌属的铜/锌超氧化物歧化酶(SodC)、细菌铁蛋白(Bfr)、50S核糖体蛋白Rp1L、含有OmpA样跨膜结构域的蛋白Omp31、免疫原性39-kDa蛋白M5P39、锌ABC转运蛋白周质锌结合蛋白znuA、周质免疫原性蛋白Bp26、30S核糖体蛋白S12RpsL、甘油醛-3-磷酸脱氢酶Gap、25kDa外膜免疫原性蛋白前体Omp25、侵袭蛋白B lalB、触发因子Tig、分子伴侣DnaK、推定的肽基脯氨酰顺反异构酶SurA、脂蛋白Omp19、外膜蛋白MotY Omp16、保守外膜蛋白D15、苹果酸脱氢酶(Mdh)、IV型分泌系统(T4SS)的组分VirJ、未知功能的脂蛋白BAB1_0187;洋葱伯克霍尔德菌和其它伯克霍尔德菌的ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A(BimA)、细菌延伸因子-Tu(EF-Tu)、17kDa OmpA样蛋白、boaA编码蛋白、boaB编码蛋白;溃疡分枝杆菌的分枝酰基转移酶Ag85A、热休克蛋白65(Hsp65)、蛋白TB10.4、19kDa抗原、蛋白PstS3、热休克蛋白70(Hsp70);杯状病毒科的诺如病毒和沙波病毒,诺如病毒主要病毒衣壳蛋白VP1和次要病毒衣壳蛋白VP2及基因组多聚蛋白、沙波病毒衣壳蛋白VP1、蛋白Vp3及基因组多聚蛋白;弯曲菌属的主要外膜蛋白PorA、鞭毛蛋白FlaA、表面抗原CjaA、纤连蛋白结合蛋白CadF、结合天冬氨酸/谷氨酸的ABC转运蛋白Peb1A、蛋白FspA1、蛋白FspA2;白念珠菌及其它念珠菌属种类的糖酵解酶烯醇酶、分泌型天冬氨酰蛋白酶SAP1-10、糖磷脂酰肌醇(GPI)连接的细胞壁蛋白、蛋白Hyr1、补体受体3相关蛋白(CR3-RP)、粘附素Als3p、热休克蛋白90kDa(Hsp90)、细胞表面疏水性蛋白(CSH);汉赛巴尔通体的17-kDa抗原、蛋白P26、三聚体自转运粘附素TAA、巴尔通体粘附素A BadA、可变表达的外膜蛋白质Vomp、蛋白Pap3、蛋白HbpA、包膜关联蛋白酶HtrA、蛋白OMP89、蛋白GroEL、蛋白LalB、蛋白OMP43、二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶SucB;克氏锥虫的无鞭毛体表面蛋白-2、无鞭毛体特异性表面蛋白SSP4、克鲁兹蛋白酶、反式唾液酸酶TS、锥虫体表面乙二醇蛋白TSA-1、补体调节蛋白CRP-10、蛋白G4、蛋白G2、副轴杆蛋白PAR2、副鞭毛杆组分Par1、黏蛋白关联表面蛋白MPSP;水痘-带状疱疹病毒(VZV)的包膜糖蛋白(gB、gC、gE、gH、gI、gK、gL);沙眼衣原体的主要外膜蛋白MOMP、可能的外膜蛋白PMPC、外膜复合蛋白B OmcB、热休克蛋白Hsp60和HSP10、蛋白IncA、来自III型分泌系统的蛋白质、核糖核苷酸还原酶小链蛋白NrdB、质粒蛋白Pgp3、衣原体外蛋白N(CopN)、抗原CT521、抗原CT425、抗原CT043、抗原TC0052、抗原TC0189、抗原TC0582、抗原TC0660、抗原TC0726、抗原TC0816、抗原TC0828;肺炎嗜衣原体、肺炎嗜衣原体感染的低钙反应蛋白E(LCrE)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PknD、酰基载体-蛋白S-丙二酰转移酶FabD、单链DNA结合蛋白Ssb、主要外膜蛋白(MOMP)、外膜蛋白2(Omp2)、多态性膜蛋白家族(如Pmp1、Pmp2、Pmp3、

Pmp4、Pmp5、Pmp6、Pmp7、Pmp8、Pmp9、Pmp10、Pmp11、Pmp12、Pmp13、Pmp14、Pmp15、Pmp16、Pmp17、Pmp18、Pmp19、Pmp20和Pmp21)；霍乱弧菌的霍乱毒素B(CTB)、毒素共调菌毛蛋白A(TcpF)、毒素共调菌毛蛋白(TcpF)、毒素共调菌毛生物合成蛋白F(TcpF)、霍乱肠毒素亚基A、霍乱肠毒素亚基B、热稳定肠毒素ST、甘露糖敏感血凝素(MSHA)、外膜蛋白U孔蛋白(ompU)、Poring B蛋白、多态性膜蛋白-D；华枝睾吸虫的丙酰辅酶A羧化酶PCC、14-3-3蛋白、抑制素蛋白、半胱氨酸蛋白酶、谷胱甘肽转移酶、凝胶溶素、组织蛋白酶L蛋白酶CatL、表膜蛋白20.8kDa TP20.8、表膜蛋白31.8kDa TP31.8、溶血磷脂酸磷酸酶LPAP；艰难梭状芽胞杆菌的表层蛋白SLP、谷氨酸脱氢酶抗原GDH、毒素A、毒素B、半胱氨酸蛋白酶Cwp84、半胱氨酸蛋白酶Cwp13、半胱氨酸蛋白酶Cwp19、细胞壁蛋白CwpV、鞭毛蛋白FliC、鞭毛蛋白FliD；鼻病毒的鼻病毒衣壳蛋白VP1、VP2、VP3、VP4和冠状病毒的冠状病毒纤突蛋白S、包膜蛋白E、膜蛋白M、核衣壳蛋白N；朊病毒蛋白Prp(CJD朊病毒)；克里米亚-刚果出血热病毒的包膜蛋白Gc、包膜蛋白Gn、核衣壳蛋白；新型隐球菌的毒力关联DEAD盒RNA解旋酶VAD1、半乳糖木糖甘露聚糖-蛋白GalXM、葡萄糖醛酰木糖基甘露聚糖GXM、甘露糖蛋白MP；隐孢子虫属的酸性核糖体蛋白P2CpP2、粘蛋白抗原Muc1、Muc2、Muc3Muc4、Muc5、Muc6、Muc7、表面粘附蛋白CP20、表面粘附蛋白CP23、表面蛋白CP12、表面蛋白CP21、表面蛋白CP40、表面蛋白CP60、表面蛋白CP15、表面关联糖肽gp40、表面关联糖肽gp15、卵囊壁蛋白AB、抑制蛋白PRF、腺苷三磷酸双磷酸酶；例如巴西钩口线虫和其它病原体(如皮肤幼虫移行症(CLM))的脂肪酸和视黄醇结合蛋白-1(FAR-1)、金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)、半胱氨酸蛋白酶ACEY-1、半胱氨酸蛋白酶ACCP-1、表面抗原Ac-16、分泌蛋白2ASP-2、金属蛋白酶1MTP-1、天冬氨酰蛋白酶抑制剂API-1、表面关联抗原SAA-1、成人特异性分泌因子Xa丝氨酸蛋白酶抑制剂抗凝血剂AP、组织蛋白酶D样天冬氨酸蛋白酶ARR-1；有钩绦虫的组织蛋白酶L样蛋白酶、53/25-kDa抗原、8kDa家族成员、具有微弱胰蛋白酶样活性的囊尾蚴蛋白TsAg5、六钩蚴蛋白TSOL18、六钩蚴蛋白TSOL45-1A、乳酸脱氢酶A LDHA、乳酸脱氢酶B LDHB；巨细胞病毒(CMV)的pp65抗原、膜蛋白pp15、衣壳近端表膜蛋白pp150、蛋白M45、DNA聚合酶UL54、解旋酶UL105、糖蛋白gM、糖蛋白gN、糖蛋白H、糖蛋白B gB、蛋白UL83、蛋白UL94、蛋白UL99；登革热病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)黄病毒属的衣壳蛋白C、膜前蛋白prM、膜蛋白M、包膜蛋白E(结构域I、结构域II、结构域II)、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白NS2B、蛋白NS3、蛋白NS4A、蛋白2K、蛋白NS4B、蛋白NS5；脆弱双核阿米巴的39kDa蛋白质；白喉棒状杆菌的白喉毒素前体Tox、白喉毒素DT、菌毛蛋白特异性分选酶SrtA、杆状菌毛蛋白SpaA、顶端菌毛蛋白SpaC、次要菌毛蛋白SpaB、表面关联蛋白DIP1281；埃博拉病毒(EBOV)的糖蛋白GP、核蛋白NP、次要基质蛋白VP24、主要基质蛋白VP40、转录激活因子VP30、聚合酶辅因子VP35、RNA聚合酶L；朊病毒蛋白(vCJD朊病毒、vCJD、nvCJD)；杜克雷氏嗜血杆菌的UvrABC系统蛋白B、蛋白Flp1、蛋白Flp2、蛋白Flp3、蛋白TadA、血红蛋白受体HgbA、外膜蛋白TdhA、蛋白CpsRA、调节因子CpxR、蛋白SapA、18kDa抗原、外膜蛋白NcaA、蛋白LspA、蛋白LspA1、蛋白LspA2、蛋白LspB、外膜组分DsrA、凝集素DltA、脂蛋白Hlp、主要外膜蛋白OMP、外膜蛋白OmpA2；粗球孢子菌和球孢子菌属posadasii的天冬氨酰蛋白酶1Pep1、磷脂酶B PLB、α-甘露糖苷酶1AMN1、葡聚糖基转移酶GEL1、尿素酶URE、过氧化物酶体基质蛋白Pmp1、富含脯氨酸的抗原Pra、人T细胞反应蛋白TcrP；例如毛癣菌属某些种、表皮癣菌属某些种、马拉色霉菌属某些种、威尼克外瓶霉的过敏原Tri r2、热休克蛋白60Hsp60、真菌肌动蛋白Act、抗原Tri r2、抗原Tri r4、抗原Tri t1、蛋白IV、甘油-3-磷酸脱

氢酶Gpd1、渗透感应因子HwSho1A、渗透感应因子HwSho1B、组氨酸激酶HwHhk7B、过敏原Mala s1、过敏原Mala s11、硫氧还蛋白Trx Mala s13、过敏原Mala f、过敏原Mala s;棘球绦虫属的蛋白EG95、蛋白EG10、蛋白EG18、蛋白EgA31、蛋白EM18、抗原EPC1、抗原B、抗原5、蛋白P29、蛋白14-3-3、8-kDa蛋白、亲肌肉抗原、热休克蛋白20(HSP20)、糖蛋白GP-89、脂肪酸结合蛋白FAPB;埃里希氏体属的主要表面蛋白2MSP2、主要表面蛋白4MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白;肠球菌属的分泌抗原SagA、sagA样蛋白Sal1A和Sal1B、胶原粘附素Scm、表面蛋白Fms1EbpA(fm)、Fms5EbpB(fm)、Fms9EpbC(fm)和Fms10、蛋白EbpC(fm)、96kDa免疫保护性糖蛋白G1;肠道病毒属的基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C;外膜蛋白OM、60kDa外膜蛋白、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、134kDa外膜蛋白、31kDa外膜蛋白、29.5kDa外膜蛋白、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白Adr1(RP827)、细胞表面蛋白Adr2(RP828)、细胞表面蛋白SCA1、侵袭蛋白invA、细胞分裂蛋白fts、sec家族的分泌蛋白、毒力蛋白virB、tlyA、tlyC、细小蛋白样蛋白Plp、蛋白前体移位酶SecA、120-kDa表面蛋白抗原SPA、138kD复合抗原、主要100-kD蛋白(蛋白I)、胞质内蛋白D、保护性表面蛋白抗原SPA(普氏立克次体、流行性斑疹伤寒);爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)的爱泼斯坦-巴尔核抗原(EBNA-1、EBNA-2、EBNA-3A、EBNA-3B、EBNA-3C、EBNA-前导蛋白(EBNA-LP))、潜伏膜蛋白(LMP-1、LMP-2A、LMP-2B)、早期抗原EBV-EA、膜抗原EBV-MA、病毒衣壳抗原EBV-VCA、碱性核酸酶EBV-AN、糖蛋白H、糖蛋白gp350、糖蛋白gp110、糖蛋白gp42、糖蛋白gHgL、糖蛋白gB;细小病毒B19的衣壳蛋白VP2、衣壳蛋白VP1、主要蛋白NS1;人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7)的pp65抗原、糖蛋白105、主要衣壳蛋白、包膜糖蛋白H、蛋白U51;肝片吸虫和大片吸虫的硫氧还蛋白-谷胱甘肽还原酶TGR、组织蛋白酶L1和L2、Kunitz型蛋白KTM、亮氨酸氨肽酶LAP、半胱氨酸蛋白酶Fas2、皂素样蛋白-2SAP-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPx、Prx-1、Prx-2、组织蛋白酶1半胱氨酸蛋白酶CL3、蛋白酶组织蛋白酶LCL1、磷酸甘油酸激酶PGK、27-kDa分泌蛋白、60kDa蛋白HSP35α、谷胱甘肽转移酶GST、28.5kDa表膜蛋白抗原28.5kDa TA、组织蛋白酶B3蛋白酶CatB3、I型半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白stefin-1、组织蛋白酶L5、组织蛋白酶L1g和组织蛋白酶B、脂肪酸结合蛋白FABP、亮氨酸氨肽酶LAP;朊病毒蛋白FFI朊病毒;丝虫目超家族的毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白CPI-2、Cox-2;产气荚膜梭状芽胞杆菌的磷脂酶CPLC、不耐热肠毒素B、ι毒素组分Ib、蛋白CPE1281、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶、延伸因子G EF-G、产气荚膜梭状芽胞杆菌溶素O Pfo、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GapC、果糖二磷酸醛缩酶A1f2、产气荚膜梭状芽胞杆菌肠毒素CPE、α毒素AT、α类毒素ATd、ε-类毒素ETd、蛋白HP、大型细胞毒素TpeL、内切-β-N-乙酰氨基

葡萄糖苷酶Naglu、磷酸甘油酸变位酶Pgm;梭杆菌属的白细胞毒素lktA、粘附因子FadA、外膜蛋白RadD、高分子量精氨酸结合蛋白;例如产气荚膜梭状芽胞杆菌和其它梭状芽胞杆菌属种类的磷脂酶C PLC、不耐热肠毒素B、ι毒素成分Ib、蛋白CPE1281、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶、延伸因子G EF-G、产气荚膜梭菌溶素O Pfo、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GapC、果糖二磷酸醛缩酶Alf2、产气荚膜梭状芽胞杆菌肠毒素CPE、α毒素AT、α类毒素ATd、ε-类毒素ETd、蛋白HP、大型细胞毒素TpeL、内切-β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶Naglu、磷酸甘油酸变位酶Pgm;白地霉的脂肪酶A、脂肪酶B、过氧化物酶Dec1;朊病毒蛋白GSS朊病毒;肠贾第虫的胞壁蛋白CWP1、CWP2、CWP3、变体表面蛋白VSP、VSP1、VSP2、VSP3、VSP4、VSP5、VSP6、56kDa抗原、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶PFOR、醇脱氢酶E ADHE、α-贾第素、α8-贾第素、α1-贾第素、β-贾第素、半胱氨酸蛋白酶、谷胱甘肽-S-转移酶GST、精氨酸脱亚胺酶ADI、果糖-1,6-二磷酸醛缩酶FBA、贾第鞭毛虫滋养体抗原GTA(GTA1、GTA2)、鸟氨酸羧基转移酶OCT、横纹纤维-装配蛋白样蛋白SALP、尿苷磷酰基样蛋白UPL、α-微管蛋白、β-微管蛋白;鼻疽伯克霍尔德菌的ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A BimA、细菌延伸因子-Tu EF-Tu、17kDa OmpA-样蛋白、boaA编码蛋白;棘骋口线虫和刚棘颚口线虫的亲环蛋白CyP、24kDa第三阶段幼虫蛋白GS24、排泄-分泌产物ESP(40kDa、80kDa、120kDa和208kDa);淋病奈瑟氏菌的菌毛蛋白、次要菌毛蛋白关联亚基pilC、主要菌毛蛋白亚基和变体pilE、pilS、相变异蛋白porA、孔蛋白B PorB、蛋白TraD、奈瑟氏菌外膜抗原H.8、70kDa抗原、主要外膜蛋白PI、外膜蛋白P1A和P1B、W抗原、表面蛋白A NspA、转铁蛋白结合蛋白TbpA、转铁蛋白结合蛋白TbpB、PBP2、mtrR编码蛋白、ponA编码蛋白、膜通透酶FbpBC、FbpABC蛋白系统、LbpAB蛋白、外膜蛋白Opa、外膜转运蛋白FetA、铁抑制调节因子MpeR;肉芽肿杆菌的外膜蛋白A OmpA、外膜蛋白C OmpC、外膜蛋白K17 OmpK17;酿脓链球菌的纤连蛋白结合蛋白Sfb、纤连蛋白/纤维蛋白原结合蛋白FBP54、纤连蛋白结合蛋白FbaA、M蛋白1型Emm1、M蛋白6型Emm6、免疫球蛋白结合蛋白35 Sib35、表面蛋白R28 Spr28、超氧化物歧化酶SOD、C5a肽酶ScpA、抗原I/II AgI/II、粘附素AspA、G相关的α2-巨型球蛋白结合蛋白GRAB、表面纤维蛋白M5;无乳链球菌的C蛋白β抗原、精氨酸脱亚胺酶蛋白、粘附素BibA、105kDA蛋白BPS、表面抗原c、表面抗原R、表面抗原X、胰蛋白酶抗性蛋白R1、胰蛋白酶抗性蛋白R3、胰蛋白酶抗性蛋白R4、表面免疫原性蛋白Sip、表面蛋白Rib、富含亮氨酸重复的蛋白LrrG、富含丝氨酸的重复蛋白Srr-2、C蛋白α-抗原Bca、β抗原Bag、表面抗原ε、α-样蛋白ALP1、α-样蛋白ALP5表面抗原δ、α-样蛋白ALP2、α-样蛋白ALP3、α-样蛋白ALP4、Cβ蛋白Bac;流感嗜血杆菌的转铁蛋白结合蛋白2Tbp2、磷酸酶P4、外膜蛋白P6、肽聚糖关联脂蛋白Pal、蛋白D、蛋白E、粘附穿透蛋白Hap、外膜蛋白26 Omp26、外膜蛋白P5(Fimbrin)、外膜蛋白D15、外膜蛋白OmpP2、5'-核苷酸酶NucA、外膜蛋白P1、外膜蛋白P2、外膜脂蛋白Pcp、脂蛋白E、外膜蛋白P4、墨角藻糖激酶FucK、[Cu,Zn]-超氧化物歧化酶SodC、蛋白酶HtrA、蛋白质O145、α-半乳糖基神经酰胺;聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C(肠道病毒、主要是柯萨奇A病毒和肠道病毒71(EV71)、手足口病(HFMD));辛诺柏病毒、汉坦病毒的RNA聚合酶L、蛋白质L、糖蛋白Gn、糖蛋白Gc、核衣壳蛋白S、包膜糖蛋白G1、核蛋白NP、蛋白N、多聚蛋白M;幽门螺旋杆菌的热休克蛋白HspA、热休克蛋白HspB、柠檬酸合酶GltA、蛋白UreB、热休克蛋白Hsp60、嗜中性粒细胞活化蛋白NAP、过氧化氢酶KatA、空泡细胞毒素VacA、脲素酶αUreA、尿

素酶βUreb、蛋白Cpn10、蛋白groES、热休克蛋白Hsp10、蛋白MopB、细胞毒性关联的10kDa蛋白CAG、36kDa抗原、β-内酰胺酶HcpA、β-内酰胺酶HcpB;大肠埃希菌O157:H7、O111和O104:H4的整合膜蛋白、容易发生聚集的蛋白、O-抗原、毒素-抗原Stx2B、毒素抗原Stx1B、粘附抗原片段Int28、蛋白EspA、蛋白EspB、紧密黏附素、蛋白Tir、蛋白IntC300、蛋白Eae;布尼亚病毒科的RNA聚合酶L、蛋白质L、糖蛋白Gn、糖蛋白Gc、核衣壳蛋白S、包膜糖蛋白G1、核蛋白NP、蛋白N、多聚蛋白M;亨尼帕病毒、亨德拉病毒或尼帕病毒的糖蛋白G、基质蛋白M、核蛋白N、融合蛋白F、聚合酶L、蛋白W、蛋白C、磷蛋白p、非结构蛋白V;甲型肝炎病毒的多聚蛋白、糖蛋白Gp2、甲型肝炎表面抗原HBAg、蛋白2A、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、蛋白P1B、蛋白P2A、蛋白P3AB、蛋白P3D;乙型肝炎病毒(HBV)的乙型肝炎表面抗原HBsAg、乙型肝炎核心抗原HbcAg、聚合酶、蛋白Hbx、preS2中间表面蛋白、表面蛋白L、大型S蛋白、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4;丙型肝炎病毒的包膜糖蛋白E1 gp32 gp35、包膜糖蛋白E2 NS1 gp68 gp70、衣壳蛋白C、核心蛋白Core、多聚蛋白、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、抗原G、蛋白NS3、蛋白NS5A;丁型肝炎病毒的病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、大型肝炎δ抗原、小型肝炎δ抗原;戊型肝炎病毒的病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、衣壳蛋白E2;单纯性疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2)的糖蛋白L UL1、尿嘧啶-DNA糖基化酶UL2、蛋白UL3、蛋白UL4、DNA复制蛋白UL5、门蛋白UL6、病毒体成熟蛋白UL7、DNA解旋酶UL8、复制起点结合蛋白UL9、糖蛋白MUL10、蛋白UL11、碱性核酸外切酶UL12、丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶UL13、表膜蛋白UL14、终止酶UL15、表膜蛋白UL16、蛋白UL17、衣壳蛋白VP23UL18、主要衣壳蛋白VP5UL19、膜蛋白UL20、表膜蛋白UL21、糖蛋白H(UL22)、胸苷激酶UL23、蛋白UL24、蛋白UL25、衣壳蛋白P40(UL26、VP24、VP22A)、糖蛋白B(UL27)、ICP18.5蛋白(UL28)、主要DNA结合蛋白ICP8(UL29)、DNA聚合酶UL30、核基质蛋白UL31、包膜糖蛋白UL32、蛋白UL33、内核膜蛋白UL34、衣壳蛋白VP26(UL35)、大型表膜蛋白UL36、衣壳装配蛋白UL37、VP19C蛋白(UL38)、核糖核苷酸还原酶(大亚基)UL39、核糖核苷酸还原酶(小亚基)UL40、表膜蛋白/病毒体宿主关闭VHS蛋白(UL41)、DNA聚合酶持续合成因子UL42、膜蛋白UL43、糖蛋白C(UL44)、膜蛋白UL45、表膜蛋白VP11/12(UL46)、表膜蛋白VP13/14(UL47)、病毒体成熟蛋白VP16(UL48、α-TIF)、包膜蛋白UL49、dUTP二磷酸酶UL50、表膜蛋白UL51、DNA解旋酶/引发酶复合蛋白UL52、糖蛋白K(UL53)、转录调节蛋白IE63(ICP27、UL54)、蛋白UL55、蛋白UL56、病毒复制蛋白ICP22(IE68、US1)、蛋白US2、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶US3、糖蛋白G(US4)、糖蛋白J(US5)、糖蛋白D(US6)、糖蛋白I(US7)、糖蛋白E(US8)、表膜蛋白US9、衣壳/表膜蛋白US10、Vmw21蛋白(US11)、ICP47蛋白(IE12、US12)、主要转录激活因子ICP4(IE175、RS1)、E3泛素连接酶ICP0(IE110)、潜伏期相关蛋白1LRP1、潜伏期相关蛋白2LRP2、神经毒力因子RL1(ICP34.5)、潜伏期关联转录物LAT;夹膜组织胞浆菌的热休克蛋白Hsp60、细胞表面蛋白H1C、二肽基肽酶IV型DppIV、M抗原、70kDa蛋白、17kDa组蛋白样蛋白;十二指肠钩口线虫和美洲板口线虫的脂肪酸和视黄醇结合蛋白-1FAR-1、金属蛋白酶组织抑制剂TIMP(TMP)、半胱氨酸蛋白酶ACEY-1、半胱氨酸蛋白酶ACCP-1、表面抗原Ac-16、分泌蛋白2ASP-2、金属蛋白酶1MTP-1、天冬氨酰蛋白酶抑制剂API-1、表面关联抗原SAA-1、表面关联抗原SAA-2、成人特异性分泌因子Xa、丝氨酸蛋白酶抑制剂抗凝血剂AP、组织蛋白酶D样天冬氨酸蛋白酶ARR-1、谷胱甘肽S-转移酶GST、天冬氨酸蛋白酶APR-1、乙酰胆碱酯酶AChE;人博卡病毒(HBoV)的蛋白NS1、蛋白NP1、蛋

白VP1、蛋白VP2、蛋白VP3;埃翁氏埃里希氏体的主要表面蛋白2MSP2、主要表面蛋白4MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白;嗜吞噬细胞无形体的主要表面蛋白1-5(MSP1a、MSP1b、MSP2、MSP3、MSP4、MSP5)、IV型分泌系统蛋白VirB2、VirB7、VirB11、VirD4;人偏肺病毒(hMPV)的蛋白NS1、小型疏水蛋白NS2、SH蛋白、融合蛋白F、糖蛋白G、基质蛋白M、基质蛋白M2-1、基质蛋白M2-2、磷蛋白P、核蛋白N、聚合酶L;恰菲埃里希氏体的主要表面蛋白2MSP2、主要表面蛋白4MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白;人乳头瘤病毒(HPV)的复制蛋白E1、调节蛋白E2、蛋白E3、蛋白E4、蛋白E5、蛋白E6、蛋白E7、蛋白E8、主要衣壳蛋白L1、次要衣壳蛋白L2;人副流感病毒(HPIV)的融合蛋白F、血凝素-神经氨酸酶HN、糖蛋白G、基质蛋白M、磷蛋白P、核蛋白N、聚合酶L;正粘病毒科流感病毒(flu)的血凝素(HA)、神经氨酸酶(NA)、核蛋白(NP)、M1蛋白、M2蛋白、NS1蛋白、NS2蛋白(NEP蛋白:核输出蛋白)、PA蛋白、PB1蛋白(聚合酶碱性蛋白1)、PB1-F2蛋白和PB2蛋白;日本脑炎病毒的基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C;金格杆菌的RTX毒素、IV型菌毛、主要菌毛亚基PilA、调节性转录因子PilS和PilR、蛋白σ54、外膜蛋白;朊病毒蛋白库鲁朊病毒;拉沙病毒的核蛋白N、聚合酶L、基质蛋白Z、糖蛋白GP;嗜肺性军团病杆菌的肽聚糖关联脂蛋白PAL、60kDa伴侣蛋白Cpn60(groEL、HspB)、IV型菌毛蛋白PilE、外膜蛋白MIP、主要外膜蛋白MompS、锌金属蛋白酶MSP;利什曼原虫属的P4核酸酶、蛋白WD、核糖核苷酸还原酶M2、表面膜糖蛋白Pg46、半胱氨酸蛋白酶CP、葡萄糖调节蛋白78GRP-78、阶段特异性S抗原样蛋白A2、ATP酶F1、β-微管蛋白、热休克蛋白70Hsp70、KMP-11、糖蛋白GP63、蛋白BT1、核苷水解酶NH、细胞表面蛋白B1、核糖体蛋白P1样蛋白P1、固醇24-c-甲基转移酶SMT、LACK蛋白、组蛋白H1、SPB1蛋白、巯基特异性抗氧化因子TSA、蛋白质抗原ST11、信号肽酶SP、组蛋白H2B、表面抗原PSA-2、半胱氨酸蛋白酶b Cpb;麻风分枝杆菌的主要膜蛋白I、富含丝氨酸的抗原-45kDa、10kDa伴侣蛋白GroES、HSP kDa抗原、氨基氧代壬酸合酶AONS、蛋白重组酶A RecA、乙酰/丙酰辅酶A羧化酶α、丙氨酸消旋酶、60kDa伴侣蛋白2、ESAT-6样蛋白EcxB(L-ESAT-6)、蛋白Lsr2、蛋白ML0276、肝素结合血凝素HBHA、热休克蛋白65 Hsp65、mycP1或ML0041编码蛋白、htrA2或ML0176编码蛋白、htrA4或ML2659编码蛋白、gcp或ML0379编码蛋白、clpC或ML0235编码蛋白;钩端螺旋体属的外膜蛋白LipL32、膜蛋白LIC10258、膜蛋白LP30、膜蛋白LIC12238、Ompa样蛋白Lsa66、表面蛋白LigA、表面蛋白LigB、主要外膜蛋白OmpL1、外膜蛋白LipL41、蛋白LigAni、表面蛋白LcpA、粘附蛋白LipL53、外膜蛋白UpL32、表面蛋白Lsa63、鞭毛蛋白FlaB1、膜脂蛋白LipL21、膜蛋白pL40、钩端螺旋体表面粘附素Lsa27、外膜蛋白OmpL36、外膜蛋白OmpL37、外膜蛋白OmpL47、外膜蛋白OmpL54、酰基转移酶LpxA;单核细胞增多性李斯特菌的李斯特菌溶素O前体Hly(LLO)、侵袭关联蛋白Iap(P60)、李斯特菌溶素调节蛋白PrfA、锌金属蛋白酶Mpl、磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C PLC(PlcA、PlcB)、O-乙酰基转移酶Oat、ABC-转运蛋白通透酶Im.G_1771、粘附蛋白LAP、LAP受体Hsp60、粘附素LapB、溶血素李斯特菌溶素O LLO、蛋白ActA、内化蛋白A InlA、蛋白lnlB;例如、博氏疏螺旋体和其它疏

螺旋体属种类的外表面蛋白A OspA、外表面蛋白OspB、外表面蛋白OspC、核心蛋白聚糖结合蛋白A DbpA、核心蛋白聚糖结合蛋白B DbpB、鞭毛丝41kDa核心蛋白Fla、碱性膜蛋白A BmpA(免疫优势抗原P39)、外表面22kDa脂蛋白前体(抗原IPLA7)、可变表面脂蛋白vlsE;毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1 ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白CPI-2、蛋白Cox-2(班氏线虫和马来丝虫、淋巴丝虫病(象皮病));淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)的糖蛋白GP、基质蛋白Z、聚合酶L、核蛋白N;血小板反应蛋白相关的无名蛋白TRAP、SSP2子孢子表面蛋白2、顶端膜抗原1 AMA1、棒状体膜抗原RMA1、酸碱重复抗原ABRA、细胞穿越蛋白PF、蛋白Pvs25、裂殖子表面蛋白1 MSP-1、裂殖子表面蛋白2 MSP-2、环状体感染的红细胞表面抗原RESA肝阶段抗原3 LSA-3、蛋白Eba-175、丝氨酸重复抗原5 SERA-5、环子孢子蛋白CS、裂殖子表面蛋白3 MSP3、裂殖子表面蛋白8 MSP8、烯醇酶PF10、肝细胞红细胞蛋白17kDa HEP17、红细胞膜蛋白1 EMP1、蛋白质Kβ裂殖子表面蛋白4/5 MSP4/5、热休克蛋白Hsp90、富含谷氨酸的蛋白GLURP、裂殖子表面蛋白4 MSP-4、蛋白STARP、环子孢子蛋白相关抗原前体CRA(疟原虫属、疟疾);马尔堡病毒的核蛋白N、膜关联蛋白VP24、次要核蛋白VP30、聚合酶辅因子VP35、聚合酶L、基质蛋白VP40、包膜糖蛋白GP;麻疹病毒的蛋白C、基质蛋白M、磷蛋白P、非结构蛋白V、血凝素糖蛋白H、聚合酶L、核蛋白N、融合蛋白F;假鼻疽伯克霍尔德菌的ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A(BimA)、细菌延伸因子-Tu EF-Tu、17kDa OmpA样蛋白、boaA编码蛋白、boaB编码蛋白;脑膜炎奈瑟氏菌的的菌毛蛋白、次要菌毛蛋白关联亚基pilC、主要菌毛蛋白亚基和变体pilE、pilS、相变异蛋白porA、孔蛋白B PorB、蛋白TraD、奈瑟氏菌外膜抗原H.8、70kDa抗原、主要外膜蛋白PI、外膜蛋白P1A和P1B、W抗原、表面蛋白A NspA、转铁蛋白结合蛋白TbpA、转铁蛋白结合蛋白TbpB、PBP2、mtrR编码蛋白、ponA编码蛋白、膜通透酶FbpBC、FbpABC蛋白系统、LbpAB蛋白、外膜蛋白Opa、外膜转运蛋白FetA、铁抑制调节因子MpeR、因子H结合蛋白fHbp、粘附素NadA、蛋白NhbA、阻抑蛋白FarR;例如、横川后殖吸虫的66kDa蛋白、22kDa蛋白;微孢子虫门的极管蛋白(对于格留虫属为34kDa、75kDa和170kDa、对于脑炎微孢子虫属为35kDa、55kDa和150kDa)、驱动蛋白相关蛋白、RNA聚合酶II最大亚基、整合膜蛋白YIPA相似物、抗沉默蛋白1、热休克转录因子HSF、蛋白激酶、胸苷激酶、NOP-2样核仁蛋白;接触传染性软疣病毒(MCV)的CASP8和FADD样凋亡调节因子、谷胱甘肽过氧化物酶GPX1、RNA解旋酶NPH-II NPH2、聚(A)聚合酶催化亚基PAPL、主要包膜蛋白P43K、早期转录因子70kDa亚基VETFS、早期转录因子82kDa亚基VETFL、金属内肽酶G1型、核苷三磷酸酶I NPH1、复制蛋白A28样MC134L、RNA聚合酶7kDa亚基RPO7;腮腺炎病毒的基质蛋白M、磷蛋白P/V、小型疏水蛋白SH、核蛋白N、蛋白V、融合糖蛋白F、血凝素-神经氨酸酶HN、RNA聚合酶L;伤寒立克次体的外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D、结晶表面层蛋白SLP、保护性表面蛋白抗原SPA;肺炎支原体的粘附素P1、粘附蛋白

P30、蛋白p116、蛋白P40、细胞骨架蛋白HMW1、细胞骨架蛋白HMW2、细胞骨架蛋白HMW3、MPN152编码蛋白、MPN426编码蛋白、MPN456编码蛋白、MPN-500编码蛋白；例如、星形诺卡氏菌和其它诺卡氏菌属种类的NocA、铁依赖性调节蛋白、VapA、VapD、VapF、VapG、酪蛋白裂解蛋白酶、丝状体尖端关联的43-kDa蛋白、蛋白P24、蛋白P61、15-kDa蛋白、56-kDa蛋白；旋盘尾丝虫的毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(如肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1 ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白CPI-2、Cox-2；巴西副球孢子菌的43kDa分泌糖蛋白、糖蛋白gp0、糖蛋白gp75、抗原Pb27、抗原Pb40、热休克蛋白Hsp65、热休克蛋白Hsp70、热休克蛋白Hsp90、蛋白P10、磷酸丙糖异构酶TPI、N-乙酰葡萄糖胺结合凝集素副球菌素、28kDa蛋白Pb28；例如、卫氏并殖吸虫和其它并殖吸虫属种类的28-kDa克鲁兹蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶Pw28CCP；巴斯德菌属的外膜蛋白OmpH、外膜蛋白Omp28、蛋白PM1539、蛋白PM0355、蛋白PM1417、修复蛋白MutL、蛋白BcbC、蛋白PM0305、甲酸脱氢酶-N、蛋白PM0698、蛋白PM1422、DNA旋转酶、脂蛋白PlpE、粘附蛋白Cp39、血红素获取系统受体HasR、39kDa荚膜蛋白、铁调节的OMP IROMP、外膜蛋白OmpA87、菌毛蛋白Ptf、菌毛亚基蛋白PtfA、转铁蛋白结合蛋白Tbpl、酯酶MesA、多杀性巴氏杆菌毒素PMT、粘附蛋白Cp39；百日咳博德特氏菌的丝状血凝素FhaB、腺苷酸环化酶CyaA、百日咳毒素亚基4前体PtxD、百日咳杆菌粘附素前体Prn、毒素亚基1 PtxA、蛋白Cpn60、蛋白brkA、百日咳毒素亚基2前体PtxB、百日咳毒素亚基3前体PtxC、百日咳毒素亚基5前体PtxE、百日咳杆菌粘附素Prn、蛋白Fim2、蛋白Fim3；鼠疫耶尔森菌的F1胶囊抗原、毒力关联V抗原、分泌的效应蛋白LcrV、V抗原、外膜蛋白酶Pla、分泌的效应蛋白YopD、推定的分泌蛋白-酪氨酸磷酸酶YopH、针状复合物主要亚基YscF、蛋白激酶YopO、推定的自转运蛋白YapF、内膜ABC-转运蛋白YbtQ(Irp7)、推定的糖结合蛋白YPO0612、热休克蛋白90HtpG、推定的硫酸酯酶蛋白YdeN、外膜脂蛋白载体蛋白LolA、分泌伴侣蛋白YerA、推定的脂蛋白YPO0420、溶血素激活蛋白HpmB、鼠疫巴氏杆菌素/耶尔森杆菌素外膜受体Psn、分泌的效应蛋白YopE、分泌的效应蛋白YopF、分泌的效应蛋白YopK、外膜蛋白YopN、外膜蛋白YopM、凝固酶/溶纤维蛋白溶酶前体Pla；肺炎链球菌的蛋白PhpA、表面粘附素PsaA、肺炎球菌溶素Ply、ATP依赖性蛋白酶Clp、硫辛酸蛋白连接酶LplA、细胞壁表面锚定蛋白psrP、分选酶SrtA、谷氨酰基-tRNA合成酶GltX、胆碱结合蛋白A CbpA、肺炎球菌表面蛋白A PspA、肺炎球菌表面蛋白C PspC、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶Gnd、铁结合蛋白PiaA、胞壁质水解酶LytB、蛋白LytC、蛋白酶A1；耶氏肺孢子虫的主要表面蛋白B、kexin样蛋白酶KEX1、蛋白A12、55kDa抗原P55、主要表面糖蛋白Msg；脊髓灰质炎病毒的基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C；例如、福氏耐格里阿米巴的蛋白Nfa1、毒蜥外泌肽-3、分泌脂肪酶、组织蛋白酶B样蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、组织蛋白酶、过氧化物毒素、蛋白Cry1Ac；JC病毒的阿格诺蛋白、大型T抗原、小型T抗原、主要衣壳蛋白VP1、次要衣壳蛋白Vp2；鹦鹉热衣原体的低钙反应蛋白ELCrE、衣原体外蛋白N CopN、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PknD、酰基载体-蛋白S-丙二酰转移酶

FabD、单链DNA结合蛋白Ssb、主要外膜蛋白MOMP、外膜蛋白2(Omp2)、多态性膜蛋白家族(如Pmp1、Pmp2、Pmp3、Pmp4、Pmp5、Pmp6、Pmp7、Pmp8、Pmp9、Pmp10、Pmp11、Pmp12、Pmp13、Pmp14、Pmp15、Pmp16、Pmp17、Pmp18、Pmp19、Pmp20、Pmp21)；贝纳特氏立克次体的外膜蛋白P1、热休克蛋白B HspB、肽ABC转运蛋白、GTP结合蛋白、蛋白IcmB、核糖核酸酶R、磷酸酶SixA、蛋白DsbD、外膜蛋白TolC、DNA结合蛋白PhoB、ATP酶DotB、热休克蛋白B(HspB)、膜蛋白Com1、28kDa蛋白、DNA-3-甲基腺嘌呤糖苷酶I、外膜蛋白OmpH、外膜蛋白AdaA、甘氨酸切割系统T-蛋白；狂犬病病毒的核蛋白N、大型结构蛋白L、磷蛋白P、基质蛋白M、糖蛋白G；呼吸道合胞体病毒(RSV)的融合蛋白F、核蛋白N、基质蛋白M、基质蛋白M2-1、基质蛋白M2-2、磷蛋白P、小型疏水蛋白SH、主要表面糖蛋白G、聚合酶L、非结构蛋白1 NS1、非结构蛋白2 NS2；鼻病毒的基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C；立克次体属的外膜(OM)蛋白、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、蛋白PS120、胞质内蛋白D、保护性表面蛋白抗原SPA；小蛛立克次氏体的外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D；裂谷热病毒的包膜糖蛋白GP、聚合酶L、核蛋白N、非结构蛋白NSS；立氏立克次体的外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D；轮状病毒的非结构蛋白6 NS6、非结构蛋白2 NS2、中间衣壳蛋白VP6、内衣壳蛋白VP2、非结构蛋白3 NS3、RNA指导的RNA聚合酶L、蛋白VP3、非结构蛋白1 NS1、非结构蛋白5 NS5、外衣壳糖蛋白VP7、非结构糖蛋白4 NS4、外衣壳蛋白VP4；风疹病毒的多聚蛋白P200、糖蛋白E1、糖蛋白E2、蛋白NS2、衣壳蛋白C；沙门氏菌属的伴侣蛋白GroEL(MopA)、肌醇磷酸磷酸酶SopB、热休克蛋白HslU、伴侣蛋白DnaJ、蛋白TviB、蛋白IroN、鞭毛蛋白FliC、侵袭蛋白SipC、糖蛋白gp43、外膜蛋白LamB、外膜蛋白PagC、外膜蛋白TolC、外膜蛋白NmpC、外膜蛋白FadL、转运蛋白SadA、转移酶WgaP、效应蛋白SifA、SteC、SseL、SseJ和SseF；SARS冠状病毒的蛋白14、非结构蛋白NS7b、非结构蛋白NS8a、蛋白9b、蛋白3a、核蛋白N、非结构蛋白NS3b、非结构蛋白NS6、蛋白7a、非结构蛋白NS8b、膜蛋白M、包膜小型膜蛋白EsM、复制酶多聚蛋白1a、纤突糖蛋白S、复制酶多聚蛋白1ab；疥螨的丝氨酸蛋白酶、非典型疥螨抗原1ASA1、谷胱甘肽S-转移酶(GST)、半胱氨酸蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、载脂蛋白；血吸虫属的谷胱甘肽S-转移酶(GST)、副肌球蛋白、血红蛋白酶SM32、主要卵抗原、14kDa脂肪酸结合蛋白Sm14、主要幼虫表面抗原P37、22.6kDa表膜抗原、钙蛋白酶CANP、三磷酸异构酶Tim、表面蛋白9B、外衣壳蛋白VP2、23kDa整合膜蛋白Sm23、Cu/Zn-超氧化物歧化酶、糖蛋白Gp、肌球蛋白；恙虫病东方体的60kDa伴侣蛋白、56kDa型特异性抗原、丙酮酸磷酸二激酶、4-羟基苯甲酸酯辛烯基转移酶；志贺氏菌属的脱氢酶GuaB、侵袭蛋白Spa32、侵袭素IpaA、侵袭素IpaB、侵袭素IpaC、侵袭素IpaD、侵袭素IpaH、侵袭素IpaJ；水痘-带状疱疹病毒(VZV)的蛋白P53、病毒体蛋白US10同源物、转录调节因子IE63、转录反式激活因子IE62、蛋白酶P33、α反式诱导因子74kDa蛋白、脱氧尿苷5'-核苷三磷酸水解酶、转录反式激活因子IE4、膜蛋白UL43同源物、核磷蛋白UL3同源物、核蛋白UL4同源物、复制起点结合蛋白、膜蛋白2、磷蛋白32、蛋白57、DNA聚合酶持续合成因子、门蛋白54、DNA引发酶、表膜蛋白UL14同源物、表膜蛋白UL21同源物、表膜蛋白UL55同源物、三联终止酶亚基UL33同源物、三联终止酶亚基UL15同源物、衣壳结合蛋白44、病毒体包装蛋白43；重型天花和轻型天花的截短3-β羟基-5-烯类固醇脱氢酶同源物、病毒体膜蛋白A13、蛋

白A19、蛋白A31、截短蛋白A35同源物、蛋白A37.5同源物、蛋白A47、蛋白A49、蛋白A51、信号素样蛋白A43、丝氨酸蛋白酶抑制剂1、丝氨酸蛋白酶抑制剂2、丝氨酸蛋白酶抑制剂3、蛋白A6、蛋白B15、蛋白C1、蛋白C5、蛋白C6、蛋白F7、蛋白F8、蛋白F9、蛋白F11、蛋白F14、蛋白F15、蛋白F16;申克孢子丝菌的粘附素/糖蛋白gp70、蛋白酶;葡萄球菌属(如金黄色葡萄球菌)的血红素-铁结合蛋白IsdB、胶原粘附素Cna、聚集因子A(ClfA)、蛋白MecA、纤连蛋白结合蛋白A(FnbA)、肠毒素A型(EntA)、肠毒素B型(EntB)、肠毒素C型EntC1、肠毒素C型EntC2、肠毒素D型(EntD)、肠毒素E型(EntE)、毒性休克综合征毒素-1(TSST-1)、葡萄球菌激酶、青霉素结合蛋白2a(PBP2a、MecA)、分泌抗原SssA;粪类圆线虫的抗原Ss-IR、抗原NIE、圆线虫虾红素、Na+-K+ATP酶Sseat-6、原肌球蛋白SsTmy-1、蛋白LEC-5、41kDa抗原P5、41-kDa幼虫蛋白、31-kDa幼虫蛋白、28-kDa幼虫蛋白;苍白密螺旋体的甘油磷酸二酯磷酸二酯酶GlpQ(Gpd)、外膜蛋白TmpB、蛋白Tp92、抗原TpF1、重复蛋白Tpr、重复蛋白F TprF、重复蛋白G TprG、重复蛋白I TprI、重复蛋白J TprJ、重复蛋白K TprK、密螺旋体膜蛋白A(TmpA)、脂蛋白、15kDa Tpp15、47kDa膜抗原、小铁蛋白TpF1、粘附素Tp0751、脂蛋白TP0136、蛋白TpN17、蛋白TpN47、外膜蛋白TP0136、外膜蛋白TP0155、外膜蛋白TP0326、外膜蛋白TP0483、外膜蛋白TP0956;绦虫属的组织蛋白酶L样蛋白酶、53/25-kDa抗原、8kDa家族成员、具有微弱胰蛋白酶样活性的囊尾蚴蛋白TsAg5、六钩蚴蛋白TSOL18、六钩蚴蛋白TSOL45-1A、乳酸脱氢酶A LDHA、乳酸脱氢酶B LDHB;破伤风梭状芽胞杆菌的破伤风毒素TetX、破伤风毒素C TTC、140kDa S层蛋白、黄素蛋白β亚基CT3、磷脂酶(卵磷脂酶)、磷酸载体蛋白HPr;蜱传脑炎病毒(TBEV)的基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C;犬弓蛔虫或猫弓蛔线虫的58-kDa抗原、68-kDa抗原、弓蛔虫幼虫排泄分泌抗原TES、32-kDa糖蛋白、糖蛋白TES-70、糖蛋白GP31、排泄分泌抗原TcES-57、肠周液抗原Pe、可溶性提取物抗原Ex、排泄/分泌幼虫抗原ES、抗原TES-120、多聚蛋白过敏原TBA-1、组织蛋白酶L样半胱氨酸蛋白酶c-cpl-1、26-kDa蛋白;刚地弓形虫的微丝蛋白(如MIC1、MIC2、MIC3、MIC4、MIC5、MIC6、MIC7或MIC8)、棒状体蛋白Rop2、棒状体蛋白(如Rop1、Rop2、Rop3、Rop4、Rop5、Rop6、Rop7、Rop16或Rjop17)、蛋白SR1、表面抗原P22、主要抗原p24、主要表面抗原p30、致密颗粒蛋白(如GRA1、GRA2、GRA3、GRA4、GRA5、GRA6、GRA7、GRA8、GRA9或GRA10)、28kDa抗原、表面抗原SAG1、SAG2相关抗原、核苷三磷酸酶1、核苷三磷酸酶2、蛋白Stt3、含HesB样结构域的蛋白质、菱形样蛋白酶5、毒霉素1;旋毛虫的43kDa分泌糖蛋白、53kDa分泌糖蛋白、副肌球蛋白、抗原Ts21、抗原Ts87、抗原p46000、TSL-1抗原、小窝蛋白-1 CAV-1、49kDa新生幼虫抗原、鞘脂激活蛋白原同源物、丝氨酸蛋白酶、丝氨酸蛋白酶抑制剂、45-kDa糖蛋白Gp45;阴道滴虫的Myb样转录因子(Myb1、Myb2、Myb3)、粘附蛋白AP23、粘附蛋白AP33、粘附素蛋白AP33-3、粘附素AP51、粘附素AP65、粘附蛋白AP65-1、α-辅肌动蛋白、驱动蛋白关联蛋白、teneurin、62kDa蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶样丝氨酸蛋白酶SUB1、半胱氨酸蛋白酶基因3CP3、α-烯醇化酶Eno1、半胱氨酸蛋白酶CP30、热休克蛋白Hsp70和Hsp60、免疫原性蛋白P270;毛首鞭虫的β-微管蛋白、47-kDa蛋白、分泌性白细胞样蛋白酶-1SLP-1、50-kDa蛋白质TT50、17kDa抗原、43/47kDa蛋白;例如、结核分枝杆菌的蛋白ESAT-6(EsxA)、10kDa滤液抗原EsxB、分泌的抗原85-B FBPB、纤连蛋白结合蛋白A FbpA(Ag85A)、丝氨酸蛋白酶PepA、PPE家族蛋白PPE18、纤连蛋白结合蛋白D FbpD、免疫原性蛋白MPT64、分泌的蛋白MPT51、过氧化氢酶-过氧化物酶-过氧亚硝酸酶T KATG、周质磷酸盐结合脂蛋白PSTS3(PBP-3、Phos-1)、铁调节的肝素结合血凝素Hbha、PPE家族蛋白PPE14、PPE家族蛋白

PPE68、蛋白Mtb72F、蛋白Apa、免疫原性蛋白MPT63、周质磷酸结合脂蛋白PSTS1(PBP-1)、分子伴侣DnaK、细胞表面脂蛋白Mpt83、脂蛋白P23、磷酸盐转运系统通透酶蛋白pstA、14kDa抗原、纤连蛋白结合蛋白C FbpC1、丙氨酸脱氢酶TB43、谷氨酰胺合成酶1、ESX-1蛋白、蛋白CFP10、TB10.4蛋白、蛋白MPT83、蛋白MTB12、蛋白MTB8、Rpf样蛋白、蛋白MTB32、蛋白MTB39、晶体蛋白、热休克蛋白HSP65、蛋白PST-S;土拉热弗朗西斯氏菌的外膜蛋白FobA、外膜蛋白FobB、胞内生长基因座lglC1、胞内生长基因座IglC2、转氨酶Wbtl、伴侣蛋白GroEL、17kDa主要膜蛋白TUL4、脂蛋白LpnA、几丁质酶家族18蛋白、异柠檬酸脱氢酶、Nif3家族蛋白、IV型菌毛糖基化蛋白、外膜蛋白tolC、FAD结合家族蛋白、IV型菌毛多聚体外膜蛋白、双组分传感蛋白KdpD、伴侣蛋白DnaK、蛋白TolQ;解脲脲原体的MB抗原、尿素酶、蛋白GyrA、蛋白GyrB、蛋白ParC、蛋白ParE、脂质关联的膜蛋白LAMP、胸苷激酶TK、磷脂酶PL-A1、磷脂酶PL-A2、磷脂酶PL-C、表面表达的96-kDa抗原;委内瑞拉马脑炎病毒的非结构多聚蛋白、结构多聚蛋白、衣壳蛋白CP、蛋白E1、蛋白E2、蛋白E3、蛋白酶P1、蛋白酶P2、蛋白酶P3;瓜纳瑞托病毒的糖蛋白GP、基质蛋白Z、聚合酶L、核蛋白N;西尼罗病毒的多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C、蛋白酶NS3、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白AS2B、蛋白NS4A、蛋白NS4B、蛋白NS5;西方马脑炎病毒的衣壳蛋白CP、蛋白E1、蛋白E2、蛋白E3、蛋白酶P2;黄热病病毒的基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C、蛋白酶NS3、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白AS2B、蛋白NS4A、蛋白NS4B、蛋白NS5;假结核耶尔森菌的推定的Yop靶向蛋白YobB、效应蛋白YopD、效应蛋白YopE、蛋白YopH、效应蛋白YopJ、蛋白质易位蛋白YopK、效应蛋白YopT、蛋白YpkA、鞭毛生物合成蛋白FlhA、肽酶M48、钾外流系统KefA、转录调节因子RovA、粘附素Ifp、易位蛋白LcrV、蛋白PcrV、侵袭素Inv、外膜蛋白OmpF样孔蛋白、粘附素YadA、蛋白激酶C、磷脂酶C1、蛋白PsaA、甘露糖基转移酶样蛋白WbyK、蛋白YscU、抗原YPMa;结肠炎耶尔森菌的效应蛋白YopB、60kDa伴侣素、蛋白WbcP、酪氨酸蛋白磷酸酶YopH、蛋白YopQ、肠毒素、半乳糖苷通透酶、还原酶NrdE、蛋白YasN、侵袭素Inv、粘附素YadA、外膜孔蛋白F OmpF、蛋白UspA1、蛋白EibA、蛋白Hia、细胞表面蛋白质Ail、分子伴侣SycD、蛋白LcrD、蛋白LcrG、蛋白LcrV、蛋白SycE、蛋白YopE、调节蛋白TyeA、蛋白YopM、蛋白YopN、蛋白YopO、蛋白YopT、蛋白YopD、蛋白酶ClpP、蛋白MyfA、蛋白FilA和蛋白PsaA。

28.根据权利要求24所述的方法,其中所述癌症或肿瘤选自由以下各项所组成的组:急性成淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病、肾上腺皮质癌、AIDS相关癌症、AIDS相关淋巴瘤、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤、脑干胶质瘤、脑肿瘤、小脑星形细胞瘤、大脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、幕上原始神经外胚层肿瘤、视觉通路和下丘脑胶质瘤、乳腺癌、支气管腺瘤/类癌、伯基特淋巴瘤、儿童类癌瘤、胃肠类癌瘤、不明原发性癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、儿童期小脑星形细胞瘤、儿童期大脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤、子宫颈癌、儿童期癌症、慢性淋巴细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性骨髓增殖性疾病、结肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、促结缔组织增生小圆细胞瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、尤文氏肉瘤家族中的尤文氏肉瘤、儿童颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼内黑素瘤、视网膜母细胞瘤、胆囊癌、胃(胃部)癌、胃肠类癌瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、颅外、性腺外或卵巢生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞肿瘤、脑干胶质瘤、儿童大脑星形细胞瘤、儿童视觉通路和下丘脑胶质瘤、胃类癌、多毛细胞白血病、头颈癌、心癌、肝细胞(肝脏)癌、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、儿童下丘脑和

视觉通路胶质瘤、眼内黑素瘤、胰岛细胞癌(内分泌胰腺)、卡波西肉瘤、肾癌(肾细胞癌)、喉癌、白血病、急性成淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性骨髓性白血病、多毛细胞白血病、唇及口腔癌、脂肪肉瘤、肝癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、淋巴瘤、艾滋病相关淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨/骨肉瘤的恶性纤维组织细胞瘤、儿童成神经管细胞瘤、黑素瘤、眼内(眼部)黑素瘤、梅克尔细胞癌、成人恶性间皮瘤、儿童间皮瘤、原发灶隐匿转移性颈部鳞状癌、口部癌症、儿童期多发性内分泌腺瘤综合征、多发性骨髓瘤/浆细胞瘤、蕈样真菌病、骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病、慢性粒细胞白血病、成人急性髓细胞性白血病、儿童急性髓细胞性白血病、多发性骨髓瘤(骨髓癌)、慢性骨髓增殖性疾病、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、成神经细胞瘤、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤/骨恶性纤维组织细胞瘤、卵巢癌、卵巢上皮癌(表面上皮-间质肿瘤)、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢轻度恶性潜能肿瘤、胰腺癌、胰岛细胞胰腺癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、松果体星形细胞瘤、松果体生殖细胞瘤、儿童成松果体细胞瘤和幕上原始神经外胚层肿瘤、垂体腺瘤、浆细胞瘤/多发性骨髓瘤、胸膜肺母细胞瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌(肾癌)、肾盂和输尿管癌、视网膜母细胞瘤、儿童横纹肌肉瘤、唾液腺癌、尤文氏肉瘤家族肿瘤、卡波西肉瘤、软组织肉瘤、子宫肉瘤、塞泽里综合征、皮肤癌(非黑素瘤)、皮肤癌(黑素瘤)、梅克尔细胞皮肤癌、小肠癌、鳞状细胞癌、原发灶隐匿转移性颈部鳞状癌、儿童幕上原始神经外胚层肿瘤、睾丸癌、喉癌、儿童胸腺瘤、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、儿童甲状腺癌、肾盂及输尿管移行细胞癌、妊娠滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫内膜癌、子宫肉瘤、阴道癌、儿童视觉通路和下丘脑胶质瘤、外阴癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、和儿童肾母细胞瘤(肾癌)。

29.根据权利要求1至24和28中任一项所述的方法,其中所述m种不同DNA分子种类中的每一种编码所述n种不同RNA分子种类中的一种或多种,其中所述n种不同RNA分子种类中的每一种编码不同的癌症或肿瘤抗原,所述癌症或肿瘤抗原选自由以下各项所组成的组:5T4、707-AP、9D7、AFP、AlbZIP HPG1、α-5-β-1-整合素、α-5-β-6-整合素、α-辅肌动蛋白-4/m、α-甲基酰基-辅酶A消旋酶、ART-4、ARTC1/m、B7H4、BAGE-1、BCL-2、bcr/abl、β-连环蛋白/m、BING-4、BRCA1/m、BRCA2/m、CA 15-3/CA 27-29、CA 19-9、CA72-4、CA125、钙网蛋白、CAMEL、CASP-8/m、组织蛋白酶B、组织蛋白酶L、CD19、CD20、CD22、CD25、CDE30、CD33、CD4、CD52、CD55、CD56、CD80、CDC27/m、CDK4/m、CDKN2A/m、CEA、CLCA2、CML28、CML66、COA-1/m、毛状蛋白样蛋白、胶原XXIII、COX-2、CT-9/BRD6、Cten、周期素B1、周期素D1、cyp-B、CYPB1、DAM-10、DAM-6、DEK-CAN、EFTUD2/m、EGFR、ELF2/m、EMMPRIN、EpCam、EphA2、EphA3、ErbB3、ETV6-AML1、EZH2、FGF-5、FN、Frau-1、G250、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE7b、GAGE-8、GDEP、GnT-V、gp100、GPC3、GPNMB/m、HAGE、HAST-2、hepsin、Her2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A*0201-R17I、HLA-A11/m、HLA-A2/m、HNE、同源框NKX3.1、HOM-TES-14/SCP-1、HOM-TES-85、HPV-E6、HPV-E7、HSP70-2M、HST-2、hTERT、iCE、IGF-1R、IL-13Ra2、IL-2R、IL-5、未成熟层粘连蛋白受体、激肽释放酶-2、激肽释放酶-4、Ki67、KIAA0205、KIAA0205/m、KK-LC-1、K-Ras/m、LAGE-A1、LDLR-FUT、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-B1、MAGE-B2、MAGE-B3、MAGE-B4、MAGE-B5、MAGE-B6、MAGE-B10、MAGE-B16、MAGE-B17、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-D1、MAGE-D2、

MAGE-D4、MAGE-E1、MAGE-E2、MAGE-F1、MAGE-H1、MAGEL2、乳腺球蛋白A、MART-1/melan-A、MART-2、MART-2/m、基质蛋白22、MC1R、M-CSF、ME1/m、间皮素、MG50/PXDN、MMP11、MN/CA IX-抗原、MRP-3、MUC-1、MUC-2、MUM-1/m、MUM-2/m、MUM-3/m、I类肌球蛋白/m、NA88-A、N-乙酰基葡萄糖胺转移酶-V、Neo-PAP、Neo-PAP/m、NFYC/m、NGEP、NMP22、NPM/ALK、N-Ras/m、NSE、NY-ESO-B、NY-ESO-1、OA1、OFA-iLRP、OGT、OGT/m、OS-9、OS-9/m、骨钙蛋白、骨桥蛋白、p15、p190次要bcr-abl、p53、p53/m、PAGE-4、PAI-1、PAI-2、PAP、PART-1、PATE、PDEF、Pim-1-激酶、Pin-1、Pml/PARα、POTE、PRAME、PRDX5/m、前列腺特异性蛋白、蛋白酶-3、PSA、PSCA、PSGR、PSM、PSMA、PTPRK/m、RAGE-1、RBAF600/m、RHAMM/CD168、RU1、RU2、S-100、SAGE、SART-1、SART-2、SART-3、SCC、SIRT2/m、Sp17、SSX-1、SSX-2/HOM-MEL-40、SSX-4、STAMP-1、STEAP-1、生存素、生存素-2B、SYT-SSX-1、SYT-SSX-2、TA-90、TAG-72、TARP、TEL-AML1、TGFβ、TGFβRII、TGM-4、TPI/m、TRAG-3、TRG、TRP-1、TRP-2/6b、TRP/INT2、TRP-p8、酪氨酸酶、UPA、VEGFR1、VEGFR-2/FLK-1和WT1。这类肿瘤抗原可以优选地选自由以下各项所组成的组:p53、CA125、EGFR、Her2/neu、hTERT、PAP、MAGE-A1、MAGE-A3、间皮素、MUC-1、GP100、MART-1、酪氨酸酶、PSA、PSCA、PSMA、STEAP-1、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、Ras、CEA或WT1,且更优选地来自PAP、MAGE-A3、WT1和MUC-1,优选地选自由以下各项所组成的组:MAGE-A1,例如根据登录号M77481的MAGE-A1,MAGE-A2,MAGE-A3,MAGE-A6,例如根据登录号NM_005363的MAGE-A6,MAGE-C1,MAGE-C2,melan-A,例如根据登录号NM_005511的melan-A,GP100,例如根据登录号M77348的GP100,酪氨酸酶,例如根据登录号NM_000372的酪氨酸酶,生存素,例如根据登录号AF077350的生存素,CEA,例如根据登录号NM_004363的CEA,Her-2/neu,例如根据登录号M11730的Her-2/neu,WT1,例如根据登录号NM_000378的WT1,PRAME,例如根据登录号NM_006115的PRAME,EGFRI(表皮生长因子受体1),例如根据登录号AF288738的EGFRI(表皮生长因子受体1),MUC1,粘液素-1,例如根据登录号NM_002456的粘液素-1,SEC61G,例如根据登录号NM_014302的SEC61G,hTERT,例如登录号NM_198253的hTERT,5T4,例如根据登录号NM_006670的5T4,TRP-2,例如根据登录号NM_001922的TRP-2,STEAP1,PCA,PSA和PSMA。

30.一种根据前述权利要求中任一项所述的方法生产的RNA分子组合物。

31.根据权利要求30所述的RNA分子组合物,其包含至少一种与选自由阳离子和聚阳离子化合物所组成的组中的一种或多种成员复合的RNA分子(复合的RNA分子),优选地所述一种或多种成员选自由阳离子和聚阳离子聚合物,阳离子和聚阳离子肽和蛋白质,优选鱼精蛋白,阳离子和聚阳离子多糖以及阳离子和聚阳离子脂质所组成的组。

32.根据权利要求30或31所述的RNA分子组合物,其包含与选自由阳离子和聚阳离子化合物所组成的组中的一种或多种成员复合的至少一种RNA分子,并且包含至少一种游离RNA分子。

33.根据权利要求30至32中任一项所述的RNA分子组合物,其中所述至少一种复合的RNA分子能够与一种或多种脂质复合,从而形成脂质体、脂质纳米颗粒和/或脂质体复合物。

34.一种包含根据权利要求30至33中任一项所述的RNA分子组合物和药学上可接受的辅料的药物组合物。

35.一种包含根据权利要求30至33中任一项所述的RNA分子组合物或根据权利要求34所述的药物组合物的药物容器。

36.根据权利要求35所述的药物容器,其中所述药物容器为注射器、小瓶、输液瓶、安瓿

瓶或卡普耳。

37.根据权利要求30至33中任一项所述的RNA分子组合物或根据权利要求34所述的药物组合物，将其用于作为药物使用。

38.根据权利要求30至33中任一项所述的RNA分子组合物或根据权利要求34所述的药物组合物，将其用于在独立地治疗或预防疾病中使用，如果所述疾病是遗传性的、或获得性的及其组合，所述疾病选自由以下各项所组成的组：基因疾病，敏感症，自身免疫性疾病，感染性疾病，赘生物，癌症和肿瘤相关疾病，炎性疾病，血液和造血器官疾病，内分泌、营养和代谢疾病，神经系统疾病，遗传疾病，循环系统疾病，呼吸系统疾病，消化系统疾病，皮肤和皮下组织疾病，肌肉骨骼系统和结缔组织疾病以及泌尿生殖系统疾病。

39.根据权利要求30至33中任一项所述的RNA分子组合物或根据权利要求34所述的药物组合物作为免疫治疗剂、基因治疗剂或作为疫苗的用途。

生产RNA分子组合物的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于生产核糖核酸(RNA)分子组合物的方法，该核糖核酸分子组合物包含n种不同RNA分子种类，该RNA分子种类来源于m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类，该方法包括在单一反应容器中进行m种不同DNA分子种类混合物的RNA体外转录，其中m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种，从而产生n种不同RNA分子种类，并且获得包含n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物，其中n是至少为2的整数，并且其中m是至少为1的整数。本发明还提供了通过上述方法生产的RNA分子组合物，以及包含该RNA分子组合物的药物组合物和药物容器。另一方面，本发明的RNA分子组合物和药物组合物可用作药物，例如用于独立地治疗或预防疾病(如果疾病是遗传性的、或获得性的及其组合)，该疾病选自由以下各项所组成的组：基因疾病，敏感症，自身免疫性疾病，感染性疾病，赘生物，癌症和肿瘤相关疾病，炎性疾病，血液和造血器官疾病，内分泌、营养和代谢疾病，神经系统疾病，循环系统疾病，呼吸系统疾病，消化系统疾病，皮肤和皮下组织疾病，肌肉骨骼系统和结缔组织疾病以及泌尿生殖系统疾病。还提供了RNA分子组合物作为免疫治疗剂、基因-治疗剂或作为疫苗的用途。

背景技术

[0002] 免疫疗法、基因疗法和(遗传)疫苗接种属于现代医学最有前途和发展快速的方法。它们可以为多种类型疾病或其组合提供高度特异性个体化的治疗选择。具体地，不仅遗传性基因病，而且自身免疫性疾病、感染性疾病、癌症或肿瘤相关疾病及炎性疾病可能是这种治疗方法的对象。还设想了通过采用RNA分子组合物作为药物凭该方法(早期性)预防这些疾病发作。

[0003] 尽管已知DNA相对稳定，易于处理，但在治疗中使用DNA具有将所施用的DNA片段不希望地插入至患者基因组中的风险，这极可能导致基因功能的丧失。其它的风险可能是，出现了不希望的抗DNA抗体的产生。另一种缺点是可以由施用DNA及其随后转录/翻译所实现的经过编码的肽或蛋白质的表达水平受限。

[0004] 通过采用RNA分子而不是DNA分子进行基因治疗或基因疫苗接种，将使得不必要的基因组整合和产生抗DNA抗体的风险最小化，甚至完全阻止这种风险。多年来，人们普遍认为mRNA太不稳定而不能有效地用于基因治疗目的。然而，在过去十年，几个研究小组面临这一挑战，不仅证明了mRNA介导的转染具有可行性(在转染效率和蛋白质表达持续性方面取得了令人惊讶的结果)，而且还证明了优于采用DNA的大量优势。其中一种优点是mRNA不需要穿过细胞核屏障以表达其经过编码的蛋白质(参见Tavernier等人，J Control Release.(2011);150(3):238-47)。

[0005] 为了进一步开发基因治疗和基因疫苗接种领域的有效治疗选择，最近已经开发了重组生产制备量的RNA分子的方法。该方法包括在合适的DNA模板(例如，含有DNA模板的质粒)和各自核苷酸存在下，采用噬菌体DNA依赖性的RNA聚合酶(例如，T7、SP6、T3)进行RNA体外转录(参见，例如Pascolo,Steve."Vaccination with messenger RNA."DNA

Vaccines.Humana Press,2006.23-40)。

[0006] 现有技术存在的问题

[0007] 现有的本领域已知的生产RNA的方法仅适合用于产生编码一种特异性治疗靶标的单一特异性RNA分子种类,其中需要以一种单独的生产过程生产所述单一RNA分子种类。

[0008] 然而,对于某些医学治疗,期望应用RNA种类的混合物(即多于一种RNA分子种类,其具有来源于不同DNA模板的不同序列),以下称为RNA分子组合物。

[0009] 此类治疗的实例可以包括施用:提供针对病原体的多种血清型或菌株(例如,来自甲型流感病毒和乙型流感病毒的多种血清型的血凝素(HA))的保护作用的多价RNA分子组合物;提供来自病原体的不同抗原(例如,来自流感病毒的不同抗原,如HA、核蛋白(NP)、神经氨酸酶(NA)等)的RNA分子组合物;提供针对癌症抗原的多种同种型或变体(例如,前列腺癌背景下的前列腺特异性抗原(PSA))的保护作用的RNA分子组合物;包含提供不同抗原表位的n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物;包含n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物,其含有癌症抗原(表达抗原或突变抗原)的癌症特异性和/或患者特异性RNA组合物;包含编码多种抗体(例如,靶向不同表位的抗体,例如其中抗体是mRNA编码的)的n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物,或包含n种不同RNA分子种类的任何其它治疗活性RNA分子组合物(例如,用于分子疗法的酶的不同同种型,用于治疗患者特异性适应症(例如,其中需要补充几种蛋白质的适应症)的不同治疗性蛋白质)。所述申请还可以应用于患者的个体(化)疗法。

[0010] 其中已经生产出包含n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物并对其进行体内测试的本领域实例包括多价流感mRNA疫苗(WO2015/024669)。然而,以单独生产过程分别生产所述RNA疫苗组合物的每种单一抗原。

[0011] 由于常规生产含有多种抗原的多价疫苗或常规意义上的RNA分子组合物需要多次进行产生DNA模板(例如,质粒DNA)和RNA,因而其费力且昂贵。因此,期望仅在一个生产批次中同时生产这类RNA分子组合物。这种程序将节省时间、劳动力成本、生产成本和生产容量(例如,空间、设备),特别是在疾病爆发的情况下或在生产个人化RNA的情况下。尤其是在cGMP(目前的优良制造标准)遵照RNA生产过程(需要实施多个生产步骤)的背景下,对于包含n种不同RNA分子种类的本发明RNA分子组合物而言,仅有一条生产线将具有较大的成本和时间优势。

[0012] 因此,允许在一个生产批次中同时地(即平行地)生产n种不同RNA种类的稳健方法将在本领域具有较大优势。

发明内容

[0013] 通过用于生产包含n种不同RNA分子种类的核糖核酸(RNA)分子组合物的本发明方法解决了本领域的上述问题,该方法包括以下步骤:

[0014] a)在单一反应容器中平行地(即同时地)进行m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的混合物的RNA体外转录,其中m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种,从而产生n种不同RNA分子种类,和

[0015] b)获得包含步骤a)中产生的n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物,其中n是至少为2的整数,并且其中m是至少为1或优选至少为2的整数。

[0016] 优选地，该方法在步骤a)之前还包括以下步骤：

[0017] c1)采用细菌扩增产生m种不同DNA分子种类的混合物，

[0018] c2)采用聚合酶链式反应(PCR)产生m种不同DNA分子种类的混合物，

[0019] c3)采用DNA化学合成法产生m种不同DNA分子种类的混合物，和/或

[0020] c4)采用酶扩增(例如通过滚环扩增)产生m种不同DNA分子种类的混合物。

[0021] 在另一个优选的实施方式中，步骤c1)包括以下步骤：

[0022] d)用m种不同DNA质粒种类的混合物的至少一种单一DNA质粒种类转化细菌细胞培养物，其中每种DNA质粒种类编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种。

[0023] 在进一步优选的实施方式中，步骤c1)包括以下步骤：

[0024] d1)用m种不同DNA质粒种类的单一DNA质粒种类转化m种单一细菌细胞培养物中的每一种，其中单一DNA质粒种类编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种，或

[0025] d2)用m种不同DNA质粒种类的混合物转化单一细菌细胞培养物，其中每种DNA质粒种类编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种。

[0026] 可选地，该方法包括以下步骤：

[0027] e)为m种不同DNA质粒种类的混合物的每种DNA质粒种类分离出至少一种单一细菌细胞克隆，和

[0028] f)在单独的细菌细胞克隆培养物中培养步骤e)中分离出的至少一种单一细菌细胞克隆中的每一种。

[0029] 在另一个优选的实施方式中，本发明方法在步骤d1)之后还包括以下步骤：

[0030] e1)分离出经过步骤d1)转化的m种单一细菌细胞培养物中的每一种的至少一种单一细菌细胞克隆，

[0031] f1)在单独的细菌细胞培养物中培养步骤e1)中分离出的单一细菌细胞克隆中的每一种，

[0032] g1)可选地确定在步骤f1)中培养的细菌细胞克隆培养物中的每一种的DNA质粒种类的同一性，

[0033] h1)为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择至少一种细菌细胞克隆培养物。

[0034] 在另一个优选的实施方式中，本发明方法在步骤d2)之后还包括以下步骤：

[0035] e2)分离出至少m种单一细菌细胞克隆，和

[0036] f2)在单独的细菌细胞克隆培养物中培养在步骤e2)中分离出的至少m种单一细菌细胞克隆中的每一种，

[0037] g2)确定在步骤f2)中培养的至少m种单一细菌细胞克隆培养物中的每一种的DNA质粒种类的同一性，

[0038] h2)为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择至少一种单一细菌细胞克隆培养物。

[0039] 可选地，该方法包括以下步骤：

[0040] i)确定至少一种单一细菌细胞克隆培养物的至少一种生长动力学参数和/或质粒DNA的量，和

[0041] j)根据步骤i)中确定的参数为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择一种或多种细菌细胞克隆培养物，优选地为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择一种细菌细胞克隆培养物。

[0042] 在另一个优选的实施方式中，本发明方法的步骤i)包括以下步骤：

[0043] i1)通过在一段时间间隔后测量(优选使用酶标仪或通过散射光在线测量)细菌细胞克隆培养物的光密度来确定生长动力学参数，和/或

[0044] i2)确定每单位体积和时间的细菌细胞培养物所生产的质粒量。

[0045] 可选地，为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择的一种或多种细菌细胞克隆培养物表现出相似或相同的生长动力学和/或相似或相同的DNA生产水平，优选相似或相同的生长动力学和/或相似或相同的DNA生产水平尽可能高。

[0046] 根据本发明的方法，步骤c1)还包括以下步骤：

[0047] k1)在单一反应容器中接种并培养一定量的为步骤j)的m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的一种或多种细菌细胞克隆培养物中的至少一种，或

[0048] k2)为m种不同DNA质粒种类中的每一种在一个或多个单独的反应容器中接种并培养一定量的为步骤j)的m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的一种或多种细菌细胞克隆培养物中的至少一种，可选地其中将m种不同DNA质粒种类的一种或多种细菌细胞克隆培养物在单一反应容器中一起培养。可选地，其中接种等量的每种细菌细胞克隆培养物。

[0049] 优选地，选择用于在步骤k1或k2)中接种的每种细菌细胞克隆培养物的量，使得获得相等或相似量的m种不同DNA质粒种类中的每一种。

[0050] 优选地，步骤c1)还包括以下步骤：

[0051] l)获得在步骤k1)和/或k2)中培养的细菌细胞克隆培养物的m种不同DNA质粒种类，

[0052] m)可选地将步骤l)中所得的m种不同DNA质粒种类线性化，和

[0053] n)获得m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的混合物。

[0054] 该方法在步骤a)之前可选地还包括以下步骤：

[0055] o)确定m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类中的每一种的转录效率参数。

[0056] 优选地，在本发明方法中，RNA分子组合物的n种不同RNA分子种类中的每一种的量与m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的混合物中的相应脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的量或其至少90％成比例。本发明意义上的“相应DNA分子种类”表示编码各自RNA分子种类的DNA分子。同样，如果DNA模板种类编码相同的RNA分子种类，则该DNA模板种类对应于用于RNA体外转录的各自(线性化的)DNA分子种类。反之亦然，与DNA分子/模板种类对应的RNA分子种类是由相应DNA分子/模板种类编码的RNA分子。

[0057] 在另一个实施方式中，本发明的步骤b)包括以下步骤：

[0058] p)纯化n种不同RNA分子种类，可选地经由HPLC进行。

[0059] 在优选的实施方式中，该方法还包括以下步骤：

[0060] q)定性和/或定量分析步骤b)中所得的RNA分子组合物。

[0061] 在可选的实施方式中，m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的DNA序列彼此具有至少80％、更优选至少90％且最优选至少95％的同一性。

[0062] 优选地，m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的DNA质粒种类具有相同的质粒骨架，和/或m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的DNA质粒种类的开放阅读框彼此具有至少80％、更优选至少90％且最优选至少95％的同一性，和/或m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的DNA质粒种类的开放阅读框的长度最多可变化100个或50个核苷酸。

[0063] 在优选的实施方式中，n种不同RNA分子种类的RNA序列彼此具有至少80％、更优选至少90％且最优选至少95％的同一性。

[0064] 在本发明的优选的实施方式中，m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种，其中n种不同RNA分子种类中的每一种编码病原体的不同血清型或菌株的抗原、不同的过敏原、不同的自身免疫性抗原、病原体的不同抗原、不同的佐剂蛋白、癌症或肿瘤抗原的不同同种型或变体、单名患者的不同肿瘤抗原、靶向一种蛋白质或一组蛋白质的不同表位的一组抗体中的一种抗体、代谢途径的不同蛋白质、在受试者中存在缺陷的一组蛋白质中的单一蛋白质、或用于分子疗法的蛋白质的不同同种型。

[0065] 更优选地，病原体选自由病毒、细菌、朊病毒、真菌、原生动物、类病毒和寄生虫所组成的组。

[0066] 甚至更优选地，病原体选自由以下各项所组成的组：鲍曼不动杆菌(Acinetobacter baumannii)、无形体属(Anaplasma genus)、嗜吞噬细胞无形体(Anaplasma phagocytophilum)、巴西钩口线虫(Ancylostoma braziliense)、十二指肠钩口线虫(Ancylostoma duodenale)、溶血隐秘杆菌(Arcanobacterium haemolyticum)、人蛔虫(Ascaris lumbricoides)、曲霉属(Aspergillus genus)、星状病毒科(Astroviridae)、巴贝虫属(Babesia genus)、炭疽芽孢杆菌(Bacillus anthracis)、蜡样芽胞杆菌(Bacillus cereus)、汉赛巴尔通体(Bartonella henselae)、BK病毒、人酵母菌(Blastocystis hominis)、皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、百日咳博德特氏菌(Bordetella pertussis)、博氏疏螺旋体(Borrelia burgdorferi)、疏螺旋体属(Borrelia genus)、疏螺旋体属某些种(Borrelia spp)、布鲁氏菌属(Brucella genus)、马来丝虫(Brugia malayi)、布尼亚病毒科(Bunyaviridae family)、洋葱伯克霍尔德菌(Burkholderia cepacia)和其它伯克霍尔德菌、鼻疽伯克霍尔德菌(Burkholderia mallei)、假鼻疽伯克霍尔德菌(Burkholderia pseudomallei)、杯状病毒科(Caliciviridae family)、弯曲菌属(Campylobacter genus)、白念珠菌(Candida albicans)、念珠菌属某些种(Candida spp)、沙眼衣原体(Chlamydia trachomatis)、肺炎嗜衣原体(Chlamydophila pneumoniae)、鹦鹉热衣原体(Chlamydophila psittaci)、CJD朊病毒、华枝睾吸虫(Clonorchis sinensis)、肉毒梭状芽胞杆菌(Clostridium botulinum)、艰难梭状芽胞杆菌(Clostridium difficile)、产气荚膜梭状芽胞杆菌(Clostridium perfringens)、产气荚膜梭状芽胞杆菌(Clostridium perfringens)、梭状芽胞杆菌属某些种(Clostridium spp)、破伤风梭状芽胞杆菌(Clostridium tetani)、球孢子菌属某些种(Coccidioides spp)、冠状病毒(coronaviruses)、白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheriae)、贝纳特氏立克次体(Coxiella burnetii)、克里米亚-刚果出血热病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)、新型隐球菌(Cryptococcus neoformans)、隐孢子虫属(Cryptosporidium genus)、巨细胞病毒(Cytomegalovirus)(CMV)、登革热病毒(Dengue viruse)(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)、脆弱双核阿米巴(Dientamoeba fragilis)、埃博拉病毒(Ebolavirus)(EBOV)、棘球绦虫属(Echinococcus genus)、恰菲埃里希氏体(Ehrlichia chaffeensis)、埃翁氏埃里希氏体(Ehrlichia ewingii)、埃里希氏体属(Ehrlichia genus)、溶组织内阿米巴(Entamoeba histolytica)、肠球菌属(Enterococcus genus)、肠道病毒属(Enterovirus genus)、肠道病毒(Enteroviruses)(主

要为柯萨奇A病毒(Coxsackie A virus)和肠道病毒71(EV71))、表皮癣菌属某些种(Epidermophyton spp)、爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr Virus)(EBV)、大肠埃希氏菌(O157:H7、O111和O104:H4)、肝片吸虫(Fasciola hepatica)和大片吸虫(Fasciola gigantica)、FFI朊病毒、丝虫目(Filarioidea)超家族、黄病毒属(Flaviviruses)、土拉热弗朗西斯氏菌(Francisella tularensis)、梭杆菌属(Fusobacterium genus)、白地霉(Geotrichum candidum)、肠贾第虫(Giardia intestinalis)、颚口虫属某些种(Gnathostoma spp)、GSS朊病毒、瓜纳瑞托病毒(Guanarito virus)、杜克雷氏嗜血杆菌(Haemophilus ducreyi)、流感嗜血杆菌(Haemophilus influenzae)、幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori)、亨尼帕病毒(Henipavirus)(亨德拉病毒(Hendra virus)、尼帕病毒(Nipah virus))、甲型肝炎病毒(Hepatitis A Virus)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、单纯疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2)、夹膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)、HIV(人类免疫缺陷病毒)、威尼克外瓶霉(Hortaea werneckii)、人博卡病毒(Human bocavirus)(HBoV)、人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7)、人偏肺病毒(Human metapneumovirus)(hMPV)、人乳头瘤病毒(Human papillomavirus)(HPV)、人副流感病毒(HPIV)、日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus)、JC病毒、胡宁病毒(Junin virus)、金格杆菌(Kingella kingae)、肉芽肿杆菌(Klebsiella granulomatis)、库鲁朊病毒(Kuru prion)、拉沙病毒(Lassa virus)、嗜肺性军团病杆菌(Legionella pneumophila)、利什曼原虫属(Leishmania genus)、钩端螺旋体属(Leptospira genus)、单核细胞增多性李斯特菌(Listeria monocytogenes)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(Lymphocytic choriomeningitis virus)(LCMV)、马丘坡病毒(Machupo virus)、马拉色霉菌属某些种(Malassezia spp)、马尔堡病毒(Marburg virus)、麻疹病毒(Measles virus)、横川后殖吸虫(Metagonimus yokagawai)、微孢子虫门(Microsporidia phylum)、接触传染性软疣病毒(Molluscum contagiosum virus)(MCV)、腮腺炎病毒(Mumps virus)、麻风分枝杆菌(Mycobacterium leprae)和弥漫型麻风分枝杆菌(Mycobacterium lepromatosis)、结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis)、溃疡分枝杆菌(Mycobacterium ulcerans)、肺炎支原体(Mycoplasma pneumoniae)、福氏耐格里阿米巴(Naegleria fowleri)、美洲板口线虫(Necator americanus)、淋病奈瑟氏菌(Neisseria gonorrhoeae)、脑膜炎奈瑟氏菌(Neisseria meningitidis)、星形诺卡氏菌(Nocardia asteroides)、诺卡氏菌属某些种(Nocardia spp)、旋盘尾丝虫(Onchocerca volvulus)、恙虫病东方体(Orientia tsutsugamushi)、正粘病毒科(Orthomyxoviridae family)(流感病毒)、巴西副球孢子菌(Paracoccidioides brasiliensis)、并殖吸虫属某些种(Paragonimus spp)、卫氏并殖吸虫(Paragonimus westermani)、细小病毒B19(Parvovirus B19)、巴斯德菌属(Pasteurella genus)、疟原虫属(Plasmodium genus)、耶氏肺孢子虫(Pneumocystis jirovecii)、脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)、狂犬病病毒(Rabies virus)、呼吸道合胞体病毒(Respiratory syncytial virus)(RSV)、鼻病毒(Rhinovirus)、鼻病毒(rhinoviruses)、小蛛立克次氏体(Rickettsia akari)、立克次体属(Rickettsia genus)、普氏立克次体(Rickettsia prowazekii)、立氏立克次体(Rickettsia rickettsii)、伤寒立克次体(Rickettsia typhi)、裂谷热病毒(Rift Valley fever virus)、轮状病毒(Rotavirus)、风疹病毒(Rubella virus)、萨比亚病毒(Sabia

virus)、沙门氏菌属(Salmonella genus)、疥螨(Sarcoptes scabiei)、SARS冠状病毒、血吸虫属(Schistosoma genus)、志贺氏菌属(Shigella genus)、辛诺柏病毒(Sin Nombre virus)、汉坦病毒(Hantavirus)、申克孢子丝菌(Sporothrix schenckii)、葡萄球菌属(Staphylococcus genus)、葡萄球菌属(Staphylococcus genus)、无乳链球菌(Streptococcus agalactiae)、肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)、酿脓链球菌(Streptococcus pyogenes)、粪类圆线虫(Strongyloides stercoralis)、绦虫属(Taenia genus)、有钩绦虫(Taenia solium)、蜱传脑炎病毒(Tick-borne encephalitis virus)(TBEV)、犬弓蛔虫(Toxocara canis)或猫弓蛔线虫(Toxocara cati)、刚地弓形虫(Toxoplasma gondii)、苍白密螺旋体(Treponema pallidum)、旋毛虫(Trichinella spiralis)、阴道滴虫(Trichomonas vaginalis)、毛癣菌属某些种(Trichophyton spp)、毛首鞭虫(Trichuris trichiura)、布氏锥虫(Trypanosoma brucei)、克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)、解脲脲原体(Ureaplasma urealyticum)、水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus)(VZV)、水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus)(VZV)、重型天花(Variola major)或轻型天花(Variola minor)、vCJD朊病毒、委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)、霍乱弧菌(Vibrio cholerae)、西尼罗病毒(West Nile virus)、西方马脑炎病毒(Western equine encephalitis virus)、班氏线虫(Wuchereria bancrofti)、黄热病病毒(Yellow fever virus)、结肠炎耶尔森菌(Yersinia enterocolitica)、鼠疫耶尔森菌(Yersinia pestis)和假结核耶尔森菌(Yersinia pseudotuberculosis),病原体优选地选自由以下所组成的组:流感病毒、呼吸道合胞体病毒(RSV)、单纯疱疹病毒(HSV)、人乳头瘤病毒(HPV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、疟原虫(Plasmodium)、金黄色酿脓葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、登革病毒、沙眼衣原体、巨细胞病毒(Cytomegalovirus)(CMV)、乙型肝炎病毒(HBV)、结核分枝杆菌、狂犬病病毒、轮状病毒和黄热病病毒。

[0067] 在优选的实施方式中,m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种,其中n种不同RNA分子种类中的每一种编码不同的致病性抗原或其片段或变体,该致病性抗原选自由以下各项所组成的组:鲍曼不动杆菌(Acinetobacter baumannii)和不动杆菌属感染的流感病毒血凝素、流感病毒神经氨酸酶、流感病毒核蛋白、冠状病毒糖蛋白S、前列腺特异性抗原、外膜蛋白A OmpA、生物膜关联蛋白Bap、转运蛋白MucK;布氏锥虫(Trypanosoma brucei)的可变表面糖蛋白(VSG)、微管关联蛋白MAPP15、唾液酸转移酶(TSA);HIV的HIV p24抗原、人类免疫缺陷病毒(HIV)包膜蛋白(Gp120、Gp41和Gp160)、多聚蛋白GAG、负向因子蛋白Nef、反式转录激活因子(Tat);溶组织内阿米巴(Entamoeba histolytica)的半乳糖抑制性粘附蛋白(GIAP)、29kDa抗原Eh29、Gal/GalNAc凝集素、蛋白CRT、125kDa免疫优势抗原、蛋白M17、粘附素ADH112和蛋白STIRP;无形体属(Anaplasma genus)的主要表面蛋白1至5(MSP1a、MSP1b、MSP2、MSP3、MSP4、MSP5)、IV型分泌系统蛋白(VirB2、VirB7、VirB11、VirD4);炭疽芽孢杆菌(Bacillus anthracis)的保护性抗原PA、水肿因子EF、致死因子LF、S层同源蛋白(SLH);溶血隐秘杆菌(Arcanobacterium haemolyticum)的隐秘溶素(acranolysin)、磷脂酶D、胶原蛋白结合蛋白CbpA;胡宁病毒(Junin virus)的核衣壳蛋白(NP)、糖蛋白前体GPC、糖蛋白GP1、糖蛋白GP2;人蛔虫(Ascaris lumbricoides)的几丁质蛋白层蛋白、14kDa表面抗原A14、主要精子蛋白(MSP)、

MSP聚合组织蛋白(MPOP)、MSP纤维蛋白2(MFP2)、MSP聚合活化激酶(MPAK)、ABA-1样蛋白(ALB)、蛋白ABA-1、表皮质(CUT-1)；曲霉属(Aspergillus genus)的41kDa过敏原Asp v13、过敏原Asp f3、主要分生孢子表面蛋白rodlet A、蛋白酶Pep1p、GPI锚定蛋白Gel1p、GPI锚定蛋白Crf1p；星状病毒科(Astroviridae)的家族VP26蛋白、VP29蛋白；巴贝虫属(Babesia genus)的棒状体关联蛋白1(RAP-1)、裂殖子表面抗原MSA-1、MSA-2(a1、a2、b、c)、12D3、11C5、21B4、P29、变异红细胞表面抗原VESA1、顶端膜抗原1(AMA-1)；蜡样芽胞杆菌(Bacillus cereus)的溶血素、肠毒素C、PX01-51、乙醇酸氧化酶、ABC-转运蛋白、青霉素结合蛋白、锌转运蛋白家族蛋白、假尿苷合酶Rsu、质粒复制蛋白RepX、寡肽链内切酶F(oligoendopeptidase-F)、前噬菌体膜蛋白(prophage membrane protein)、蛋白HemK、鞭毛抗原H、28.5-kDa细胞表面抗原；BK病毒的大型T抗原LT、小型T抗原、衣壳蛋白VP1、衣壳蛋白VP2；人酵母菌(Blastocystis hominis)的29kDa-蛋白、半胱天冬酶-3样抗原、糖蛋白；皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)的酵母表面粘附素WI-1；马丘坡病毒(Machupo virus)的核蛋白N、聚合酶L、基质蛋白Z、糖蛋白(GP)；疏螺旋体属(Borrelia genus)的外表面蛋白A(OspA)、外表面蛋白B(OspB)、外表面蛋白C(OspC)、核心蛋白聚糖结合蛋白A(DbpA)、核心蛋白聚糖结合蛋白B(DbpB)、鞭毛丝41kDa核心蛋白Fla、碱性膜蛋白A前体(BmpA)(免疫优势抗原P39)、外表面22kDa脂蛋白前体(抗原IPLA7)、可变表面脂蛋白vlsE；肉毒梭状芽胞杆菌(Clostridium botulinum)的肉毒神经毒素BoNT/A1、BoNT/A2、BoNT/A3、BoNT/B、BoNT/C、BoNT/D、BoNT/E、BoNT/F、BoNT/G、重组肉毒毒素F Hc结构域(FHc)；萨比亚病毒(Sabia virus)的核衣壳、糖蛋白前体；布鲁氏菌属(Brucella genus)的铜/锌超氧化物歧化酶(SodC)、细菌铁蛋白(Bfr)、50S核糖体蛋白Rp1L、含有OmpA样跨膜结构域的蛋白Omp31、免疫原性39-kDa蛋白M5 P39、锌ABC转运蛋白周质锌结合蛋白znuA、周质免疫原性蛋白Bp26、30S核糖体蛋白S12 RpsL、甘油醛-3-磷酸脱氢酶Gap、25kDa外膜免疫原性蛋白前体Omp25、侵袭蛋白B lalB、触发因子Tig、分子伴侣DnaK、推定的肽基脯氨酰顺反异构酶SurA、脂蛋白Omp19、外膜蛋白MotY Omp16、保守外膜蛋白D15、苹果酸脱氢酶(Mdh)、IV型分泌系统(T4SS)的组分VirJ、未知功能的脂蛋白BAB1_0187；洋葱伯克霍尔德菌(Burkholderia cepacia)和其它伯克霍尔德菌的ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A(BimA)、细菌延伸因子-Tu(EF-Tu)、17kDa OmpA样蛋白、boaA编码蛋白、boaB编码蛋白；溃疡分枝杆菌(Mycobacterium ulcerans)的分枝酰基转移酶Ag85A、热休克蛋白65(Hsp65)、蛋白TB10.4、19kDa抗原、蛋白PstS3、热休克蛋白70(Hsp70)；杯状病毒科(Caliciviridae family)(诺如病毒(Norovirus)和沙波病毒(Sapovirus))的诺如病毒主要病毒衣壳蛋白VP1和次要病毒衣壳蛋白VP2及基因组多聚蛋白、沙波病毒衣壳蛋白VP1、蛋白Vp3及基因组多聚蛋白；弯曲菌属(Campylobacter genus)的主要外膜蛋白PorA、鞭毛蛋白FlaA、表面抗原CjaA、纤连蛋白结合蛋白CadF、结合天冬氨酸/谷氨酸的ABC转运蛋白Peb1A、蛋白FspA1、蛋白FspA2；白念珠菌(Candida albicans)及其它念珠菌属种类的糖酵解酶烯醇酶、分泌型天冬氨酰蛋白酶SAP1-10、糖磷脂酰肌醇(GPI)连接的细胞壁蛋白、蛋白Hyr1、补体受体3相关蛋白(CR3-RP)、粘附素Als3p、热休克蛋白90kDa(Hsp90)、细胞表面疏水性蛋白(CSH)；汉赛巴尔通体(Bartonella henselae)的17-kDa抗原、蛋白P26、三聚体自转运粘附素TAA、巴尔通体粘附素A BadA、可变表达的外膜蛋白质Vomp、蛋白Pap3、蛋白HbpA、包膜关联蛋白酶HtrA、蛋白

OMP89、蛋白GroEL、蛋白LalB、蛋白OMP43、二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶SucB；克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)的无鞭毛体表面蛋白-2、无鞭毛体特异性表面蛋白SSP4、克鲁兹蛋白酶、反式唾液酸酶TS、锥虫体表面乙二醇蛋白TSA-1、补体调节蛋白CRP-10、蛋白G4、蛋白G2、副轴杆蛋白(paraxonemal rod protein)PAR2、副鞭毛杆组分(paraglagellar rod component)Par1、黏蛋白关联表面蛋白MPSP；水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus)(VZV)的包膜糖蛋白(gB、gC、gE、gH、gI、gK、gL)；沙眼衣原体(Chlamydia trachomatis)的主要外膜蛋白MOMP、可能的外膜蛋白PMPC、外膜复合蛋白B OmcB、热休克蛋白Hsp60和HSP10、蛋白IncA、来自III型分泌系统的蛋白质、核糖核苷酸还原酶小链蛋白NrdB、质粒蛋白Pgp3、衣原体外蛋白N(CopN)、抗原CT521、抗原CT425、抗原CT043、抗原TC0052、抗原TC0189、抗原TC0582、抗原TC0660、抗原TC0726、抗原TC0816、抗原TC0828；肺炎嗜衣原体(Chlamydophila pneumoniae)、肺炎嗜衣原体感染的低钙反应蛋白E(LCrE)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PknD、酰基载体-蛋白S-丙二酰转移酶FabD、单链DNA结合蛋白Ssb、主要外膜蛋白(MOMP)、外膜蛋白2(Omp2)、多态性膜蛋白家族(如Pmp1、Pmp2、Pmp3、Pmp4、Pmp5、Pmp6、Pmp7、Pmp8、Pmp9、Pmp10、Pmp11、Pmp12、Pmp13、Pmp14、Pmp15、Pmp16、Pmp17、Pmp18、Pmp19、Pmp20和Pmp21)；霍乱弧菌(Vibrio cholerae)的霍乱毒素B(CTB)、毒素共调菌毛蛋白A(TcpF)、毒素共调菌毛蛋白(TcpF)、毒素共调菌毛生物合成蛋白F(TcpF)、霍乱肠毒素亚基A、霍乱肠毒素亚基B、热稳定肠毒素ST、甘露糖敏感血凝素(MSHA)、外膜蛋白U孔蛋白(ompU)、Poring B蛋白、多态性膜蛋白-D；华枝睾吸虫(Clonorchis sinensis)的丙酰辅酶A羧化酶PCC、14-3-3蛋白、抑制素蛋白、半胱氨酸蛋白酶、谷胱甘肽转移酶、凝胶溶素、组织蛋白酶L蛋白酶CatL、表膜蛋白20.8kDa TP20.8、表膜蛋白31.8kDa TP31.8、溶血磷脂酸磷酸酶LPAP；艰难梭状芽胞杆菌(Clostridium difficile)的表层蛋白SLP、谷氨酸脱氢酶抗原GDH、毒素A、毒素B、半胱氨酸蛋白酶Cwp84、半胱氨酸蛋白酶Cwp13、半胱氨酸蛋白酶Cwp19、细胞壁蛋白CwpV、鞭毛蛋白FliC、鞭毛蛋白FliD；鼻病毒(rhinovirus)的鼻病毒衣壳蛋白VP1、VP2、VP3、VP4和冠状病毒(coronavirus)的冠状病毒纤突蛋白S、包膜蛋白E、膜蛋白M、核衣壳蛋白N；朊病毒蛋白Prp(CJD朊病毒)；克里米亚-刚果出血热病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)的包膜蛋白Gc、包膜蛋白Gn、核衣壳蛋白；新型隐球菌(Cryptococcus neoformans)的毒力关联DEAD盒RNA解旋酶VAD1、半乳糖木糖甘露聚糖-蛋白GalXM、葡萄糖醛酰木糖基甘露聚糖GXM、甘露糖蛋白MP；隐孢子虫属(Cryptosporidium genus)的酸性核糖体蛋白P2 CpP2、粘蛋白抗原Muc1、Muc2、Muc3 Muc4、Muc5、Muc6、Muc7、表面粘附蛋白CP20、表面粘附蛋白CP23、表面蛋白CP12、表面蛋白CP21、表面蛋白CP40、表面蛋白CP60、表面蛋白CP15、表面关联糖肽gp40、表面关联糖肽gp15、卵囊壁蛋白AB、抑制蛋白PRF、腺苷三磷酸双磷酸酶；例如巴西钩口线虫(Ancylostoma braziliense)和其它病原体(如皮肤幼虫移行症(Cutaneous larva migrans)(CLM))的脂肪酸和视黄醇结合蛋白-1(FAR-1)、金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)、半胱氨酸蛋白酶ACEY-1、半胱氨酸蛋白酶ACCP-1、表面抗原Ac-16、分泌蛋白2 ASP-2、金属蛋白酶1 MTP-1、天冬氨酰蛋白酶抑制剂API-1、表面关联抗原SAA-1、成人特异性分泌因子Xa丝氨酸蛋白酶抑制剂抗凝血剂AP、组织蛋白酶D样天冬氨酸蛋白酶ARR-1；有钩绦虫(Taenia solium)的组织蛋白酶L样蛋白酶、53/25-kDa抗原、8kDa家族成员、具有微弱胰蛋白酶样活性的囊尾蚴蛋白TsAg5、六钩蚴蛋白TSOL18、六钩蚴蛋白TSOL45-1A、乳酸脱氢酶A LDHA、乳酸脱氢酶B LDHB；巨细胞病毒

(Cytomegalovirus)(CMV)的pp65抗原、膜蛋白pp15、衣壳近端表膜蛋白pp150、蛋白M45、DNA聚合酶UL54、解旋酶UL105、糖蛋白gM、糖蛋白gN、糖蛋白H、糖蛋白B gB、蛋白UL83、蛋白UL94、蛋白UL99;登革热病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)-黄病毒属(Flavivirus)的衣壳蛋白C、膜前蛋白prM、膜蛋白M、包膜蛋白E(结构域I、结构域II、结构域II)、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白NS2B、蛋白NS3、蛋白NS4A、蛋白2K、蛋白NS4B、蛋白NS5;脆弱双核阿米巴(Dientamoeba fragilis)的39kDa蛋白质;白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheriae)的白喉毒素前体Tox、白喉毒素DT、菌毛蛋白特异性分选酶SrtA、杆状菌毛蛋白(shaft pilin protein)SpaA、顶端菌毛蛋白(tip pilin protein)SpaC、次要菌毛蛋白SpaB、表面关联蛋白DIP1281;埃博拉病毒(EBOV)的糖蛋白GP、核蛋白NP、次要基质蛋白VP24、主要基质蛋白VP40、转录激活因子VP30、聚合酶辅因子VP35、RNA聚合酶L;朊病毒蛋白(vCJD朊病毒、vCJD、nvCJD);杜克雷氏嗜血杆菌(Haemophilus ducreyi)的UvrABC系统蛋白B、蛋白Flp1、蛋白Flp2、蛋白Flp3、蛋白TadA、血红蛋白受体HgbA、外膜蛋白TdhA、蛋白CpsRA、调节因子CpxR、蛋白SapA、18kDa抗原、外膜蛋白NcaA、蛋白LspA、蛋白LspA1、蛋白LspA2、蛋白LspB、外膜组分DsrA、凝集素D1tA、脂蛋白Hlp、主要外膜蛋白OMP、外膜蛋白OmpA2;粗球孢子菌(Coccidioides immitis)和球孢子菌属posadasii的天冬氨酰蛋白酶1Pep1、磷脂酶B PLB、α-甘露糖苷酶1AMN1、葡聚糖基转移酶GEL1、尿素酶URE、过氧化物酶体基质蛋白Pmp1、富含脯氨酸的抗原Pra、人T细胞反应蛋白TcrP;例如毛癣菌属某些种(Trichophyton spp)、表皮癣菌属某些种(Epidermophyton spp)、马拉色霉菌属某些种(Malassezia spp)、威尼克外瓶霉(Hortaea werneckii)的过敏原Tri r2、热休克蛋白60Hsp60、真菌肌动蛋白Act、抗原Tri r2、抗原Tri r4、抗原Tri t1、蛋白IV、甘油-3-磷酸脱氢酶Gpd1、渗透感应因子HwSho1A、渗透感应因子HwSho1B、组氨酸激酶HwHhk7B、过敏原Mala s1、过敏原Mala s11、硫氧还蛋白Trx Mala s13、过敏原Mala f、过敏原Mala s;棘球绦虫属(Echinococcus genus)的蛋白EG95、蛋白EG10、蛋白EG18、蛋白EgA31、蛋白EM18、抗原EPC1、抗原B、抗原5、蛋白P29、蛋白14-3-3、8-kDa蛋白、亲肌肉抗原(myophilin)、热休克蛋白20(HSP20)、糖蛋白GP-89、脂肪酸结合蛋白FAPB;埃里希氏体属(Ehrlichia genus)的主要表面蛋白2MSP2、主要表面蛋白4 MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19 OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白;肠球菌属(Enterococcus genus)的分泌抗原SagA、sagA样蛋白SalA和SalB、胶原粘附素Scm、表面蛋白Fms1 EbpA(fm)、Fms5 EbpB(fm)、Fms9 EpbC(fm)和Fms10、蛋白EbpC(fm)、96kDa免疫保护性糖蛋白G1;肠道病毒属(Enterovirus genus)的基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C;外膜蛋白OM、60kDa外膜蛋白、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、134kDa外膜蛋白、31kDa外膜蛋白、29.5kDa外膜蛋白、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白Adr1(RP827)、细胞表面蛋白Adr2(RP828)、细胞表面蛋白SCA1、侵袭蛋白invA、细胞分裂蛋白fts、sec家族的分泌蛋白、毒力蛋白virB、tlyA、tlyC、细小蛋白样蛋白Plp(parvulin-like protein Plp)、蛋白前体移位酶SecA、120-kDa表面蛋白抗原SPA、138 kD复合抗原、主要100-kD蛋白(蛋白I)、胞质内蛋白D、保护性表面蛋白抗原SPA(普氏立克次体(Rickettsia prowazekii)、流行性斑疹伤寒(Epidemic typhus));爱泼斯坦-巴尔病毒

(Epstein-Barr Virus)(EBV)的爱泼斯坦-巴尔核抗原(EBNA-1、EBNA-2、EBNA-3A、EBNA-3B、EBNA-3C、EBNA-前导蛋白(EBNA-LP))、潜伏膜蛋白(LMP-1、LMP-2A、LMP-2B)、早期抗原EBV-EA、膜抗原EBV-MA、病毒衣壳抗原EBV-VCA、碱性核酸酶EBV-AN、糖蛋白H、糖蛋白gp350、糖蛋白gp110、糖蛋白gp42、糖蛋白gHgL、糖蛋白gB;细小病毒(Parvovirus)B19的衣壳蛋白VP2、衣壳蛋白VP1、主要蛋白NS1;人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7)的pp65抗原、糖蛋白105、主要衣壳蛋白、包膜糖蛋白H、蛋白U51;肝片吸虫(Fasciola hepatica)和大片吸虫(Fasciola gigantica)的硫氧还蛋白-谷胱甘肽还原酶TGR、组织蛋白酶L1和L2、Kunitz型蛋白KTM、亮氨酸氨肽酶LAP、半胱氨酸蛋白酶Fas2、皂素样蛋白-2SAP-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPx、Prx-1、Prx-2、组织蛋白酶1半胱氨酸蛋白酶CL3、蛋白酶组织蛋白酶L CL1、磷酸甘油酸激酶PGK、27-kDa分泌蛋白、60kDa蛋白HSP35α、谷胱甘肽转移酶GST、28.5kDa表膜蛋白抗原28.5kDa TA、组织蛋白酶B3蛋白酶CatB3、I型半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白stefin-1、组织蛋白酶L5、组织蛋白酶L1g和组织蛋白酶B、脂肪酸结合蛋白FABP、亮氨酸氨肽酶LAP;朊病毒蛋白FFI朊病毒;丝虫目超家族(Filarioidea superfamily)的毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1 ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白(onchocystatin)CPI-2、Cox-2;产气荚膜梭状芽胞杆菌(Clostridium perfringens)的磷脂酶C PLC、不耐热肠毒素B、ι毒素组分Ib、蛋白CPE1281、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶、延伸因子G EF-G、产气荚膜梭菌溶素(perfringolysin)O Pfo、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GapC、果糖二磷酸醛缩酶Alf2、产气荚膜梭状芽胞杆菌肠毒素CPE、α毒素AT、α类毒素ATd、ε-类毒素ETd、蛋白HP、大型细胞毒素TpeL、内切-β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶Naglu、磷酸甘油酸变位酶Pgm;梭杆菌属(Fusobacterium genus)的白细胞毒素lktA、粘附因子FadA、外膜蛋白RadD、高分子量精氨酸结合蛋白;例如产气荚膜梭状芽胞杆菌(Clostridium perfringens)和其它梭状芽胞杆菌属种类(Clostridium species)的磷脂酶C PLC、不耐热肠毒素B、ι毒素成分Ib、蛋白CPE1281、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶、延伸因子G EF-G、产气荚膜梭菌溶素(perfringolysin)O Pfo、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GapC、果糖二磷酸醛缩酶Alf2、产气荚膜梭状芽胞杆菌肠毒素CPE、α毒素AT、α类毒素ATd、ε-类毒素ETd、蛋白HP、大型细胞毒素TpeL、内切-β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶Naglu、磷酸甘油酸变位酶Pgm;白地霉(Geotrichum candidum)的脂肪酶A、脂肪酶B、过氧化物酶Dec1;朊病毒蛋白GSS朊病毒;肠贾第虫(Giardia intestinalis)的胞壁蛋白CWP1、CWP2、CWP3、变体表面蛋白VSP、VSP1、VSP2、VSP3、VSP4、VSP5、VSP6、56kDa抗原、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶PFOR、醇脱氢酶E ADHE、α-贾第素、α8-贾第素、α1-贾第素、β-贾第素、半胱氨酸蛋白酶、谷胱甘肽-S-转移酶GST、精氨酸脱亚胺酶ADI、果糖-1,6-二磷酸醛缩酶FBA、贾第鞭毛虫滋养体抗原GTA(GTA1、GTA2)、鸟氨酸羧基转移酶OCT、横纹纤维-装配蛋白样蛋白SALP、尿苷磷酰基样蛋白UPL、α-微管蛋白、β-微管蛋白;鼻疽伯克霍尔德菌(Burkholderia mallei)的ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔

德菌胞内运动相关蛋白A BimA、细菌延伸因子-Tu EF-Tu、17kDa OmpA-样蛋白、boaA编码蛋白；棘聘口线虫(Gnathostoma spinigerum)和刚棘颚口线虫(Gnathostoma hispidum)的亲环蛋白CyP、24kDa第三阶段幼虫蛋白GS24、排泄-分泌产物ESP(40kDa、80kDa、120kDa和208kDa)；淋病奈瑟氏菌(Neisseria gonorrhoeae)的菌毛蛋白、次要菌毛蛋白关联亚基pilC、主要菌毛蛋白亚基和变体pilE、pilS、相变异蛋白porA、孔蛋白B PorB、蛋白TraD、奈瑟氏菌外膜抗原H.8、70kDa抗原、主要外膜蛋白PI、外膜蛋白P1A和P1B、W抗原、表面蛋白A NspA、转铁蛋白结合蛋白TbpA、转铁蛋白结合蛋白TbpB、PBP2、mtrR编码蛋白、ponA编码蛋白、膜通透酶FbpBC、FbpABC蛋白系统、LbpAB蛋白、外膜蛋白Opa、外膜转运蛋白FetA、铁抑制调节因子MpeR；肉芽肿杆菌(Klebsiella granulomatis)的外膜蛋白A OmpA、外膜蛋白C OmpC、外膜蛋白K17 OmpK17；酿脓链球菌(Streptococcus pyogenes)的纤连蛋白结合蛋白Sfb、纤连蛋白/纤维蛋白原结合蛋白FBP54、纤连蛋白结合蛋白FbaA、M蛋白1型Emm1、M蛋白6型Emm6、免疫球蛋白结合蛋白35Sib35、表面蛋白R28Spr28、超氧化物歧化酶SOD、C5a肽酶ScpA、抗原I/II AgI/II、粘附素AspA、G相关的α2-巨型球蛋白结合蛋白GRAB、表面纤维蛋白M5；无乳链球菌(Streptococcus agalactiae)的C蛋白β抗原、精氨酸脱亚胺酶蛋白、粘附素BibA、105kDA蛋白BPS、表面抗原c、表面抗原R、表面抗原X、胰蛋白酶抗性蛋白R1、胰蛋白酶抗性蛋白R3、胰蛋白酶抗性蛋白R4、表面免疫原性蛋白Sip、表面蛋白Rib、富含亮氨酸重复的蛋白LrrG、富含丝氨酸的重复蛋白Srr-2、C蛋白α-抗原Bca、β抗原Bag、表面抗原ε、α-样蛋白ALP1、α-样蛋白ALP5表面抗原δ、α-样蛋白ALP2、α-样蛋白ALP3、α-样蛋白ALP4、Cβ蛋白Bac；流感嗜血杆菌(Haemophilus influenzae)的转铁蛋白结合蛋白2 Tbp2、磷酸酶P4、外膜蛋白P6、肽聚糖关联脂蛋白Pal、蛋白D、蛋白E、粘附穿透蛋白Hap、外膜蛋白26 Omp26、外膜蛋白P5(Fimbrin)、外膜蛋白D15、外膜蛋白OmpP2、5'-核苷酸酶NucA、外膜蛋白P1、外膜蛋白P2、外膜脂蛋白Pcp、脂蛋白E、外膜蛋白P4、墨角藻糖激酶FucK、[Cu,Zn]-超氧化物歧化酶SodC、蛋白酶HtrA、蛋白质O145、α-半乳糖基神经酰胺；聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C(肠道病毒(Enteroviruses)，主要是柯萨奇A病毒(Coxsackie A virus)和肠道病毒71(Enterovirus 71)(EV71)、手足口病(HFMD))；辛诺柏病毒(Sin Nombre virus)、汉坦病毒(Hantvirus)的RNA聚合酶L、蛋白质L、糖蛋白Gn、糖蛋白Gc、核衣壳蛋白S、包膜糖蛋白G1、核蛋白NP、蛋白N、多聚蛋白M；幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori)的热休克蛋白HspA、热休克蛋白HspB、柠檬酸合酶GltA、蛋白UreB、热休克蛋白Hsp60、嗜中性粒细胞活化蛋白NAP、过氧化氢酶KatA、空泡细胞毒素VacA、脲素酶αUreA、尿素酶βUreb、蛋白Cpn10、蛋白groES、热休克蛋白Hsp10、蛋白MopB、细胞毒性关联的10kDa蛋白CAG、36kDa抗原、β-内酰胺酶HcpA、β-内酰胺酶HcpB；大肠埃希菌(Escherichia coli)O157:H7、O111和O104:H4的整合膜蛋白、容易发生聚集的蛋白、O-抗原、毒素-抗原Stx2B、毒素抗原Stx1B、粘附抗原片段Int28、蛋白EspA、蛋白EspB、紧密黏附素(Intimin)、蛋白Tir、蛋白IntC300、蛋白Eae；布尼亚病毒科(Bunyaviridae family)的RNA聚合酶L、蛋白质L、糖蛋白Gn、糖蛋白Gc、核衣壳蛋白S、包膜糖蛋白G1、核蛋白NP、蛋白N、多聚蛋白M；亨尼帕病毒(Henipavirus)、亨德拉病毒(Hendra virus)或尼帕病毒(Nipah virus)的糖蛋白G、基质蛋白M、核蛋白N、融合蛋白F、聚合酶L、蛋白W、蛋白C、磷蛋白p、非结构蛋白V；甲型肝炎病毒(Hepatitis A Virus)的多聚蛋白、糖蛋白Gp2、甲型肝炎表面抗原HBAg、蛋白2A、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、蛋白P1B、蛋

白P2A、蛋白P3AB、蛋白P3D;乙型肝炎病毒(Hepatitis B Virus)(HBV)的乙型肝炎表面抗原HBsAg、乙型肝炎核心抗原HbcAg、聚合酶、蛋白Hbx、preS2中间表面蛋白、表面蛋白L、大型S蛋白、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4;丙型肝炎病毒(Hepatitis C Virus)的包膜糖蛋白E1 gp32 gp35、包膜糖蛋白E2NS1 gp68 gp70、衣壳蛋白C、核心蛋白Core、多聚蛋白、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、抗原G、蛋白NS3、蛋白NS5A;丁型肝炎病毒(Hepatitis D Virus)的病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、大型肝炎δ抗原、小型肝炎δ抗原;戊型肝炎病毒(Hepatitis E Virus)的病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、衣壳蛋白E2;单纯性疱疹病毒(Herpes simplex virus)1和2(HSV-1和HSV-2)的糖蛋白L UL1、尿嘧啶-DNA糖基化酶UL2、蛋白UL3、蛋白UL4、DNA复制蛋白UL5、门蛋白UL6、病毒体成熟蛋白UL7、DNA解旋酶UL8、复制起点结合蛋白UL9、糖蛋白M UL10、蛋白UL11、碱性核酸外切酶UL12、丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶UL13、表膜蛋白UL14、终止酶UL15、表膜蛋白UL16、蛋白UL17、衣壳蛋白VP23UL18、主要衣壳蛋白VP5UL19、膜蛋白UL20、表膜蛋白UL21、糖蛋白H(UL22)、胸苷激酶UL23、蛋白UL24、蛋白UL25、衣壳蛋白P40(UL26、VP24、VP22A)、糖蛋白B(UL27)、ICP18.5蛋白(UL28)、主要DNA结合蛋白ICP8(UL29)、DNA聚合酶UL30、核基质蛋白UL31、包膜糖蛋白UL32、蛋白UL33、内核膜蛋白UL34、衣壳蛋白VP26(UL35)、大型表膜蛋白UL36、衣壳装配蛋白UL37、VP19C蛋白(UL38)、核糖核苷酸还原酶(大亚基)UL39、核糖核苷酸还原酶(小亚基)UL40、表膜蛋白/病毒体宿主关闭VHS蛋白(UL41)、DNA聚合酶持续合成因子UL42、膜蛋白UL43、糖蛋白C(UL44)、膜蛋白UL45、表膜蛋白VP11/12(UL46)、表膜蛋白VP13/14(UL47)、病毒体成熟蛋白VP16(UL48、α-TIF)、包膜蛋白UL49、dUTP二磷酸酶UL50、表膜蛋白UL51、DNA解旋酶/引发酶复合蛋白UL52、糖蛋白K(UL53)、转录调节蛋白IE63(ICP27、UL54)、蛋白UL55、蛋白UL56、病毒复制蛋白ICP22(IE68、US1)、蛋白US2、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶US3、糖蛋白G(US4)、糖蛋白J(US5)、糖蛋白D(US6)、糖蛋白I(US7)、糖蛋白E(US8)、表膜蛋白US9、衣壳/表膜蛋白US10、Vmw21蛋白(US11)、ICP47蛋白(IE12、US12)、主要转录激活因子ICP4(IE175、RS1)、E3泛素连接酶ICP0(IE110)、潜伏期相关蛋白1 LRP1、潜伏期相关蛋白2 LRP2、神经毒力因子RL1(ICP34.5)、潜伏期关联转录物LAT;夹膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)的热休克蛋白Hsp60、细胞表面蛋白H1C、二肽基肽酶IV型DppIV、M抗原、70kDa蛋白、17kDa组蛋白样蛋白;十二指肠钩口线虫(Ancylostoma duodenale)和美洲板口线虫(Necator americanus)的脂肪酸和视黄醇结合蛋白-1FAR-1、金属蛋白酶组织抑制剂TIMP(TMP)、半胱氨酸蛋白酶ACEY-1、半胱氨酸蛋白酶ACCP-1、表面抗原Ac-16、分泌蛋白2ASP-2、金属蛋白酶1 MTP-1、天冬氨酰蛋白酶抑制剂API-1、表面关联抗原SAA-1、表面关联抗原SAA-2、成人特异性分泌因子Xa、丝氨酸蛋白酶抑制剂抗凝血剂AP、组织蛋白酶D样天冬氨酸蛋白酶ARR-1、谷胱甘肽S-转移酶GST、天冬氨酸蛋白酶APR-1、乙酰胆碱酯酶AChE;人博卡病毒(Human bocavirus)(HBoV)的蛋白NS1、蛋白NP1、蛋白VP1、蛋白VP2、蛋白VP3;埃翁氏埃里希氏体(Ehrlichia ewingii)的主要表面蛋白2 MSP2、主要表面蛋白4 MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白;嗜吞噬细胞无形体(Anaplasma phagocytophilum)的主要表面蛋白1-5(MSP1a、MSP1b、MSP2、MSP3、MSP4、

MSP5)、IV型分泌系统蛋白VirB2、VirB7、VirB11、VirD4;人偏肺病毒(Human metapneumovirus)(hMPV)的蛋白NS1、小型疏水蛋白NS2、SH蛋白、融合蛋白F、糖蛋白G、基质蛋白M、基质蛋白M2-1、基质蛋白M2-2、磷蛋白P、核蛋白N、聚合酶L;恰菲埃里希氏体(Ehrlichia chaffeensis)的主要表面蛋白2 MSP2、主要表面蛋白4 MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19 OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白;人乳头瘤病毒(Human papillomavirus)(HPV)的复制蛋白E1、调节蛋白E2、蛋白E3、蛋白E4、蛋白E5、蛋白E6、蛋白E7、蛋白E8、主要衣壳蛋白L1、次要衣壳蛋白L2;人副流感病毒(Human parainfluenza virus)(HPIV)的融合蛋白F、血凝素-神经氨酸酶HN、糖蛋白G、基质蛋白M、磷蛋白P、核蛋白N、聚合酶L;正粘病毒科流感病毒(Orthomyxoviridae family,Influenza virus)(flu)的血凝素(HA)、神经氨酸酶(NA)、核蛋白(NP)、M1蛋白、M2蛋白、NS1蛋白、NS2蛋白(NEP蛋白:核输出蛋白)、PA蛋白、PB1蛋白(聚合酶碱性蛋白1)、PB1-F2蛋白和PB2蛋白;日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus)的基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C;金格杆菌(Kingella kingae)的RTX毒素、IV型菌毛、主要菌毛亚基PilA、调节性转录因子PilS和PilR、蛋白σ54、外膜蛋白;朊病毒蛋白库鲁朊病毒(Kuru prion);拉沙病毒(Lassa virus)的核蛋白N、聚合酶L、基质蛋白Z、糖蛋白GP;嗜肺性军团病杆菌(Legionella pneumophila)的肽聚糖关联脂蛋白PAL、60kDa伴侣蛋白Cpn60(groEL、HspB)、IV型菌毛蛋白PilE、外膜蛋白MIP、主要外膜蛋白MompS、锌金属蛋白酶MSP;利什曼原虫属(Leishmania genus)的P4核酸酶、蛋白WD、核糖核苷酸还原酶M2、表面膜糖蛋白Pg46、半胱氨酸蛋白酶CP、葡萄糖调节蛋白78GRP-78、阶段特异性S抗原样蛋白A2、ATP酶F1、β-微管蛋白、热休克蛋白70Hsp70、KMP-11、糖蛋白GP63、蛋白BT1、核苷水解酶NH、细胞表面蛋白B1、核糖体蛋白P1样蛋白P1、固醇24-c-甲基转移酶SMT、LACK蛋白、组蛋白H1、SPB1蛋白、巯基特异性抗氧化因子TSA、蛋白质抗原ST11、信号肽酶SP、组蛋白H2B、表面抗原PSA-2、半胱氨酸蛋白酶b Cpb;麻风分枝杆菌(Mycobacterium leprae)的主要膜蛋白I、富含丝氨酸的抗原-45kDa、10kDa伴侣蛋白GroES、HSPkDa抗原、氨基氧代壬酸合酶AONS、蛋白重组酶A RecA、乙酰/丙酰辅酶A羧化酶α、丙氨酸消旋酶、60 kDa伴侣蛋白2、ESAT-6样蛋白EcxB(L-ESAT-6)、蛋白Lsr2、蛋白ML0276、肝素结合血凝素HBHA、热休克蛋白65Hsp65、mycP1或ML0041编码蛋白、htrA2或ML0176编码蛋白、htrA4或ML2659编码蛋白、gcp或ML0379编码蛋白、clpC或ML0235编码蛋白;钩端螺旋体属(Leptospira genus)的外膜蛋白LipL32、膜蛋白LIC10258、膜蛋白LP30、膜蛋白LIC12238、Ompa样蛋白Lsa66、表面蛋白LigA、表面蛋白LigB、主要外膜蛋白OmpL1、外膜蛋白LipL41、蛋白LigAni、表面蛋白LcpA、粘附蛋白LipL53、外膜蛋白UpL32、表面蛋白Lsa63、鞭毛蛋白FlaB1、膜脂蛋白LipL21、膜蛋白pL40、钩端螺旋体表面粘附素Lsa27、外膜蛋白OmpL36、外膜蛋白OmpL37、外膜蛋白OmpL47、外膜蛋白OmpL54、酰基转移酶LpxA;单核细胞增多性李斯特菌(Listeria monocytogenes)的李斯特菌溶素O前体Hly(LLO)、侵袭关联蛋白Iap(P60)、李斯特菌溶素调节蛋白PrfA、锌金属蛋白酶Mpl、磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C PLC(PlcA、PlcB)、O-乙酰基转移酶Oat、ABC-转运蛋白通透酶Im.G_1771、粘附蛋白LAP、LAP受体Hsp60、粘附素LapB、溶血素李斯特菌溶素O LLO、蛋白ActA、内化蛋白A InlA、蛋白lnlB;例如,博氏疏螺旋体(Borrelia burgdorferi)和其它疏螺旋体属种类的外表面蛋白A

OspA、外表面蛋白OspB、外表面蛋白OspC、核心蛋白聚糖结合蛋白A DbpA、核心蛋白聚糖结合蛋白B DbpB、鞭毛丝41kDa核心蛋白Fla、碱性膜蛋白A BmpA(免疫优势抗原P39)、外表面22kDa脂蛋白前体(抗原IPLA7)、可变表面脂蛋白vlsE;毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2TPX-2、抗原性蛋白SXP(肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1 ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白(onchocystatin)CPI-2、蛋白Cox-2(班氏线虫(Wuchereria bancrofti)和马来丝虫(Brugia malayi)、淋巴丝虫病(Lymphatic filariasis)(象皮病(Elephantiasis)));淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(Lymphocytic choriomeningitis virus)(LCMV)的糖蛋白GP、基质蛋白Z、聚合酶L、核蛋白N;血小板反应蛋白相关的无名蛋白TRAP、SSP2子孢子表面蛋白2、顶端膜抗原1 AMA1、棒状体膜抗原RMA1、酸碱重复抗原ABRA、细胞穿越蛋白PF、蛋白Pvs25、裂殖子表面蛋白1 MSP-1、裂殖子表面蛋白2 MSP-2、环状体感染的红细胞表面抗原RESA肝阶段抗原3 LSA-3、蛋白Eba-175、丝氨酸重复抗原5 SERA-5、环子孢子蛋白CS、裂殖子表面蛋白3 MSP3、裂殖子表面蛋白8 MSP8、烯醇酶PF10、肝细胞红细胞蛋白17kDa HEP17、红细胞膜蛋白1 EMP1、蛋白质Kβ裂殖子表面蛋白4/5 MSP4/5、热休克蛋白Hsp90、富含谷氨酸的蛋白GLURP、裂殖子表面蛋白4 MSP-4、蛋白STARP、环子孢子蛋白相关抗原前体CRA(疟原虫属(Plasmodium genus)、疟疾(Malaria));马尔堡病毒(Marburg virus)的核蛋白N、膜关联蛋白VP24、次要核蛋白VP30、聚合酶辅因子VP35、聚合酶L、基质蛋白VP40、包膜糖蛋白GP;麻疹病毒(Measles virus)的蛋白C、基质蛋白M、磷蛋白P、非结构蛋白V、血凝素糖蛋白H、聚合酶L、核蛋白N、融合蛋白F;假鼻疽伯克霍尔德菌(Burkholderia pseudomallei)的ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A(BimA)、细菌延伸因子-Tu EF-Tu、17kDa OmpA样蛋白、boaA编码蛋白、boaB编码蛋白;脑膜炎奈瑟氏菌(Neisseria meningitidis)的菌毛蛋白、次要菌毛蛋白关联亚基pilC、主要菌毛蛋白亚基和变体pilE、pilS、相变异蛋白porA、孔蛋白B PorB、蛋白TraD、奈瑟氏菌外膜抗原H.8、70kDa抗原、主要外膜蛋白PI、外膜蛋白P1A和P1B、W抗原、表面蛋白A NspA、转铁蛋白结合蛋白TbpA、转铁蛋白结合蛋白TbpB、PBP2、mtrR编码蛋白、ponA编码蛋白、膜通透酶FbpBC、FbpABC蛋白系统、LbpAB蛋白、外膜蛋白Opa、外膜转运蛋白FetA、铁抑制调节因子MpeR、因子H结合蛋白fHbp、粘附素NadA、蛋白NhbA、阻抑蛋白FarR;例如,横川后殖吸虫(Metagonimus yokagawai)的66kDa蛋白、22kDa蛋白;微孢子虫门(Microsporidia phylum)的极管蛋白(对于格留虫属(Glugea)为34kDa、75kDa和170kDa、对于脑炎微孢子虫属(Encephalitozoon)为35kDa、55kDa和150kDa)、驱动蛋白相关蛋白、RNA聚合酶II最大亚基、整合膜蛋白YIPA相似物、抗沉默蛋白1、热休克转录因子HSF、蛋白激酶、胸苷激酶、NOP-2样核仁蛋白;接触传染性软疣病毒(Molluscum contagiosum virus)(MCV)的CASP8和FADD样凋亡调节因子、谷胱甘肽过氧化物酶GPX1、RNA解旋酶NPH-II NPH2、聚(A)聚合酶催化亚基PAPL、主要包膜蛋白P43K、早期转录因子70kDa亚基VETFS、早期转录因子82kDa亚基VETFL、金属内肽酶G1型、核苷三磷酸酶I NPH1、复制蛋白A28样MC134L、RNA聚合

酶7kDa亚基RPO7;腮腺炎病毒(Mumps virus)的基质蛋白M、磷蛋白P/V、小型疏水蛋白SH、核蛋白N、蛋白V、融合糖蛋白F、血凝素-神经氨酸酶HN、RNA聚合酶L;伤寒立克次体(Rickettsia typhi)的外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D、结晶表面层蛋白SLP、保护性表面蛋白抗原SPA;肺炎支原体(Mycoplasma pneumoniae)的粘附素P1、粘附蛋白P30、蛋白p116、蛋白P40、细胞骨架蛋白HMW1、细胞骨架蛋白HMW2、细胞骨架蛋白HMW3、MPN152编码蛋白、MPN426编码蛋白、MPN456编码蛋白、MPN-500编码蛋白;例如,星形诺卡氏菌(Nocardia asteroides)和其它诺卡氏菌属种类的NocA、铁依赖性调节蛋白、VapA、VapD、VapF、VapG、酪蛋白裂解蛋白酶、丝状体尖端关联43-kDa蛋白、蛋白P24、蛋白P61、15-kDa蛋白、56-kDa蛋白;旋盘尾丝虫(Onchocerca volvulus)的毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(如肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白(onchocystatin)CPI-2、Cox-2;巴西副球孢子菌(Paracoccidioides brasiliensis)的43kDa分泌糖蛋白、糖蛋白gp0、糖蛋白gp75、抗原Pb27、抗原Pb40、热休克蛋白Hsp65、热休克蛋白Hsp70、热休克蛋白Hsp90、蛋白P10、磷酸丙糖异构酶TPI、N-乙酰-葡萄糖胺结合凝集素副球菌素(Paracoccin)、28kDa蛋白Pb28;例如,卫氏并殖吸虫(Paragonimus westermani)和其它并殖吸虫属种类的28-kDa克鲁兹蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶Pw28CCP;巴斯德菌属(Pasteurella genus)的外膜蛋白OmpH、外膜蛋白Omp28、蛋白PM1539、蛋白PM0355、蛋白PM1417、修复蛋白MutL、蛋白BcbC、蛋白PM0305、甲酸脱氢酶-N、蛋白PM0698、蛋白PM1422、DNA旋转酶、脂蛋白PlpE、粘附蛋白Cp39、血红素获取系统受体HasR、39kDa荚膜蛋白、铁调节的OMP IROMP、外膜蛋白OmpA87、菌毛蛋白Ptf、菌毛亚基蛋白PtfA、转铁蛋白结合蛋白Tbpl、酯酶MesA、多杀性巴氏杆菌毒素PMT、粘附蛋白Cp39;百日咳博德特氏菌(Bordetella pertussis)的丝状血凝素FhaB、腺苷酸环化酶CyaA、百日咳毒素亚基4前体PtxD、百日咳杆菌粘附素(pertactin)前体Prn、毒素亚基1 PtxA、蛋白Cpn60、蛋白brkA、百日咳毒素亚基2前体PtxB、百日咳毒素亚基3前体PtxC、百日咳毒素亚基5前体PtxE、百日咳杆菌粘附素Prn、蛋白Fim2、蛋白Fim3;鼠疫耶尔森菌(Yersinia pestis)的F1胶囊抗原、毒力关联V抗原、分泌的效应蛋白LcrV、V抗原、外膜蛋白酶Pla、分泌的效应蛋白YopD、推定的分泌蛋白-酪氨酸磷酸酶YopH、针状复合物主要亚基YscF、蛋白激酶YopO、推定的自转运蛋白YapF、内膜ABC-转运蛋白YbtQ(Irp7)、推定的糖结合蛋白YPO0612、热休克蛋白90 HtpG、推定的硫酸酯酶蛋白YdeN、外膜脂蛋白载体蛋白LolA、分泌伴侣蛋白YerA、推定的脂蛋白YPO0420、溶血素激活蛋白HpmB、鼠疫巴氏杆菌素(pesticin)/耶尔森杆菌素(yersiniabactin)外膜受体Psn、分泌的效应蛋白YopE、分泌的效应蛋白YopF、分泌的效应蛋白YopK、外膜蛋白YopN、外膜蛋白YopM、凝固酶/溶纤维蛋白溶酶前体Pla;肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)的蛋白PhpA、表面粘附素PsaA、肺炎球菌溶素Ply、ATP依赖性蛋白酶Clp、硫辛酸蛋白连接酶LplA、细胞壁表面锚定蛋白psrP、分选酶SrtA、谷氨酰基-tRNA合成酶GltX、胆碱结合蛋白A CbpA、

肺炎球菌表面蛋白A PspA、肺炎球菌表面蛋白C PspC、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶Gnd、铁结合蛋白PiaA、胞壁质水解酶LytB、蛋白LytC、蛋白酶A1；耶氏肺孢子虫(Pneumocystis jirovecii)的主要表面蛋白B、kexin样蛋白酶KEX1、蛋白A12、55kDa抗原P55、主要表面糖蛋白Msg；脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)的基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C；例如，福氏耐格里阿米巴(Naegleria fowleri)的蛋白Nfa1、毒蜥外泌肽-3、分泌脂肪酶、组织蛋白酶B样蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、组织蛋白酶、过氧化物毒素、蛋白Cry1Ac；JC病毒的阿格诺蛋白(agnoprotein)、大型T抗原、小型T抗原、主要衣壳蛋白VP1、次要衣壳蛋白Vp2；鹦鹉热衣原体(Chlamydophila psittaci)的低钙反应蛋白E LCrE、衣原体外蛋白N CopN、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PknD、酰基载体-蛋白S-丙二酰转移酶FabD、单链DNA结合蛋白Ssb、主要外膜蛋白MOMP、外膜蛋白2(Omp2)、多态性膜蛋白家族(如Pmp1、Pmp2、Pmp3、Pmp4、Pmp5、Pmp6、Pmp7、Pmp8、Pmp9、Pmp10、Pmp11、Pmp12、Pmp13、Pmp14、Pmp15、Pmp16、Pmp17、Pmp18、Pmp19、Pmp20、Pmp21)；贝纳特氏立克次体(Coxiella burnetii)的外膜蛋白P1、热休克蛋白B HspB、肽ABC转运蛋白、GTP结合蛋白、蛋白IcmB、核糖核酸酶R、磷酸酶SixA、蛋白DsbD、外膜蛋白TolC、DNA结合蛋白PhoB、ATP酶DotB、热休克蛋白B(HspB)、膜蛋白Com1、28kDa蛋白、DNA-3-甲基腺嘌呤糖苷酶I、外膜蛋白OmpH、外膜蛋白AdaA、甘氨酸切割系统T-蛋白；狂犬病病毒(Rabies virus)的核蛋白N、大型结构蛋白L、磷蛋白P、基质蛋白M、糖蛋白G；呼吸道合胞体病毒(Respiratory syncytial virus)(RSV)的融合蛋白F、核蛋白N、基质蛋白M、基质蛋白M2-1、基质蛋白M2-2、磷蛋白P、小型疏水蛋白SH、主要表面糖蛋白G、聚合酶L、非结构蛋白1 NS1、非结构蛋白2 NS2；鼻病毒(Rhinovirus)的基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C；立克次体属(Rickettsia genus)的外膜(OM)蛋白、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、蛋白PS120、胞质内蛋白D、保护性表面蛋白抗原SPA；小蛛立克次氏体(Rickettsia akari)的外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D；裂谷热病毒(Rift Valley fever virus)的包膜糖蛋白GP、聚合酶L、核蛋白N、非结构蛋白NSS；立氏立克次体(Rickettsia rickettsii)的外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D；轮状病毒(Rotavirus)的非结构蛋白6 NS6、非结构蛋白2 NS2、中间衣壳蛋白VP6、内衣壳蛋白VP2、非结构蛋白3 NS3、RNA指导的RNA聚合酶L、蛋白VP3、非结构蛋白1 NS1、非结构蛋白5 NS5、外衣壳糖蛋白VP7、非结构糖蛋白4 NS4、外衣壳蛋白VP4；风疹病毒(Rubella virus)的多聚蛋白P200、糖蛋白E1、糖蛋白E2、蛋白NS2、衣壳蛋白C；沙门氏菌属(Salmonella genus)的伴侣蛋白GroEL(MopA)、肌醇磷酸磷酸酶SopB、热休克蛋白Hs1U、伴侣蛋白DnaJ、蛋白TviB、蛋白IroN、鞭毛蛋白FliC、侵袭蛋白SipC、糖蛋白gp43、外膜蛋白LamB、外膜蛋白PagC、外膜蛋白TolC、外膜蛋白NmpC、外膜蛋白FadL、转运蛋白SadA、转移酶WgaP、效应蛋白SifA、SteC、SseL、SseJ和SseF；SARS冠状病毒(SARS coronavirus)的蛋白14、非结构蛋白NS7b、非结构蛋白NS8a、蛋白9b、蛋白3a、核蛋白N、非结构蛋白NS3b、非结构蛋白NS6、蛋白7a、非结构蛋白NS8b、膜蛋白M、包膜小型膜蛋白EsM、复制酶多聚蛋白1a、纤突糖蛋白S、复制酶多聚蛋白1ab；疥螨(Sarcoptes scabiei)的丝氨酸蛋白酶、非典型疥螨抗原1 ASA1、谷胱甘肽S-转移酶(GST)、半胱氨酸蛋白酶、丝氨酸

蛋白酶、载脂蛋白;血吸虫属(Schistosoma genus)的谷胱甘肽S-转移酶(GST)、副肌球蛋白、血红蛋白酶SM32、主要卵抗原、14kDa脂肪酸结合蛋白Sm14、主要幼虫表面抗原P37、22.6kDa表膜抗原、钙蛋白酶CANP、三磷酸异构酶Tim、表面蛋白9B、外衣壳蛋白VP2、23kDa整合膜蛋白Sm23、Cu/Zn-超氧化物歧化酶、糖蛋白Gp、肌球蛋白;恙虫病东方体(Orientia tsutsugamushi)的60kDa伴侣蛋白、56kDa型特异性抗原、丙酮酸磷酸二激酶、4-羟基苯甲酸酯辛烯基转移酶;志贺氏菌属(Shigella genus)的脱氢酶GuaB、侵袭蛋白Spa32、侵袭素IpaA、侵袭素IpaB、侵袭素IpaC、侵袭素IpaD、侵袭素IpaH、侵袭素IpaJ;水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus)(VZV)的蛋白P53、病毒体蛋白US10同源物、转录调节因子IE63、转录反式激活因子IE62、蛋白酶P33、α反式诱导因子74kDa蛋白、脱氧尿苷5'-核苷三磷酸水解酶、转录反式激活因子IE4、膜蛋白UL43同源物、核磷蛋白UL3同源物、核蛋白UL4同源物、复制起点结合蛋白、膜蛋白2、磷蛋白32、蛋白57、DNA聚合酶持续合成因子、门蛋白54、DNA引发酶、表膜蛋白UL14同源物、表膜蛋白UL21同源物、表膜蛋白UL55同源物、三联终止酶亚基UL33同源物、三联终止酶亚基UL15同源物、衣壳结合蛋白44、病毒体包装蛋白43;重型天花(Variola major)和轻型天花(Variola minor)的截短3-β羟基-5-烯类固醇脱氢酶同源物、病毒体膜蛋白A13、蛋白A19、蛋白A31、截短蛋白A35同源物、蛋白A37.5同源物、蛋白A47、蛋白A49、蛋白A51、信号素样蛋白A43、丝氨酸蛋白酶抑制剂1、丝氨酸蛋白酶抑制剂2、丝氨酸蛋白酶抑制剂3、蛋白A6、蛋白B15、蛋白C1、蛋白C5、蛋白C6、蛋白F7、蛋白F8、蛋白F9、蛋白F11、蛋白F14、蛋白F15、蛋白F16;申克孢子丝菌(Sporothrix schenckii)的粘附素/糖蛋白gp70、蛋白酶;葡萄球菌属(Staphylococcus genus)(如金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus))的血红素-铁结合蛋白IsdB、胶原粘附素Cna、聚集因子A(ClfA)、蛋白MecA、纤连蛋白结合蛋白A(FnbA)、肠毒素A型(EntA)、肠毒素B型(EntB)、肠毒素C型EntC1、肠毒素C型EntC2、肠毒素D型(EntD)、肠毒素E型(EntE)、毒性休克综合征毒素-1(TSST-1)、葡萄球菌激酶、青霉素结合蛋白2a(PBP2a、MecA)、分泌抗原SssA;粪类圆线虫(Strongyloides stercoralis)的抗原Ss-IR、抗原NIE、圆线虫虾红素(strongylastacin)、Na+-K+ATP酶Sseat-6、原肌球蛋白SsTmy-1、蛋白LEC-5、41kDa抗原P5、41-kDa幼虫蛋白、31-kDa幼虫蛋白、28-kDa幼虫蛋白;苍白密螺旋体(Treponema pallidum)的甘油磷酸二酯磷酸二酯酶GlpQ(Gpd)、外膜蛋白TmpB、蛋白Tp92、抗原TpF1、重复蛋白Tpr、重复蛋白F TprF、重复蛋白G TprG、重复蛋白I TprI、重复蛋白J TprJ、重复蛋白K TprK、密螺旋体膜蛋白A(TmpA)、脂蛋白、15kDa Tpp15、47kDa膜抗原、小铁蛋白TpF1、粘附素Tp0751、脂蛋白TP0136、蛋白TpN17、蛋白TpN47、外膜蛋白TP0136、外膜蛋白TP0155、外膜蛋白TP0326、外膜蛋白TP0483、外膜蛋白TP0956;绦虫属(Taenia genus)的组织蛋白酶L样蛋白酶、53/25-kDa抗原、8kDa家族成员、具有微弱胰蛋白酶样活性的囊尾蚴蛋白TsAg5、六钩蚴蛋白TSOL18、六钩蚴蛋白TSOL45-1A、乳酸脱氢酶A LDHA、乳酸脱氢酶B LDHB;破伤风梭状芽胞杆菌(Clostridium tetani)的破伤风毒素TetX、破伤风毒素C TTC、140kDa S层蛋白、黄素蛋白β亚基CT3、磷脂酶(卵磷脂酶)、磷酸载体蛋白HPr;蜱传脑炎病毒(Tick-borne encephalitis virus)(TBEV)的基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C;犬弓蛔虫(Toxocara canis)或猫弓蛔线虫(Toxocara cati)的58-kDa抗原、68-kDa抗原、弓蛔虫幼虫排泄分泌抗原TES、32-kDa糖蛋白、糖蛋白TES-70、糖蛋白GP31、排泄分泌抗原TcES-57、肠周液抗原Pe、可溶性提取物抗原Ex、排泄/分泌幼虫抗原ES、抗原TES-120、多聚蛋白过敏原TBA-1、组织蛋白酶L样半胱氨酸蛋白酶c-

cpl-1、26-kDa蛋白;刚地弓形虫(Toxoplasma gondii)的微丝蛋白(如MIC1、MIC2、MIC3、MIC4、MIC5、MIC6、MIC7或MIC8)、棒状体蛋白Rop2、棒状体蛋白(如Rop1、Rop2、Rop3、Rop4、Rop5、Rop6、Rop7、Rop16或Rjop17)、蛋白SR1、表面抗原P22、主要抗原p24、主要表面抗原p30、致密颗粒蛋白(如GRA1、GRA2、GRA3、GRA4、GRA5、GRA6、GRA7、GRA8、GRA9或GRA10)、28kDa抗原、表面抗原SAG1、SAG2相关抗原、核苷三磷酸酶1、核苷三磷酸酶2、蛋白Stt3、含HesB样结构域的蛋白、菱形样蛋白酶5、毒霉素1(toxomepsin1);旋毛虫(Trichinella spiralis)的43kDa分泌糖蛋白、53kDa分泌糖蛋白、副肌球蛋白、抗原Ts21、抗原Ts87、抗原p46000、TSL-1抗原、小窝蛋白-1CAV-1、49kDa新生幼虫抗原、鞘脂激活蛋白原(prosaposin)同源物、丝氨酸蛋白酶、丝氨酸蛋白酶抑制剂、45-kDa糖蛋白Gp45;阴道滴虫(Trichomonas vaginalis)的Myb样转录因子(Myb1、Myb2、Myb3)、粘附蛋白AP23、粘附蛋白AP33、粘附素蛋白AP33-3、粘附素AP51、粘附素AP65、粘附蛋白AP65-1、α-辅肌动蛋白、驱动蛋白关联蛋白、teneurin、62kDa蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶样丝氨酸蛋白酶SUB1、半胱氨酸蛋白酶基因3CP3、α-烯醇化酶Eno1、半胱氨酸蛋白酶CP30、热休克蛋白Hsp70和Hsp60、免疫原性蛋白P270;毛首鞭虫(Trichuris trichiura)的β-微管蛋白、47-kDa蛋白、分泌性白细胞样蛋白酶-1SLP-1、50-kDa蛋白质TT50、17kDa抗原、43/47kDa蛋白;例如,结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis)的蛋白ESAT-6(EsxA)、10kDa滤液抗原EsxB、分泌的抗原85-B FBPB、纤连蛋白结合蛋白A FbpA(Ag85A)、丝氨酸蛋白酶PepA、PPE家族蛋白PPE18、纤连蛋白结合蛋白D FbpD、免疫原性蛋白MPT64、分泌的蛋白MPT51、过氧化氢酶-过氧化物酶-过氧亚硝酸酶T(catalase-peroxidase-peroxynitritase T)KATG、周质磷酸盐结合脂蛋白PSTS3(PBP-3、Phos-1)、铁调节的肝素结合血凝素Hbha、PPE家族蛋白PPE14、PPE家族蛋白PPE68、蛋白Mtb72F、蛋白Apa、免疫原性蛋白MPT63、周质磷酸结合脂蛋白PSTS1(PBP-1)、分子伴侣DnaK、细胞表面脂蛋白Mpt83、脂蛋白P23、磷酸盐转运系统通透酶蛋白pstA、14kDa抗原、纤连蛋白结合蛋白C FbpC1、丙氨酸脱氢酶TB43、谷氨酰胺合成酶1、ESX-1蛋白、蛋白CFP10、TB10.4蛋白、蛋白MPT83、蛋白MTB12、蛋白MTB8、Rpf样蛋白、蛋白MTB32、蛋白MTB39、晶体蛋白、热休克蛋白HSP65、蛋白PST-S;土拉热弗朗西斯氏菌(Francisella tularensis)的外膜蛋白FobA、外膜蛋白FobB、胞内生长基因座lglC1、胞内生长基因座IglC2、转氨酶Wbtl、伴侣蛋白GroEL、17kDa主要膜蛋白TUL4、脂蛋白LpnA、几丁质酶家族18蛋白、异柠檬酸脱氢酶、Nif3家族蛋白、IV型菌毛糖基化蛋白、外膜蛋白tolC、FAD结合家族蛋白、IV型菌毛多聚体外膜蛋白、双组分传感蛋白KdpD、伴侣蛋白DnaK、蛋白TolQ;解脲脲原体(Ureaplasma urealyticum)的MB抗原、尿素酶、蛋白GyrA、蛋白GyrB、蛋白ParC、蛋白ParE、脂质关联的膜蛋白LAMP、胸苷激酶TK、磷脂酶PL-A1、磷脂酶PL-A2、磷脂酶PL-C、表面表达的96-kDa抗原;委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)的非结构多聚蛋白、结构多聚蛋白、衣壳蛋白CP、蛋白E1、蛋白E2、蛋白E3、蛋白酶P1、蛋白酶P2、蛋白酶P3;瓜纳瑞托病毒(Guanarito virus)的糖蛋白GP、基质蛋白Z、聚合酶L、核蛋白N;西尼罗病毒(West Nile virus)的多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C、蛋白酶NS3、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白AS2B、蛋白NS4A、蛋白NS4B、蛋白NS5;西方马脑炎病毒(Western equine encephalitis virus)的衣壳蛋白CP、蛋白E1、蛋白E2、蛋白E3、蛋白酶P2;黄热病病毒(Yellow fever virus)的基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C、蛋白酶NS3、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白AS2B、蛋白NS4A、蛋白NS4B、蛋白NS5;假结核耶尔森菌(Yersinia pseudotuberculosis)的

推定的Yop靶向蛋白YobB、效应蛋白YopD、效应蛋白YopE、蛋白YopH、效应蛋白YopJ、蛋白质易位蛋白YopK、效应蛋白YopT、蛋白YpkA、鞭毛生物合成蛋白FlhA、肽酶M48、钾外流系统KefA、转录调节因子RovA、粘附素Ifp、易位蛋白LcrV、蛋白PcrV、侵袭素Inv、外膜蛋白OmpF样孔蛋白、粘附素YadA、蛋白激酶C、磷脂酶C1、蛋白PsaA、甘露糖基转移酶样蛋白WbyK、蛋白YscU、抗原YPMa;结肠炎耶尔森菌(Yersinia enterocolitica)的效应蛋白YopB、60kDa伴侣素、蛋白WbcP、酪氨酸蛋白磷酸酶YopH、蛋白YopQ、肠毒素、半乳糖苷通透酶、还原酶NrdE、蛋白YasN、侵袭素Inv、粘附素YadA、外膜孔蛋白F OmpF、蛋白UspA1、蛋白EibA、蛋白Hia、细胞表面蛋白质Ail、分子伴侣SycD、蛋白LcrD、蛋白LcrG、蛋白LcrV、蛋白SycE、蛋白YopE、调节蛋白TyeA、蛋白YopM、蛋白YopN、蛋白YopO、蛋白YopT、蛋白YopD、蛋白酶ClpP、蛋白MyfA、蛋白FilA和蛋白PsaA。

[0068] 优选地,癌症或肿瘤选自由以下各项所组成的组:急性成淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病、肾上腺皮质癌、AIDS相关癌症、AIDS相关淋巴瘤、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤、脑干胶质瘤、脑肿瘤、小脑星形细胞瘤、大脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、幕上原始神经外胚层肿瘤、视觉通路和下丘脑胶质瘤、乳腺癌、支气管腺瘤/类癌、伯基特淋巴瘤(Burkitt淋巴瘤)、儿童类癌瘤、胃肠类癌瘤、不明原发性癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、儿童期小脑星形细胞瘤、儿童期大脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤、子宫颈癌、儿童期癌症、慢性淋巴细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性骨髓增殖性疾病、结肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、促结缔组织增生小圆细胞瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、尤文氏肉瘤家族中的尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma in the Ewing family of tumor)、儿童颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼内黑素瘤、视网膜母细胞瘤、胆囊癌、胃(胃部)癌(Gastric(Stomach) cancer)、胃肠类癌瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、颅外、性腺外或卵巢生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞肿瘤、脑干胶质瘤、儿童大脑星形细胞瘤、儿童视觉通路和下丘脑胶质瘤、胃类癌、多毛细胞白血病、头颈癌、心癌、肝细胞(肝脏)癌、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、儿童下丘脑和视觉通路胶质瘤、眼内黑素瘤、胰岛细胞癌(内分泌胰腺)、卡波西肉瘤(Kaposi sarcoma)、肾癌(肾细胞癌)、喉癌、白血病、急性成淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性骨髓性白血病、多毛细胞白血病、唇及口腔癌、脂肪肉瘤、肝癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、淋巴瘤、艾滋病相关淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(Waldenström Macroglobulinemia)、骨/骨肉瘤的恶性纤维组织细胞瘤、儿童成神经管细胞瘤、黑素瘤、眼内(眼部)黑素瘤、梅克尔细胞癌(Merkel Cell Carcinoma)、成人恶性间皮瘤、儿童间皮瘤、原发灶隐匿转移性颈部鳞状癌、口部癌症(Mouth Cancer)、儿童期多发性内分泌腺瘤综合征、多发性骨髓瘤/浆细胞瘤、蕈样真菌病、骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病、慢性粒细胞白血病、成人急性髓细胞性白血病、儿童急性髓细胞性白血病、多发性骨髓瘤(骨髓癌)、慢性骨髓增殖性疾病、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、成神经细胞瘤、口腔癌(Oral Cancer)、口咽癌、骨肉瘤/骨恶性纤维组织细胞瘤、卵巢癌、卵巢上皮癌(表面上皮-间质肿瘤)、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢轻度恶性潜能肿瘤、胰腺癌、胰岛细胞胰腺癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、松果体星形细胞瘤、松果体生殖细胞瘤、儿童成松果体细胞瘤和幕上原始神经外胚层肿瘤、垂体腺瘤、浆细胞瘤/多发性骨髓瘤、胸膜

肺母细胞瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌(肾癌)、肾盂和输尿管癌、视网膜母细胞瘤、儿童横纹肌肉瘤、唾液腺癌、尤文氏肉瘤家族肿瘤、卡波西肉瘤、软组织肉瘤、子宫肉瘤、塞泽里综合征(Sézary syndrome)、皮肤癌(非黑素瘤)、皮肤癌(黑素瘤)、梅克尔细胞皮肤癌、小肠癌、鳞状细胞癌、原发灶隐匿转移性颈部鳞状癌、儿童幕上原始神经外胚层肿瘤、睾丸癌、喉癌、儿童胸腺瘤、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、儿童甲状腺癌、肾盂及输尿管移行细胞癌、妊娠滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫内膜癌、子宫肉瘤、阴道癌、儿童视觉通路和下丘脑胶质瘤、外阴癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、和儿童肾母细胞瘤(肾癌)。

[0069] 优选地,m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种,其中n种不同RNA分子种类中的每一种编码不同的癌症或肿瘤抗原、或其片段或变体,该癌症或肿瘤抗原选自由以下各项所组成的组:5T4、707-AP、9D7、AFP、AlbZIP HPG1、α-5-β-1-整合素、α-5-β-6-整合素、α-辅肌动蛋白-4/m、α-甲基酰基-辅酶A消旋酶、ART-4、ARTC1/m、B7H4、BAGE-1、BCL-2、bcr/abl、β-连环蛋白/m、BING-4、BRCA1/m、BRCA2/m、CA 15-3/CA 27-29、CA 19-9、CA72-4、CA125、钙网蛋白、CAMEL、CASP-8/m、组织蛋白酶B、组织蛋白酶L、CD19、CD20、CD22、CD25、CDE30、CD33、CD4、CD52、CD55、CD56、CD80、CDC27/m、CDK4/m、CDKN2A/m、CEA、CLCA2、CML28、CML66、COA-1/m、毛状蛋白样蛋白、胶原XXIII、COX-2、CT-9/BRD6、Cten、周期素B1、周期素D1、cyp-B、CYPB1、DAM-10、DAM-6、DEK-CAN、EFTUD2/m、EGFR、ELF2/m、EMMPRIN、EpCam、EphA2、EphA3、ErbB3、ETV6-AML1、EZH2、FGF-5、FN、Frau-1、G250、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE7b、GAGE-8、GDEP、GnT-V、gp100、GPC3、GPNMB/m、HAGE、HAST-2、hepsin、Her2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A*0201-R17I、HLA-A11/m、HLA-A2/m、HNE、同源框NKX3.1、HOM-TES-14/SCP-1、HOM-TES-85、HPV-E6、HPV-E7、HSP70-2M、HST-2、hTERT、iCE、IGF-1R、IL-13Ra2、IL-2R、IL-5、未成熟层粘连蛋白受体、激肽释放酶-2、激肽释放酶-4、Ki67、KIAA0205、KIAA0205/m、KK-LC-1、K-Ras/m、LAGE-A1、LDLR-FUT、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-B1、MAGE-B2、MAGE-B3、MAGE-B4、MAGE-B5、MAGE-B6、MAGE-B10、MAGE-B16、MAGE-B17、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-D1、MAGE-D2、MAGE-D4、MAGE-E1、MAGE-E2、MAGE-F1、MAGE-H1、MAGEL2、乳腺球蛋白A、MART-1/melan-A、MART-2、MART-2/m、基质蛋白22、MC1R、M-CSF、ME1/m、间皮素、MG50/PXDN、MMP11、MN/CA IX-抗原、MRP-3、MUC-1、MUC-2、MUM-1/m、MUM-2/m、MUM-3/m、I类肌球蛋白/m、NA88-A、N-乙酰基葡萄糖胺转移酶-V、Neo-PAP、Neo-PAP/m、NFYC/m、NGEP、NMP22、NPM/ALK、N-Ras/m、NSE、NY-ESO-B、NY-ESO-1、OA1、OFA-iLRP、OGT、OGT/m、OS-9、OS-9/m、骨钙蛋白、骨桥蛋白、p15、p190次要bcr-abl、p53、p53/m、PAGE-4、PAI-1、PAI-2、PAP、PART-1、PATE、PDEF、Pim-1-激酶、Pin-1、Pml/PARα、POTE、PRAME、PRDX5/m、前列腺特异性蛋白(prostein)、蛋白酶-3、PSA、PSCA、PSGR、PSM、PSMA、PTPRK/m、RAGE-1、RBAF600/m、RHAMM/CD168、RU1、RU2、S-100、SAGE、SART-1、SART-2、SART-3、SCC、SIRT2/m、Sp17、SSX-1、SSX-2/HOM-MEL-40、SSX-4、STAMP-1、STEAP-1、生存素、生存素-2B、SYT-SSX-1、SYT-SSX-2、TA-90、TAG-72、TARP、TEL-AML1、TGFβ、TGFβRII、TGM-4、TPI/m、TRAG-3、TRG、TRP-1、TRP-2/6b、TRP/INT2、TRP-p8、酪氨酸酶、UPA、VEGFR1、VEGFR-2/FLK-1和WT1。这类肿瘤抗原可以优选地选自由以下各项所组成的组:p53、CA125、EGFR、Her2/neu、hTERT、PAP、MAGE-A1、MAGE-A3、间皮素、MUC-1、GP100、MART-1、酪氨酸酶、PSA、PSCA、PSMA、STEAP-1、VEGF、VEGFR1、VEGFR2、Ras、CEA或WT1(更优选

地来自PAP、MAGE-A3、WT1和MUC-1)，优选地选自由以下各项所组成的组：MAGE-A1(例如，根据登录号M77481的MAGE-A1)、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A6(例如，根据登录号NM_005363的MAGE-A6)、MAGE-C1、MAGE-C2、melan-A(例如，根据登录号NM_005511的melan-A)、GP100(例如，根据登录号M77348的GP100)、酪氨酸酶(例如，根据登录号NM_000372的酪氨酸酶)、生存素(例如，根据登录号AF077350的生存素)、CEA(例如，根据登录号NM_004363的CEA)、Her-2/neu(例如，根据登录号M11730的Her-2/neu)、WT1(例如，根据登录号NM_000378的WT1)、PRAME(例如，根据登录号NM_006115的PRAME)、EGFRI(表皮生长因子受体1)(例如，根据登录号AF288738的EGFRI(表皮生长因子受体1))、MUC1、粘液素-1(例如，根据登录号NM_002456的粘液素-1)、SEC61G(例如，根据登录号NM_014302的SEC61G)、hTERT(例如，登录号NM_198253的hTERT)、5T4(例如，根据登录号NM_006670的5T4)、TRP-2(例如，根据登录号NM_001922的TRP-2)、STEAP1、PCA、PSA和PSMA。

[0070] 在本发明的优选的实施方式中，该方法还包括将根据本发明的RNA分子(全部分子或仅部分分子)与一种或多种阳离子或聚阳离子化合物、优选与阳离子或聚阳离子聚合物、阳离子或聚阳离子肽或蛋白质(例如，鱼精蛋白)、阳离子或聚阳离子多糖和/或阳离子或聚阳离子脂质复合的步骤。

[0071] 还提供了通过根据本发明方法所生产的RNA分子组合物、及包含根据本发明的RNA分子组合物和药学上可接受的辅料的药物组合物。在优选的实施方式中，根据本发明方法所产生的RNA分子是mRNA分子。

[0072] 在本发明的优选的实施方式中，根据本发明的RNA分子组合物包含至少一种与选自由阳离子和聚阳离子化合物所组成的组中的一种或多种成员复合的RNA分子，优选地该一种或多种成员选自由阳离子和聚阳离子聚合物、阳离子和聚阳离子肽和蛋白质(优选鱼精蛋白)、阳离子和聚阳离子多糖以及阳离子和聚阳离子脂质所组成的组。

[0073] 可选地，至少一种RNA分子与一种或多种阳离子或聚阳离子化合物的N/P比(阳离子聚合物胺基团的摩尔数与RNA的磷酸酯基团的摩尔数之比)是在0.1至20的范围内，优选地在0.3至4、0.5至2、0.7至2的范围内，且更优选地在0.7至1.5的范围内。

[0074] 在另一个优选的实施方式中，该至少一种RNA分子与一种或多种阳离子或聚阳离子化合物复合的重量比是在6:1(w/w)至0.25:1(w/w)的范围内，更优选从5:1(w/w)至0.5:1(w/w)，甚至更优选从4:1(w/w)至1:1(w:w)或从3:1(w/w)至1:1(w/w)，且最优选地RNA与阳离子或聚阳离子化合物和/或与聚合物载体的重量比是在从3:1(w/w)至2:1(w/w)的范围内；或者可选地RNA与阳离子或聚阳离子化合物和/或聚合物载体的氮/磷酸酯比(N/P比)是在约0.1-10的范围内、优选在0.3-4或0.3-1的范围内，且最优选在0.5-1或0.7-1的范围内，且甚至最优选在0.3-0.9或0.5-0.9的范围内。

[0075] 在另一个施方式中，RNA分子组合物可以包含至少一种与一种或多种阳离子或聚阳离子化合物复合的RNA分子(也称为复合RNA分子)和至少一种游离RNA分子。可选地，至少一种复合RNA分子的核酸序列与至少一种游离RNA分子的核酸序列相同。

[0076] 复合RNA分子与游离RNA分子的摩尔比选自从0.001:1至1:0.001的摩尔比，优选约1:1的比率。

[0077] 在优选的实施方式中，复合RNA分子与(游离)RNA分子的比率选自约5:1(w/w)至约1:10(w/w)的范围，更优选约4:1(w/w)至约1:8(w/w)的范围，甚至更优选从约3:1(w/w)至约

1:5(w/w)或1:3(w/w)的范围，且最优选地复合RNA分子与游离RNA分子的比率为1:1(w/w)的比率。

[0078] 在另一个优选的实施方式中，该至少一种复合RNA分子可以与一种或多种脂质复合，从而形成脂质体、脂质纳米颗粒和/或脂质体复合物。

[0079] 还提供了药物容器，其包含根据本发明的RNA组合物或根据本发明的药物组合物。可选地，药物容器是注射器、小瓶、输液瓶、安瓿瓶或卡普耳(carpoule)。

[0080] 还提供了用于作为药物使用的本发明RNA分子(组合物)或根据本发明的药物组合物。

[0081] 在优选的实施方式中，RNA分子组合物或药物组合物用于在独立地治疗或预防疾病(如果疾病是遗传性的、或获得性的及其组合)中使用，该疾病选自由以下各项所组成的组：基因疾病，敏感症，自身免疫性疾病，感染性疾病，赘生物，癌症和肿瘤相关疾病，炎性疾病，血液和造血器官疾病，内分泌、营养和代谢疾病，神经系统疾病，遗传疾病，循环系统疾病，呼吸系统疾病，消化系统疾病，皮肤和皮下组织疾病，肌肉骨骼系统和结缔组织疾病以及泌尿生殖系统疾病。

[0082] 此外，提供了RNA分子组合物或药物组合物作为免疫治疗剂、基因-治疗剂或作为疫苗的用途。

[0083] 定义

[0084] 提供以下定义以便清楚易读。可以在本发明的每个实施方式中阅读到为说明这些定义所提及的任何技术特征。可以在这些实施方式的上下文中具体地提供附加的定义和解释说明。除非另外定义，否则在本文中所使用的所有技术和科学术语通常与本发明所属领域的普通技术人员的常规理解具有相同的含义。通常，在本文中使用的命名法和在细胞培养、分子遗传学、有机化学和核酸化学及杂交中的实验室程序是本领域众所周知的且通常所使用的那些。核酸和肽合成采用标准技术。通常根据本领域的常规方法和各种一般性参照文献进行该技术和程序(例如，Sambrook等人，1989，Molecular Cloning:A Laboratory Manual，第2版，冷泉港实验室出版社，冷泉港，纽约)，该书中提供了这些技术和程序。

[0085] 酶：酶是具有催化活性的生物分子，其执行生物化学反应，如DNA依赖性RNA转录(例如，RNA聚合酶)或双链DNA消化(例如，限制性内切核酸酶)。酶通常由氨基酸和/或RNA(核酶，snRNA)组成。

[0086] 蛋白质：蛋白质通常包含一种或多种肽或多肽。蛋白质通常被折叠成三维形式，这可能是蛋白质发挥其生物功能所需要的。通常将蛋白质或肽的序列理解为其氨基酸的顺序，即其氨基酸的连续顺序。

[0087] 核酸：术语核酸是指任何DNA分子或RNA分子，并且其与多核苷酸同义使用。此外，通用术语“核酸”明确地包括如本文定义的核酸的修饰物或衍生物。例如，术语“核酸”还包括肽核酸(PNA)。

[0088] RNA，mRNA：RNA是核糖核酸的常用缩写。它是核酸分子，即由核苷酸单体组成的聚合物。这些核苷酸通常是沿着所谓的骨架相互连接的单磷酸腺苷单体、单磷酸尿苷单体、单磷酸鸟苷单体和单磷酸胞苷单体。由第一相邻单体的糖(即核糖)和第二相邻单体的磷酸酯部分之间的磷酸二酯键形成骨架。将单体的特定顺序(即与糖/磷酸酯骨架连接的碱基的顺序)称为RNA序列。通常可以通过DNA序列(例如，在细胞内)转录而能够获得RNA。在真核细胞

中，通常在细胞核或线粒体内进行转录。在体内，DNA的转录通常产生所谓的不成熟RNA，需要将其加工成所谓的信使RNA，通常缩写为mRNA。例如，在真核生物体中的未成熟RNA的加工包括多种不同的转录后修饰，如剪接、5'-加帽、聚腺苷酸化，从细胞核或线粒体输出等。这些过程的总和也被称为RNA的成熟化。成熟的信使RNA通常提供可被翻译成特定肽或蛋白质的氨基酸序列的核苷酸序列。通常，成熟的mRNA包括5'-帽、可选的5'UTR、开放阅读框、可选的3'UTR和聚(A)序列。除了信使RNA之外，还存在几种非编码型RNA，它们可以参与调节转录和/或翻译及免疫刺激。在本发明的上下文中，术语"RNA"或"RNA分子(种类)"进一步涵盖其它编码性RNA分子，如病毒RNA、逆转录病毒RNA和复制子RNA、小干扰RNA(siRNA)、反义RNA、CRISPR RNA、核酶、核酸适体、核糖开关、免疫刺激RNA、转运RNA(tRNA)、核糖体RNA(rRNA)、小核RNA(snRNA)、小核仁RNA(snoRNA)、微RNA(miRNA)和Piwi相互作用RNA(piRNA)。

[0089] 根据优选的实施方式，本发明方法的步骤a)包括选择RNA序列。所选择的RNA序列通常包括对应于通过本发明方法所产生的RNA分子的RNA序列。所选择的RNA序列可以是编码蛋白质序列或其片段或变体的编码性RNA，该蛋白质序列或其片段或变体优选地选自治疗活性蛋白质或肽，包括佐剂蛋白、肿瘤抗原、致病性抗原(例如，选自动物抗原、病毒抗原、原生动物抗原、细菌抗原)、过敏原抗原、自身免疫抗原、或其它抗原(来自过敏原、抗体、免疫刺激蛋白或肽、抗原-特定性T细胞受体、生物制品、细胞穿透肽、分泌蛋白质、质膜蛋白、细胞质或细胞骨架蛋白、胞内膜结合蛋白质、核蛋白、与人类疾病相关的蛋白、靶向部分或由人类基因组编码的那些蛋白质，尽管还没有确定治疗适应症，但仍然在研究发现领域具有实用性)。编码性RNA可以是，例如mRNA、病毒RNA或复制子RNA。

[0090] 可替换地，所选择的RNA序列可以是本文定义的任何其它RNA，特别是小干扰RNA(siRNA)、反义RNA、CRISPR RNA、核酶、核酸适体、核糖开关、免疫刺激RNA、转运RNA(tRNA)、核糖体RNA(rRNA)、小核RNA(snRNA)、小核仁RNA(snoRNA)、微RNA(miRNA)或Piwi相互作用RNA(piRNA)。

[0091] 如果经选择的靶RNA序列编码肽或蛋白质，则本领域技术人员可以通过采用公共的和保密的数据库(例如，基因库(GenBank))容易地确定编码性序列。

[0092] 在优选的实施方式中，通过本发明方法所产生的RNA分子包括天然存在的和/或经过修饰的核苷酸。多种修饰方法在本领域是已知的，可以将其应用于通过采用本发明方法所得的RNA所包含的核苷酸。在优选的实施方式中，本发明因而提供了用于提供经过修饰的RNA分子的方法，该经过修饰的RNA分子优选是如本文定义的，更优选为包含至少一种如本文所述的修饰的RNA分子。

[0093] 化学修饰：在本文中使用的术语"RNA修饰"可以指包括骨架修饰及糖修饰或碱基修饰的化学修饰。

[0094] 在该上下文中，如本文定义的经过修饰的RNA分子可以含有核苷酸相似物/修饰物，例如骨架修饰物、糖修饰物或碱基修饰物。与本发明有关的骨架修饰物是其中将如本文定义的RNA分子中所含有的核苷酸骨架的磷酸酯进行化学修饰的修饰物。与本发明相关的糖修饰物是如本文定义的RNA分子的核苷酸的糖的化学修饰物。此外，与本发明有关的碱基修饰物是RNA分子的核苷酸的碱基部分的化学修饰物。在该上下文中，核苷酸相似物或修饰物优选地选自可用于转录和/或翻译的核苷酸相似物。

[0095] 糖修饰：可以对如本文所述的可以掺入至经过修饰的RNA分子中的经过修饰的核

苷和核苷酸的糖部分进行修饰。例如，可以用大量不同的“含氧的”或“脱氧的”取代基修饰或取代2’羟基基团(OH)。“含氧的”-2’羟基基团修饰物的实例包括但不限于烷氧基或芳氧基(-OR，例如R＝H、烷基、环烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或糖)；聚乙二醇(PEG)、-O(CH_2CH_2O)$_n$$CH_2CH_2OR$；“锁定的”核酸(LNA)，其中将2’羟基连接至同一核糖的4’碳，例如通过亚甲基桥；和氨基(-O-氨基，其中氨基(例如NRR)可以是烷基氨基、二烷基氨基、杂环基、芳基氨基、二芳基氨基、杂芳基氨基或二杂芳基氨基、乙二胺、聚氨基)或氨基烷氧基。

[0096] “脱氧的”修饰物包括氢、氨基(例如，NH_2；烷基氨基、二烷基氨基、杂环基、芳基氨基、二芳基氨基、杂芳基氨基、二杂芳基氨基、或氨基酸)；或者可以通过连接基团将氨基连接到糖上，其中连接基团包含一个或多个C原子、N原子和O原子。

[0097] 糖基还可以含有一个或多个具有与核糖中的相应碳原子的立体化学构型相对的碳。因此，经过修饰的RNA分子可以包含含有例如作为糖的阿拉伯糖的核苷酸。

[0098] 骨架修饰：可以在经过修饰的核苷和核苷酸中进一步修饰磷酸骨架，可以将该经过修饰的核苷和核苷酸掺入至如本文所述的经过修饰的RNA分子中。可以通过用不同的取代基取代一个或多个氧原子而对骨架的磷酸酯基团进行修饰。此外，经过修饰的核苷和核苷酸可以包括用本文所述的经过修饰的磷酸酯完全取代未修饰的磷酸酯部分。经过修饰的磷酸酯基团的实例包括但不限于硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、硼磷酸酯(borano phosphate)、硼磷酸酯(borano phosphate ester)、氢膦酸酯、磷酰胺酯、膦酸烷基酯或膦酸芳基酯、和磷酸三酯。二硫代磷酸酯具有两个被硫取代的非连接性氧。也可以通过用氮(桥联的氨基磷酸酯)、硫(桥联的硫代磷酸酯)和碳(桥联的亚甲基磷酸酯)取代连接性氧来对磷酸酯连接基团进行修饰。

[0099] 碱基修饰物：可以对可能掺入至本文所述的经过修饰的RNA分子中的经过修饰的核苷和核苷酸的核碱基部分进行进一步修饰。在RNA中发现的核碱基的实例包括但不限于腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶。例如，可以在大沟表面上对本文所述的核苷和核苷酸进行化学修饰。在一些实施方式中，大沟化学修饰物可以包括氨基团、硫醇基团、烷基基团或卤素基团。

[0100] 在本发明的特别优选的实施方式中，核苷酸相似物/修饰物选自碱基修饰物，其优选地选自2-氨基-6-氯嘌呤核苷-5’-三磷酸、2-氨基嘌呤-核苷-5’-三磷酸；2-氨基腺苷-5’-三磷酸、2’-氨基-2’-脱氧-胞苷-三磷酸、2-硫胞苷-5’-三磷酸、2-硫尿苷-5’-三磷酸、2’-氟胸苷-5’-三磷酸、2’-O-甲基肌苷-5’-三磷酸、4-硫尿苷-5’-三磷酸、5-氨基烯丙基胞苷-5’-三磷酸、5-氨基烯丙基尿苷-5’-三磷酸、5-溴胞苷-5’-三磷酸、5-溴尿苷-5’-三磷酸、5-溴-2’-脱氧胞苷-5’-三磷酸、5-溴-2’-脱氧尿苷-5’-三磷酸、5-碘胞苷-5’-三磷酸、5-碘-2’-脱氧胞苷-5’-三磷酸、5-碘尿苷-5’-三磷酸、5-碘-2’-脱氧尿苷-5’-三磷酸、5-甲基胞苷-5’-三磷酸、5-甲基尿苷-5’-三磷酸、5-丙炔基-2’-脱氧胞苷-5’-三磷酸、5-丙炔基-2’-脱氧尿苷-5’-三磷酸、6-氮杂胞苷-5’-三磷酸、6-氮杂尿苷-5’-三磷酸、6-氯嘌呤核苷-5’-三磷酸、7-脱氮腺苷-5’-三磷酸、7-脱氮鸟苷-5’-三磷酸、8-氮杂腺苷-5’-三磷酸、8-叠氮基腺苷-5’-三磷酸、苯并咪唑-核苷-5’-三磷酸、N1-甲基腺苷-5’-三磷酸、N1-甲基鸟苷-5’-三磷酸、N6-甲基腺苷-5’-三磷酸、O6-甲基鸟苷-5’-三磷酸、假尿苷-5’-三磷酸、或嘌呤霉素-5’-三磷酸、黄嘌呤核苷-5’-三磷酸。碱基修饰物的特别优选的核苷酸选自经过碱基修饰的核苷酸的组，该经过碱基修饰的核苷酸由5-甲基胞苷-5’-三磷酸、7-脱氮鸟

苷-5'-三磷酸、5-溴胞苷-5'-三磷酸和假尿苷5'-三磷酸组成。

[0101] 在一些实施方式中，经过修饰的核苷包括吡啶-4-酮核糖核苷、5-氮杂-尿苷、2-硫代-5-氮杂-尿苷、2-硫尿苷、4-硫-假尿苷、2-硫-假尿苷、5-羟基尿苷、3-甲基尿苷、5-羧甲基尿苷、1-羧甲基-假尿苷、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酰甲基尿苷、1-牛磺酰甲基-假尿苷、5-牛磺酰甲基-2-硫-尿苷、1-牛磺酰甲基-4-硫-尿苷、5-甲基-尿苷、1-甲基-假尿苷、4-硫-1-甲基-假尿苷、2-硫-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-脱氮-假尿苷、2-硫-1-甲基-1-脱氮-假尿苷、二氢尿苷、二氢-假尿苷、2-硫-二氢尿苷、2-硫-二氢假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫-尿苷、4-甲氧基-假尿苷和4-甲氧基-2-硫-假尿苷。

[0102] 在一些实施方式中，经过修饰的核苷包括5-氮杂-胞苷、假异胞苷、3-甲基-胞苷、N4-乙酰胞苷、5-甲酰胞苷、N4-甲基胞苷、5-羟甲基胞苷、1-甲基-假异胞苷、吡咯并胞苷、吡咯并-假异胞苷、2-硫-胞苷、2-硫-5-甲基-胞苷、4-硫-假异胞苷、4-硫-1-甲基-假异胞苷、4-硫-1-甲基-1-脱氮-假异胞苷、1-甲基-1-脱氮-假异胞苷、4-脱氧尿苷(zebularine)、5-氮杂-4-脱氧尿苷、5-甲基-4-脱氧尿苷、5-氮杂-2-硫-4-脱氧尿苷、2-硫-4-脱氧尿苷、2-甲氧基-胞苷、2-甲氧基-5-甲基-胞苷、4-甲氧基-假异胞苷和4-甲氧基-1-甲基-假异胞苷。

[0103] 在其它实施方式中，经过修饰的核苷包括2-氨基嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、7-脱氮腺嘌呤、7-脱氮-8-氮杂-腺嘌呤、7-脱氮-2-氨基嘌呤、7-脱氮-8-氮杂-2-氨基嘌呤、7-脱氮-2,6-二氨基嘌呤、7-脱氮-8-氮杂-2,6-二氨基嘌呤、1-甲基腺苷、N6-甲基腺苷、N6-异戊烯基腺苷、N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、2-甲硫基-N6-(顺式-羟基异戊烯基)腺苷、N6-甘氨酰氨基甲酰腺苷、N6-苏氨酰氨基甲酰腺苷、2-甲硫基-N6-苏氨酰氨基甲酰腺苷、N6,N6-二甲基腺苷、7-甲基腺嘌呤、2-甲硫基-腺嘌呤、和2-甲氧基-腺嘌呤。

[0104] 在其它实施方式中，经过修饰的核苷包括肌苷、1-甲基-肌苷、怀俄苷、怀丁苷、7-脱氮-鸟苷、7-脱氮-8-氮杂-鸟苷、6-硫-鸟苷、6-硫-7-脱氮-鸟苷、6-硫-7-脱氮-8-氮杂-鸟苷、7-甲基-鸟苷、6-硫-7-甲基-鸟苷、7-甲基肌苷、6-甲氧基-鸟苷、1-甲基鸟苷、N2-甲基鸟苷、N2,N2-二甲基鸟苷、8-氧代-鸟苷、7-甲基-8-氧代-鸟苷、1-甲基-6-硫-鸟苷、N2-甲基-6-硫-鸟苷和N2,N2-二甲基-6-硫-鸟苷。

[0105] 在一些实施方式中，可以在大沟表面上对核苷酸进行修饰，并且可以包括用甲基基团或卤代基团取代尿嘧啶C-5上的氢。在具体的实施方式中，经过修饰的核苷是5'-O-(1-硫代磷酸酯)-腺苷、5'-O-(1-硫代磷酸酯)-胞苷、5'-O-(1-硫代磷酸酯)-鸟苷、5'-O-(1-硫代磷酸酯)-尿苷或5'-O-(1-硫代磷酸酯)-假尿苷。

[0106] 在进一步的具体实施方式中，经过修饰的RNA可以包括选自以下各项的核苷修饰物：6-氮杂-胞苷、2-硫-胞苷、α-硫-胞苷、假异胞苷、5-氨基烯丙基-尿苷、5-碘-尿苷、N1-甲基-假尿苷、5,6-二氢尿苷、α-硫尿苷、4-硫尿苷、6-氮杂-尿苷、5-羟基尿苷、脱氧胸苷、5-甲基-尿苷、吡咯并-胞苷、肌苷、α-硫-鸟苷、6-甲基-鸟苷、5-甲基-胞苷、8-氧代-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、N1-甲基-腺苷、2-氨基-6-氯-嘌呤、N6-甲基-2-氨基嘌呤、假异胞苷、6-氯-嘌呤、N6-甲基-腺苷、α-硫-腺苷、8-叠氮基-腺苷、7-脱氮-腺苷。

[0107] DNA：DNA是脱氧核糖核酸的常用缩写。它是核酸分子，即由核苷酸单体组成的聚合物。这些核苷酸通常是脱氧-腺苷-单磷酸酯单体、脱氧-胸苷-单磷酸酯单体、脱氧-鸟苷-单磷酸酯单体和脱氧-胞苷-单磷酸酯单体，其自身由糖部分(脱氧核糖)、碱基部分和磷酸部分组成，并通过特有的骨架结构进行聚合。骨架结构通常由第一相邻单体的核苷酸的糖部

分(即脱氧核糖)和第二相邻单体的磷酸酯部分之间的磷酸二酯键形成。将单体的特定顺序(即与糖/磷酸酯骨架连接的碱基的顺序)称为DNA序列。DNA可以是单链的或双链的。在双链形式中,第一链的核苷酸通常与第二链的核苷酸杂交,例如通过A/T碱基配对和G/C碱基配对。

[0108] RNA/DNA分子种类或DNA质粒种类的同一性:DNA质粒种类的同一性描述了从业者可能需要知道m种不同DNA分子种类或DNA质粒种类中的哪些存在于混合物中、被转化至特定细菌细胞克隆中或存在于特定细菌细胞(克隆)培养物中这方面。在一些实施方式中需要确保所有种类的成员均存在于培养物、克隆或混合物中。可以通过测序、用特异性限制性内切核酸酶消化以在琼脂糖凝胶上显示特有模式、PCR等来确定RNA或DNA种类的同一性。技术人员非常熟悉用于确定RNA或DNA分子/质粒种类同一性的其它方法。

[0109] 模板DNA:如在本文中使用的,术语"模板DNA"(或"DNA模板")通常涉及包含编码待体外转录的RNA序列的核酸序列的DNA分子。将模板DNA用作用于RNA体外转录的模板,以便产生由模板DNA编码的RNA。因此,模板DNA包含RNA体外转录所需要的所有元件,特别是编码靶RNA序列的DNA序列5'的启动子元件,该启动子元件用于结合DNA依赖性RNA聚合酶(例如,T3、T7和SP6RNA聚合酶)。此外,模板DNA可以包含编码靶RNA序列的DNA序列5'和/或3'的引物结合位点,以便例如通过PCR或DNA测序来确定编码靶RNA序列的DNA序列的同一性。如在本文中使用的,术语"模板DNA"还可以指包含编码RNA序列的核酸序列的DNA载体,如质粒DNA。此外,在本发明上下文中的"模板DNA"可以是线性或环状DNA分子。

[0110] 靶(RNA)序列:通常将如在本文中使用的"靶序列"理解为由模板DNA中所包含的核酸序列编码的RNA的序列。因而靶序列是通过RNA体外转录合成的序列,例如,蛋白编码序列或本文定义的另一种RNA(如isRNA、反义RNA等)。

[0111] 线性(模板)DNA质粒:通过在适当条件下使质粒DNA与限制性酶接触以使限制酶在其识别位点切割质粒DNA并破坏质粒结构而获得线性(模板)DNA质粒。因此,线性模板DNA包含彼此不连接的游离5'末端和游离3'末端。如果质粒DNA仅含有一个限制酶识别位点,那么线性模板DNA与质粒DNA具有相同数目的核苷酸。如果质粒DNA含有大于一个限制酶识别位点,那么线性模板DNA的核苷酸数目比质粒DNA少。线性模板DNA是质粒DNA的片段,其含有RNA体外转录需要的元件,即RNA转录的启动子元件和模板DNA元件。线性模板DNA的编码靶RNA序列的DNA序列通过碱基配对规则确定转录出的RNA的序列。

[0112] 核酸分子的序列/核酸序列:通常将核酸分子的序列理解为其核苷酸的特定和独特顺序,即连续顺序。

[0113] 氨基酸分子的序列/氨基酸序列:通常将蛋白质或肽的序列理解为其氨基酸的顺序,即连续顺序。

[0114] 序列同一性:如果两个或多个序列具有的核苷酸或氨基酸长度和顺序相同,那么这两个或多个序列相同。同一性百分比通常描述两个序列相同的程度,即它通常描述了在它们的序列位置相对应的核苷酸与参照序列相同核苷酸的百分比。为了确定同一性程度,认为待比较的序列具有相同的长度(即待比较序列的最长序列的长度)。这意味着由8个核苷酸/氨基酸组成的第一序列与由包含第一序列的10个核苷酸/氨基酸组成的第二序列具有80%的同一性。换句话说,在本发明的上下文中,序列的同一性优选地指在长度相同的两个或更多个序列中具有相同位置的序列的核苷酸/氨基酸的百分比。通常将间隙认为是非

相同位置，而不管它们在比对中的实际位置。

[0115] 开放阅读框：在本发明上下文中的开放阅读框(ORF)通常可以是能够被翻译成肽或蛋白质的几个核苷酸三联体的序列。开放阅读框优选含有起始密码子，即在其5'-末端和随后区域(通常表现出的长度为多个3个核苷酸)处通常编码氨基酸甲硫氨酸(ATG或AUG)的三个连续核苷酸的组合。ORF优选由终止密码子(例如，TAA、TAG、TGA)终止。通常，这是开放阅读框唯一的终止密码子。因此，在本发明上下文中的开放阅读框优选为由能够被三整除的多个核苷酸组成的核苷酸序列，该核苷酸序列由起始密码子(例如，ATG或AUG)开始，并且优选以终止密码子(例如，分别为TAA、TGA或TAG或UAA、UAG、UGA)终止。开放阅读框可以是分离的，或者可以将其整合至更长的核酸序列中，例如在载体或mRNA中。还可以将开放阅读框称为“蛋白编码区”或“编码区”。

[0116] 表位：(也被称为“抗原决定簇”)可以区分T细胞表位和B细胞表位。在本发明上下文中的T细胞表位或蛋白质部分可以包含优选长度为约6个至约20个或甚至更多个氨基酸的片段，例如由MHC I类分子加工和呈递的片段(优选长度为约8个至约10个氨基酸，例如8个、9个或10个(或甚至11个或12个氨基酸))，或由MHC II类分子加工和呈递的片段(优选长度为约13个或更多个氨基酸，例如13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个或甚至更多个氨基酸)，其中这些片段可以选自氨基酸序列的任何部分。这些片段通常以由肽片段和MHC分子组成的复合物的形式被T细胞识别，即片段的天然形式通常不被识别。B细胞表位通常是位于本文定义的(天然)蛋白质或肽抗原的外表面上的片段，优选具有5个至15个氨基酸，更优选具有5个至12个氨基酸，甚至更优选具有6个至9个氨基酸，其可以被抗体识别，即以其天然形式。

[0117] 此类蛋白质或肽的表位还可以选自这些蛋白质或肽的本文提及的任何变体。在该上下文中，抗原决定簇可以是构象式表位或不连续式表位，它们由本文所定义的蛋白质或肽的多个独立段(segment)(即在本文所定义的蛋白质或肽的氨基酸序列中是不连续的，但在三维结构中汇聚在一起)组成；或者抗原决定簇可以是连续式表位或线性表位，它们由单一多肽链组成。

[0118] 序列的片段：序列的片段(fragment)通常可以是例如核酸分子或氨基酸序列的全长序列的较短部分。因此，片段通常由与全长序列内相应的伸展段(stretch)相同的序列组成。在本发明的上下文中，序列的优选片段由实体的连续伸展段组成，如对应于片段所来源的分子中实体的连续伸展段的核苷酸或氨基酸，这表示该片段所来源的整体(即全长)分子的至少5%、10%、20%、优选至少30%、更优选至少40%、更优选至少50%、甚至更优选至少60%、甚至更优选至少70%、且最优选至少80%。优选地，蛋白质的片段包含蛋白质的至少一个表位。此外，核酸序列的片段优选编码蛋白质的至少一个表位。

[0119] 序列优化的反应混合物：用于在给定序列的RNA分子的体外转录反应中使用的反应混合物包含四种核苷三磷酸(NTP)(GTP、ATP、CTP和UTP)，其中在序列优化的反应混合物中的四种核苷三磷酸(NTP)的每一种的分数(2)对应于所述RNA分子、缓冲液、DNA模板和RNA聚合酶中的相应核苷酸的分数(1)。如果所述RNA分子中不存在核糖核苷酸，那么序列优化的反应混合物中也不存在相应的核苷三磷酸。

[0120] 序列优化的核苷三磷酸(NTP)混合物：用于在给定序列的RNA分子的体外转录反应中使用的核苷三磷酸(NTP)混合物包含四种核苷三磷酸(NTP)(GTP、ATP、CTP和UTP)，其中在

序列优化的核苷三磷酸(NTP)混合物中的四种核苷三磷酸(NTP)的每一种的分数(2)对应于所述RNA分子中的相应核苷酸的分数(1)。如果RNA分子中不存在核糖核苷酸，那么序列优化的核苷三磷酸(NTP)混合物中也不存在相应的核苷三磷酸。

[0121] RNA产量："RNA产量"是在RNA体外转录反应中所得的RNA产物的量。RNA产量可以表示为RNA浓度(g/ml或mol/l)。RNA浓度与反应体积的乘积给出RNA的绝对量(以克或摩尔计)。

[0122] 质粒：术语"质粒"或"载体"是指核酸分子，优选人工核酸分子。在本发明上下文中的质粒适合用于掺入或携带期望的核酸序列，如包含开放阅读框的核酸序列。因此，质粒可包含对应于例如所需mRNA序列或其部分的序列，如对应于mRNA的开放阅读框和3'-UTR的序列。转录质粒可用于产生表达产物，如RNA(例如mRNA)，或肽、多肽或蛋白质。例如，转录质粒可以包含转录载体的序列伸展段所需的序列，如启动子序列，例如RNA聚合酶启动子序列。在本发明上下文中的质粒通常是在本发明方法的体外转录步骤中充当模板的DNA质粒。优选地，本申请意义上的质粒包含克隆位点、选择标志物(如抗生素抗性因子)和适合于质粒增殖的序列(如复制起点)。

[0123] 体外转录出的RNA："体外转录出的RNA"是由模板DNA(通常为线性化的纯化质粒(模板)DNA、PCR产物或寡核苷酸)合成的RNA分子。RNA合成发生在由DNA依赖性RNA聚合酶催化的无细胞("体外")测定中。在称为RNA体外转录的过程中，实际上所有核苷酸都相似于RNA。DNA依赖性RNA聚合酶的具体实例是T7、T3和SP6RNA聚合酶。体外转录出的RNA可以包含如5'-帽、可选的5'UTR、开放阅读框、可选的3'UTR和多聚(A)序列等元件。除了蛋白质信使RNA之外，存在几种可能参与调节转录和/或翻译的非编码类型的RNA。也可以通过RNA体外转录来合成如本文定义的此类所有RNA分子。

[0124] RNA体外转录：术语"RNA体外转录"(或"体外转录")是指其中在无细胞系统(体外)中合成RNA(特别是mRNA)的过程。优选地，将克隆载体DNA(特别是质粒DNA载体)作为模板用于产生RNA转录物。通常将这些克隆载体称为转录载体。可以通过适当的DNA模板(根据本发明优选为线性化的质粒DNA模板)的DNA依赖性体外转录获得RNA。用于控制RNA体外转录的启动子可以是用于任何DNA依赖性RNA聚合酶的任何启动子。DNA依赖性RNA聚合酶的具体实例是T7、T3和SP6RNA聚合酶。可以通过克隆核酸(特别是对应于待体外转录的相应RNA的cDNA)，并将其导入用于RNA体外转录的合适载体(例如质粒环形质粒DNA)中获得用于RNA体外RNA转录的DNA模板。可以通过反转录mRNA或化学合成来获得cDNA。而且，也可以通过基因合成来获得用于体外RNA合成的DNA模板。优选将克隆载体用于RNA体外RNA转录，其通常被称为转录载体。

[0125] 转化：在本发明的上下文下，转化包括DNA(非病毒性)转移，最常见的是将质粒DNA转化为感受态细菌。常见的转化技术包括化学感受态细菌(最常见为大肠埃希杆菌)的热休克转化和电感受态细菌的电休克转化(通常被称为电穿孔)。之后，在含有抗生素的合适培养基(例如，LB培养基)中选择性培养经过转化的细菌。由质粒编码的抗性基因转移对抗生素的抗性。转化后，通常将经过转化的细胞施用到包含相应抗生素的琼脂平板上来将单个细菌细胞克隆分离出来，然后进行细菌的大规模生长。在细胞生长后(通常是过夜)，可以将细菌的单菌落用于接种更大量的含有相应抗生素的合适培养基，用于进一步测试。

[0126] 聚合酶链式反应(PCR)：聚合酶链式反应(PCR)是用于将DNA扩增几个数目级的分

子生物学技术，产生数千至数百万个拷贝的特定DNA序列。PCR由Kary Mullis于1983年开发(Bartlett,J.M.S.;Stirling,D.(2003)."A Short History of the Polymerase Chain Reaction".PCR Protocols.Methods in Molecular Biology 226(第二版).第3至6页)，目前是在医疗和生物研究实验室中使用的用于各种应用的常用且通常不可或缺的技术。该方法依赖于热循环，该循环由用于DNA熔融和DNA酶促复制的反应的重复加热和冷却循环组成。含有与靶序列互补的序列的引物(短DNA片段)以及热稳定DNA聚合酶(如Taq聚合酶)能够实现选择性反复扩增。随着PCR进行，所产生的DNA本身也被用作复制的模板，使得运转中的链式反应的DNA模板按指数扩增。DNA聚合酶通过采用单链DNA作为模板以及DNA合成起始所需要的DNA寡核苷酸(也称为DNA引物)，从DNA构建块(即核苷酸酶)以酶促的方式组装新的DNA链。绝大多数PCR方法使用热循环，即通过限定的一系列温度步骤交替性地加热和冷却PCR样品。在第一步骤中，DNA双螺旋的两条链在称为DNA熔融的过程中在高温下被以物理的方式分离开。在第二步骤中，降低温度，两条DNA链成为DNA聚合酶的模板以选择性扩增靶DNA。PCR的选择性由在特定热循环条件下使用与靶向扩增的DNA区域互补的引物所引起。

[0127] 定量聚合酶链式反应(qPCR)或实时聚合酶链式反应：实时聚合酶链式反应是基于聚合酶链式反应(PCR)的分子生物学实验室技术，其用于扩增并同时检测或定量靶向DNA分子。该程序遵循聚合酶链式反应(PCR)的一般性原则；其关键特征是随着反应“实时”进行，检测扩增出的DNA。用于在定量PCR中检测产物的两种常用方法是：(1)插入任何双链DNA的非特异性荧光染料，和(2)由用荧光报道分子标记的寡核苷酸组成的序列特异性DNA探针，其只有在探针与其互补序列杂交之后才允许进行检测，以定量核酸。在热循环仪中进行定量PCR，该热循环仪能够用特定波长的光束照射每个样品，并检测由经过激发的荧光团发出的荧光。热循环仪还能够快速加热且冷冻样品，从而利用核酸和DNA聚合酶的物理化学性质的优势。PCR过程通常由一系列温度变化组成，重复25-40次。这些循环通常由三个阶段组成：第一阶段，约95℃，允许核酸双链分离；第二阶段，在约50-60℃的温度下，允许引物与DNA模板结合；第三阶段，在68-72℃之间，有利于由DNA聚合酶进行的聚合。由于片段尺寸较小，在这种类型的PCR中通常将最后一步省略，由于在比对阶段和变性阶段之间的变化期间酶能够增加它们的数目。另外，一些热循环仪增加了其它短暂的温度阶段，每个循环仅持续几秒钟，温度例如为80℃，以便减少在使用非特异性染料时由引物二聚体的存在所引起的噪音。每个循环采用的温度和时间取决于多种参数，如：用于合成DNA的酶，反应中二价离子和脱氧核糖核苷酸(dNTP)的浓度、及引物的结合温度。采用的定量PCR技术的类型取决于样品中的DNA序列，该技术可以采用非特异性荧光染料或杂交探针。

[0128] HPLC：高效液相色谱法(HPLC；以前称为高压液相色谱法)是在分析化学方面的用于分离混合物中的组分、鉴定每种组分并量化每种组分的技术。它依靠泵而将含有样品混合物的加压液体溶剂流经填充有固体吸附材料的柱子。样品中的每种组分与吸附材料的相互作用略有不同，导致不同组分的流速不同，并导致组分流出柱时被分离开。HPLC由于操作压力显著更高(50-350巴)而与传统(“低压”)液相色谱不同，而普通液相色谱法通常依靠重力使流动相流经柱子。由于分析型HPLC中分离的样品量较少，典型的柱尺寸为直径2.1-4.6毫米，长度为30-250毫米。同时HPLC柱由较小的吸附剂颗粒(平均颗粒尺寸为2-50微米)制成。这使得HPLC在分离混合物时具有卓越的分辨能力，所以它成为了流行的色谱技术。HPLC仪器的示意图通常包括采样器、泵和检测器。采样器将样品混合物带入流动相流中，该流动

相流将样品混合物输送到柱中。泵将流动相的所需流量和组成输送流经柱。检测器产生与从柱中流出的样品组分的量成比例的信号，因此允许对样品组分进行定量分析。数字微处理器和用户软件控制HPLC仪器并提供数据分析。HPLC仪器中的一些型号的机械泵可以将多种溶剂按随时间变化的比率混合在一起，从而产生流动相的组成梯度。各种检测器是常用的，例如UV/Vis，光电二极管阵列(PDA)或基于质谱法。大多数HPLC仪器也有允许调节进行分离时的温度的柱温箱。

[0129] DNA测序：DNA测序是确定DNA分子内核苷酸的精确顺序的过程。它包括用于确定DNA链中的四种碱基(腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和胸腺嘧啶)的顺序的任何方法或技术。它包括Maxam-Gilbert测序、Sanger测序(链终止测序)、下一代测序、循环测序、毛细管电泳DNA测序、单分子实时测序、Ion Torrent测序、焦磷酸测序、合成测序、连接测序。

[0130] RNA测序：为了对RNA测序，通常的方法是首先将样品反转录以产生cDNA片段。然后可以按照如上所述的DNA测序对cDNA片段进行测序。

[0131] RNA聚合酶/DNA依赖性RNA聚合酶：RNA聚合酶(RNAP或RNApol，也称为DNA依赖性RNA聚合酶)是产生初级转录物RNA的酶。在细胞中，RNAP对于采用DNA基因作为模板而构建RNA链(该过程称为转录)是需要的。RNA聚合酶对生命至关重要，可以存在于所有生物体和许多病毒中。在化学方面，RNAP是在RNA转录物的3'末端聚合核糖核苷酸的核苷酸转移酶。在本发明的上下文中特别优选的是T3、T7和Sp6RNA聚合酶。

[0132] 纯化：如在本文中使用的，术语“纯化(purification)”或“纯化(purifying)”应被理解为是指将样品中的所需RNA或DNA与其中存在的杂质、中间体、副产物和/或反应组分分离开和/或分离出来，或者使杂质、中间体、副产物和/或反应组分至少从包含RNA或DNA的样品中耗尽。因此含RNA或DNA样品中需要被耗尽的不需要的成分的非限制性实例可以包括降解的片段或由于转录提前终止而出现的片段，或者如果质粒没有被完全线性化还包括过长的转录物。此外，可以从样品中耗尽中间产物，如模板DNA。另外，可能RNA/DNA样品需要耗尽反应组分(如酶、蛋白质、细菌DNA和RNA)、小分子(如亚精胺)、缓冲液组分等。另外，可以将如有机溶剂和核苷酸或其它小分子的杂质分离开。理想地，RNA在纯化后比起始材料具有更高的纯度和/或完整性。可以通过技术人员通常已知的方法确定纯度，例如通过气相色谱法、定量PCR、分析型HPLC或凝胶电泳。

[0133] 切向流过滤(TFF)或错流过滤：错流过滤(也称为切向流过滤)是一种类型的过滤。错流过滤与其中进料流经膜或床而固体被截留在过滤器中且在另一端释放滤液的死端过滤不同。错流过滤的名称是取自大部分进料流在过滤器表面切向流动，而不是进入过滤器中。这种方式的主要优点是在过滤过程中滤饼(其可以堵塞过滤器)基本上被冲走，增加了过滤单元可操作的时间长度。它与分批式死端过滤不同，可以是连续的过程。通常选择这种类型的过滤以用于含有高比率小颗粒尺寸的固体(其中渗透物具有最大价值)的进料，由于凭死端过滤固体材料可以快速阻塞(堵塞)过滤器表面。施用的压力导致一部分流体流穿膜(滤液/渗透物)，而其余部分(渗余物)再循环回到进料池。可以从文献中查询TFF的一般工作原理，参见Fernandez等人.(A BIOTECHNOLOGICA，Bd.12，1992，柏林，第49-56页)或Rathore，AS等人(Prep Biochem Biotechnol.2011;41(4):398-421)。TFF的主要应用是浓缩、渗滤(脱盐和缓冲液/溶剂交换)以及从小生物分子中分馏大分子。可以将具有不同截留分子量(MWCO)的膜用于TFF。在本发明的上下文中，优选将超滤膜用于TFF。TFF通常采用两

种基本的过滤器配置。在筒式过滤器(通常称为中空纤维过滤器)中,膜形成一组平行的中空纤维。进料物流流经纤维管腔,并且从纤维外部收集渗透物。根据纤维长度、管腔直径和纤维数目以及过滤器孔径来表征滤筒。在盒式过滤器中,几个平坦的薄膜片彼此隔开放置并且通过支撑屏与盒壳体分隔开。进料流进入两个膜片之间的空间,并从膜片的另一侧收集渗透物。以流程长度和通道高度以及膜孔径来表征盒。由支撑屏的厚度决定通道高度。由从机械强度、化学物理兼容性及低含量的可萃取和/或有毒化合物方面选择的材料构成筒式过滤器和盒式过滤器。

[0134] 超滤:超滤是采用膜的过滤方法,其中如压力或浓度梯度的力导致通过半透膜而进行分离。悬浮固体和高分子量溶质保留在所谓的渗余物中,而水和低分子量溶质流过膜到渗透物中。将该分离过程在工业和研究中用于纯化和浓缩大分子(10^3-10^6 Da)溶液。超滤与微滤本质上没有差异。这两者都是基于尺寸排阻或颗粒捕获而进行分离的。通过2至100nm之间的膜的分子量截留(MWCO)(其对应于1至1000kDa之间的MWCO)来限定超滤膜。以错流模式或死端模式进行超滤。

[0135] 浓缩:浓缩是包括从溶液中除去流体,同时保留溶质分子的简单过程。溶质浓度随溶液体积减少成正比增加,即体积减半使浓度有效地增加一倍。

[0136] m种不同DNA分子种类的混合物:术语"m种不同DNA分子种类的混合物"表示包含可能在它们的DNA序列和/或它们的序列长度方面不同的m种DNA分子的组合物。混合物中的相同DNA分子属于相同的DNA分子种类。不同种类的DNA分子在其DNA序列和/或其序列长度方面不同。因此,"种类"表示一组它们的DNA序列和/或它们的序列长度没有差异的相同DNA分子。m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA中的一种或多种。在混合物中,可以存在相同量、相似量或不同量的各种种类,优选地量是相同的或相似的。整数m表示存在于混合物中的不同DNA分子种类的数目,并且可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21等等。理论上,m没有上限。然而,m通常是在1至100的范围内,优选在3至50的范围内,更优选在5至25的范围内。最优选的是,m为至少2、3、4、5、6、7、8、9、10等等。通常,m与n相同、相似或低于n。在优选的实施方式中,m与n相同。

[0137] n种不同RNA分子种类:术语"n种不同RNA分子种类"表示可能在它们的RNA序列和/或它们的序列长度方面不同的n种RNA分子的数目。因此,"种类"表示一组它们的RNA序列和/或它们的序列长度没有差异的相同RNA分子。优选地,n种不同RNA分子种类中的每一种编码一种靶肽/蛋白质。在本发明的RNA分子组合物中,可以存在相同量、相似量或不同量的每种种类,优选地量是相同或相似的。整数n表示存在于组合物中的不同RNA分子种类的数目,并且可以是2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21等等。理论上,n没有上限。然而,n通常是在2至100的范围内,优选在3至50的范围内,更优选在5至25的范围内。优选地,n与m相同。

[0138] 相似:在决定因素不需要相同(即100%一样)时,使用术语"相似"。对于相似,参数与第二确定的参数的差异不应大于20%、优选不大于15%、更优选不大于10%、不大于5%、甚至更优选不大于2%、且最优选不大于1%。对于生长动力学的至少一个参数(如细胞培养物的光密度(OD_{600})),"相似"表示两种或更多种被比较的细菌细胞克隆培养物的参数彼此相差不大于20%、优选地不大于15%、更优选不大于10%、不大于5%、甚至更优选不大于2%、最优选不大于1%。对于质粒DNA量的至少一个参数(如以μg DNA/ml细胞培养物计),

“相似”表示被比较的量的差异彼此不应大于20%、优选不大于15%、更优选不大于20%、大于10%、不大于5%、甚至更优选不大于2%、且最优选不大于1%。根据本发明的生产方法通常可以产生100-600μg DNA/mL细菌细胞培养基。对于m种不同DNA质粒种类中每一种的量，“相似”表示所述量与第二确定的参数(来自针对m种不同DNA质粒种类混合物中的一种所确定的最高量)的差异不应大于20%、优选不大于15%、更优选不大于10%、不大于5%、甚至更优选不大于2%、且最优选不大于1%。

[0139] 细菌扩增：“细菌扩增”表示也在本发明方法中描述的方法，其中将作为质粒DNA的DNA转化到细菌细胞中并且细菌细胞生长直至达到稳定期。随后收获细菌细胞，并采用市售可得的标准纯化试剂盒从收获的细菌细胞中纯化出质粒DNA。

[0140] 酶扩增：可以通过例如滚环扩增来完成在RNA体外转录方法中用作模板的DNA分子种类的酶扩增，如Gusev等人(Am J Pathol.2001;159(1):63-9)和Monsur Ali等人(Chem.Soc.Rev.,2014,43,3324)所描述的。

[0141] 药学上可接受的辅料：术语“药学上可接受的辅料”包括在与RNA分子种类组合时保留RNA分子活性并且不与受试者的免疫系统反应的任何材料。实例包括但不限于任何的标准药物辅料，如缓冲液系统，如磷酸盐缓冲盐溶液、表面活性剂、水、乳剂(如油/水乳剂)、和各种类型的润湿剂、淀粉、牛奶、糖、某些类型的粘土、明胶、硬脂酸或其盐、硬脂酸镁或硬脂酸钙、滑石、植物脂肪或油、树胶、乙二醇或其它已知的辅料。

[0142] 基因治疗：通常可以将基因治疗理解为是指通过编码肽或蛋白质的核酸对患者身体或从患者身体分离的成分(例如分离的组织/细胞)进行治疗。它通常可以包括以下步骤中的至少一种：a)无论通过哪种施用途径将核酸(优选本文定义的人工核酸分子)直接施用于患者，或体外施用至从患者分离的细胞/组织，其导致以体内/离体或体外的方式转染患者细胞；b)转录和/或翻译导入的核酸分子；以及可选的c)如果还未将核酸直接地施用至患者，则将经过转染的分离细胞重新施用至患者。

[0143] (基因性)疫苗接种：通常可以将“基因性疫苗接种”或“疫苗接种”理解为通过施用编码抗原或免疫原或其片段的核酸分子进行接种疫苗。可以将核酸分子施用于受试者的身体或从受试者分离的细胞。在转染身体的某些细胞后或在转染分离的细胞后，可以由这些细胞表达抗原或免疫原，并随后将抗原或免疫原呈递给免疫系统，引发适应性免疫应答，即抗原特异性免疫应答。因此，基因性接种疫苗通常包括以下步骤中的至少一种：a)将核酸(优选如本文定义的人工核酸分子)施用于受试者(优选患者)或从受试者(优选患者)分离的细胞，其通常导致以体内或体外方式转染受试者细胞；b)转录和/或翻译被导入的核酸分子；以及可选地c)如果还未将核酸直接地施用至患者，则将经过转染的分离细胞重新施用至受试者(优选患者)。

[0144] 免疫疗法：术语“免疫疗法”应根据医学和治疗领域的技术人员的常规理解来进行理解。在该上下文中，还使用术语“生物性疗法(biologic therapy)”或“生物疗法(biotherapy)”。它是通过诱导、增强或抑制患者体内的免疫应答来治疗疾病的方法，并特别包括癌症免疫疗法。免疫疗法也被应用于许多其它的疾病领域，包括过敏症、类风湿性疾病、自身免疫和移植，以及多种感染(如HIV/AIDS和肝炎)。

[0145] 蛋白质替代疗法：术语“蛋白质替代疗法”应根据医学和治疗领域的技术人员的常规理解来进行理解，并且在其最广义上表示将在患者中不存在的或不能以所需量获得的蛋

白质提供给患者或进行“替代”。通常，这种方法是通过向患者施用含有酶的静脉内输液来完成的。例如，酶替代疗法可用于溶酶体疾病，如戈谢病(Gaucher disease)、法布里病(Fabry disease)、MPS I、MPS II(亨特综合征(Hunter syndrome))、MPS VI和糖原贮积症II型。酶替代疗法不影响潜在的基因缺陷，但增加了缺陷酶的浓度。

[0146] 药学有效量：通常将在本发明上下文中的药学有效量理解为足以诱导药物作用(如免疫应答)以改变被表达肽或蛋白质的病理水平或替换所缺乏的基因产物(例如在病理情况下)的量。

具体实施方式

[0147] 为了解决本领域中的上述问题，本发明提供了用于生产包含n种不同RNA分子种类的核糖核酸(RNA)分子组合物的方法，该方法包括以下步骤：

[0148] a)在单一反应容器中平行地(即同时地)进行m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类混合物的RNA体外转录，其中m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种，从而产生n种不同RNA分子种类，和

[0149] b)获得包含步骤a)中产生的n种不同RNA分子种类的RNA分子组合物，其中n是至少为2的整数，并且其中m是至少为1的整数。

[0150] 在特别优选的实施方式中，n种不同RNA分子种类中的每一种编码不同的肽或蛋白质，优选如下文提及的抗原。在非常优选的实施方式中，RNA分子种类是mRNA分子种类。

[0151] 步骤a)是在同一反应容器中平行地(即同时地)进行的。反应容器可以是技术人员已知的用于体外转录的任何合适的反应容器。平行意味着所有m种不同DNA分子种类一起存在于反应容器中并且平行地(即同时地)进行转录。因此，平行地(即同时地)生产n种不同RNA分子种类，并且取决于相应的m种不同DNA分子种类的量。优选地，在完成RNA体外转录反应之后，n种不同RNA分子种类彼此的比率与m种不同DNA分子种类之间的比率相同。

[0152] 在优选的实施方式中，在RNA体外转录步骤a)之前，实施由细菌扩增(步骤c1)、和/或聚合酶链式反应(PCR)(步骤c2)、和/或化学DNA合成(步骤c3)和/或采用酶扩增(例如，通过滚环扩增)(步骤c4)产生m种不同DNA分子种类的混合物的步骤。

[0153] 如果通过PCR产生m种不同DNA分子种类的混合物(步骤c2)，则可以将cDNA(与靶RNA分子种类序列互补)或任何包含cDNA的DNA(例如，包含cDNA的质粒载体)用作为模板。在该上下文中，用于PCR的5'-引物优选地包含DNA依赖性RNA聚合酶启动子的序列，以产生至少包含DNA依赖性RNA聚合酶启动子和编码靶RNA序列的DNA序列的PCR产物。然后可以将该合成的或扩增的PCR产物作为m种不同DNA分子种类的混合物，用作RNA体外转录的模板。作为质量度量，可以确定各个经过PCR扩增的模板的转录效率。对于所有不同DNA分子种类，各自之间的比率可以是1:1，然而，不同DNA分子种类之间的比率也可以不同，取决于由各自RNA分子种类编码的每种靶肽/蛋白质的期望量。

[0154] 特别地，可以通过芯片PCR(on-chip PCR)或采用dbDNA模板以及随后的RNA体外转录产生m种不同DNA分子种类的混合物(也称为“模板混合物”)。

[0155] 对于芯片PCR，将编码一种或多种n种不同RNA分子种类的m种不同DNA分子种类固定在DNA芯片(例如，可获得自TWIST bioscience，旧金山，加利福尼亚州，美国)上。可以通过物理吸附、共价结合和链霉亲和素-生物素相互作用来固定m种不同DNA分子种类。例如，

在实施例10中描述了制备性PCR。可选地纯化所得的PCR产物(例如，PureMessenger®；WO2008077592)，并用于RNA体外转录，以产生n种不同RNA分子种类。

[0156] 可替换地，可以通过用于扩增DNA模板并将经过扩增的DNA分子转化成闭合的线性“doggybone”DNA(dbDNA)的体外无细胞过程来产生用于随后RNA体外转录的m种不同DNA分子种类的混合物(Touchlight Genetics，伦敦，英国)。按照WO2010/086626的描述滚环扩增DNA模板并产生dbDNA。然后通常采用合适的限制性内切酶(例如，EcoRI)将所得的dbDNA模板单独线性化，纯化并混合，以产生线性化的m种不同DNA分子种类，作为模板混合物(例如，混合-4、混合-5；例如，参见表2)。将线性化的模板混合物用于RNA体外转录(基本上按照实施例9进行)。

[0157] 随后，可以对RNA分子进行定量测量和定性测量(例如，RNA AGE、RT-qPCR、NGS和光谱测定)。随后可以进行纯化步骤，并且可选地进行配制步骤(例如，鱼精蛋白复合、LNP封装)。

[0158] 可替换地，可以以化学方式合成m种不同DNA分子种类的混合物(即，不进行酶扩增，步骤c3)。在这类实施方式中，在开始RNA体外转录之前，将不同的所合成的DNA模板以各自比率混合在一起。作为质量度量，可以确定各个模板的转录效率。该实施方式特别优选地用于小规模RNA生产，例如在个人化RNA混合物的情况下。对于所有不同DNA分子种类，各自之间的比率可以是1:1，然而，不同DNA分子种类之间的比率也可以不同，取决于由各自RNA分子种类编码的每种靶肽/蛋白质的期望量。

[0159] 可替换地，可以通过滚环扩增产生m种不同DNA分子种类的混合物(步骤c4)。可以将包含cDNA的合适质粒DNA(例如，含有cDNA的质粒载体)用于滚环扩增，如Gusev等人(Am J Pathol.2001;159(1):63-9)和Monsur Ali等人(Chem.Soc.Rev.，2014，43，3324)所描述的。作为质量度量，可以确定各个模板的转录效率。对于所有不同DNA分子种类，各自之间的比率可以是1:1，然而，不同DNA分子种类之间的比率也可以不同，取决于由各自RNA分子种类编码的每种靶肽/蛋白质的期望量。

[0160] 优选地，按照步骤c1)由细菌扩增产生m种不同DNA分子种类的混合物。为此，用m种不同DNA质粒种类混合物中的至少一种单一DNA质粒种类转化细菌细胞培养物，其中每种DNA质粒种类编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种(步骤d)。在该上下文中，步骤a)中的DNA分子种类是DNA质粒种类。DNA分子种类以及DNA质粒种类都编码各自的RNA分子种类。然而，与DNA分子种类相反，通过技术人员已知的及以上所定义的质粒DNA的典型特征进一步将DNA质粒种类进行表征。优选地，以各自的转化步骤转化所有m种不同DNA质粒种类，即本发明方法的步骤c1)，进一步的用m种不同DNA质粒种类的单一DNA质粒种类转化m种单一细菌细胞培养物中的每一种的步骤d1)，其中单一DNA质粒种类编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种。

[0161] 在一个实施方式中，以单一转化步骤将所有m种不同DNA质粒种类一起转化，即本发明方法的步骤c1)，进一步的用m种不同DNA质粒种类的混合物转化单一细菌细胞培养物的步骤d2)，其中每种DNA质粒种类编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种。

[0162] 该方法进一步可选地包括以下步骤：e)为m种不同DNA质粒种类混合物的每种DNA质粒种类分离出至少一种单一细菌细胞克隆，和在单独的细菌细胞克隆培养物中培养步骤e)中分离出的至少一种单一细菌细胞克隆中的每一种。因此，将可以包含或不包含不同DNA

质粒的细菌细胞克隆分离开。

[0163] 优选根据宿主生物体来选择用于合成模板DNA质粒种类的质粒DNA载体。为了生产/复制/扩增质粒DNA,采用了细菌(特别是大肠埃希菌(E.coli))。许多市售可得的质粒可用于此类用途,包括pDP(Ambion)、pGEM(Promega)、pBluescript(Stratagene)、pCRII(Invitrogen)、pUC57、pJ204(来自DNA 2.0)和pJ344(来自DNA 2.0)、pUC18、pBR322和pUC19。

[0164] 通常,将编码或对应于目标RNA序列(靶RNA序列)的cDNA被插入至通常含有许多特征(可能的特征如以下列出)的质粒中。这些特征包括使细菌细胞对特定抗生素(通常为卡那霉素或氨苄青霉素)具有抗性的基因、允许细菌细胞复制质粒DNA的复制起点和多克隆位点(MCS或多接头)。多克隆位点是含有多个常用限制性位点(允许易于在该位置插入DNA片段)的短区域,如编码n种不同RNA分子种类中的至少一种的DNA序列。

[0165] 尽管可采用大量宿主生物体和分子克隆载体,但是绝大多数分子克隆实验都是以细菌大肠杆菌的实验室菌株和质粒克隆载体开始的。由于大肠杆菌和质粒载体是技术上复杂的、具有多用途、广泛可用并且以最少设备而提供重组生物体的快速生长,因此大肠杆菌和质粒载体是普遍使用的。

[0166] 针对大肠杆菌的特别有用的克隆载体是基于pUC19或pBR322的载体(J.Vieira.Gene.第19卷,第3期,1982年10月,第259-268页,ISSN 0378-1119.PMID 6295879;Sue Lin-Chao等人,Molecular Microbiology.6,Nr.22,1992年11月,ISSN 0950-382X,S.3385-3393,doi:10.1111/j.1365-2958.1992.tb02206.x,PMID 1283002,.C.Helmer-Citterich等人(1988),The EMBO journal 7(2),557-66;C.Yanisch-Perron等人(1985),Gene.第33卷,第103-119页,PMID 2985470;F.Bolivar等人,Gene.2,95-113(1977);L.Covarrubias等人,Gene.13,25-35(1981))。

[0167] 对于用作RNA体外转录反应的模板,DNA质粒通常携带DNA依赖性RNA聚合酶的结合位点,优选T3、T7或SP6聚合酶(T3-、T7-或SP6启动子)的结合位点。

[0168] 为了增强转录、翻译和/或稳定性,质粒可以可选地包含其它元件:

[0169] 5'-UTR(根据WO2013/143700和WO2013/143699,特别优选TOP-UTR);

[0170] Kozak序列或其它翻译起始元件(CCR(A/G)CCAUGG,其中R是起始密码子(AUG)(其后面跟着另一个'G')上游第三个碱基处的嘌呤(腺嘌呤或鸟嘌呤)。还已知'UTR形成二级结构,其参与延伸因子结合);

[0171] 3'-UTR(特别优选来自稳定RNA的UTR,特别是来自白蛋白基因、α-球蛋白基因、β-球蛋白基因、酪氨酸羟化酶基因、脂氧合酶基因和胶原蛋白α基因的UTR(根据WO 2013/143700);聚(A)序列;聚(C)序列;和/或茎环序列,例如组蛋白茎环序列(根据WO2012/019780)。

[0172] 特别优选的是基于DNA质粒pUC19的质粒。不同的变体(pCV19、pCV26、pCV32和pCV22min)在限制性位点和5'-和/或3'-UTR方面不同。如PCT/EP2015/000959中的图3所示,载体优选是基于pCV26的。

[0173] 使用本领域技术人员熟知的分子技术领域的标准方法并且例如PCT/EP2015/000959中所描述的,将编码n种不同RNA分子种类中的至少一种的所需DNA序列导入至质粒骨架中。

[0174] 用于转化DNA质粒分子的不同方法是本领域技术人员熟知的，包括将电感受态细胞电穿孔、或对化学感受态细胞进行热休克转化。本文优选的是采用包括例如DH5α、DH10B、Mach1、OmniMax 2、Stbl2、Top 10或Top 10F的菌株通过热休克来转化化学感受态细胞。

[0175] 例如，将1-10ng(优选4-5ng)的纯化质粒与50μl的化学感受态细胞(例如，$CaCl_2$-感受态细胞，优选DH5α)混合。将混合物在0-5℃下孵育至少30分钟。随后，将混合物在42℃下孵育20秒。热休克后，将混合物在0-5℃下孵育几分钟。

[0176] 为了铺平细胞，加入900μL LB-培养基；在37℃下孵育1-3小时，然后涂布在含有抗生素(例如，氨苄青霉素或卡那霉素，取决于质粒上编码的抗生素抗性基因)的LB琼脂板上，并在37℃下孵育12-24小时。

[0177] 根据形成的菌落数目评估转化功效。针对m种不同DNA质粒分子中的每一种转化大肠杆菌细胞。由于质粒让细菌具有抗性(氨苄青霉素抗性)，因而只有携带质粒拷贝的细菌才能存活。特别是，抗性基因得以表达(用于产生蛋白质)，并且表达出的蛋白质要么分解抗生素、要么阻止该抗生素抑制某些细菌途径。以这种方式，抗生素起到滤器的作用，只选择含有质粒DNA的细菌。现在这些细菌可以大量生长，收集细菌并将它们裂解以分离出目标质粒。

[0178] 优选地，细菌细胞是大肠埃希菌(E.coli)。

[0179] 在步骤d1)之后，进行以下方法步骤：

[0180] e1)分离出经过步骤d1)转化的m种单一细菌细胞培养物中的每一种的至少一种单一细菌细胞克隆，

[0181] f1)在单独的细菌细胞培养物中培养步骤e1)中分离出的单一细菌细胞克隆中的每一种，

[0182] g1)可选地确定在步骤f1)中培养出的细菌细胞克隆培养物中的每一种的DNA质粒种类的DNA序列，

[0183] h1)为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择至少一种细菌细胞克隆培养物。

[0184] 在步骤d2)之后，该方法还可以包括以下步骤：

[0185] e2)分离出至少m种单一细菌细胞克隆，和

[0186] f2)在单独的细菌细胞克隆培养物中培养在步骤e2)中分离出的至少m种单一细菌细胞克隆中的每一种，

[0187] g2)确定在步骤f2)中培养出的至少m种单一细菌细胞克隆培养物中的每一种的DNA质粒种类的DNA序列，

[0188] h2)为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择至少一种单一细菌细胞克隆培养物。

[0189] 在优选的实施方式中，质粒DNA的混合物是均匀的，即所有DNA质粒种类以相同量或相似量存在，可能产生均匀的RNA分子种类混合物。换言之，步骤a)中所采用的m种不同DNA分子种类中的每一种的量均相同或至少相似。因此，理论上应该实现RNA组合物中n种不同RNA分子中的每一种的量相同或至少相似。相似量意味着基于混合物或组合物中的DNA或RNA分子的总量，单一DNA或RNA种类的量的变化不大于20％、优选不大于15％、更优选不大于10％或5％、甚至更优选变化不大于2％。

[0190] 如果能够提供包含编码相同靶肽/蛋白质(例如，抗原)的不同变体的n种RNA分子种类的RNA分子组合物，例如病原体的不同血清型的相同抗原，则该实施方式是特别优选

的。

[0191] 在另一个优选的实施方式中，RNA分子种类在RNA分子组合物中的量不同。如果第一靶肽/蛋白质是例如由第一RNA分子种类编码的抗原，而该抗原比由第二RNA分子种类编码的第二抗原更加有效，那么该实施方式可以是优选的。例如，如果第一抗原的功效是第二抗原功效的两倍，那么编码第一抗原的RNA量将会是编码第二抗原的RNA量的一半。同样，在分子疗法或蛋白质替代疗法的情况下，可能优选的是产生其中组合物中的各个RNA种类的量不同RNA组合物。

[0192] 应该注意的是，在优选的实施方式中，每种RNA分子种类的分子数目与用于RNA体外转录的m种不同DNA分子种类混合物中的各自DNA分子种类的分子数目成比例。在细菌生成m种不同DNA分子种类混合物的情况下，每种DNA质粒种类的分子数目与m种不同DNA分子种类混合物中的各自DNA分子种类的分子数目成比例。因此，如果需要不同量的n种不同RNA分子种类，那么在该方法中存在不同的要点，其中从业者可以影响RNA分子组合物中的每种RNA分子种类的最终量。将在下面描述这些要点。

[0193] 在一个优选的实施方式中，由于需要在微生物宿主(即，细菌细胞，优选大肠杆菌细胞)中进行特定模板质粒DNA的转化，因此细菌扩增是特别优选的。为了产生足够量的作为用于RNA体外转录模板的每种质粒DNA，特别优选的是将携带不同质粒的细菌克隆在一个发酵容器中作为共培养一起培养。

[0194] 用于共培养包含不同质粒DNA的多种克隆的一个重要要点是接种步骤。根据如被转移的细胞数目或微生物的重要状态(指数早期/指数中期/指数晚期，稳定期)等参数，培养结果可能不同(Huber等人，Microbial Cell Factories，2009，8:42)。在共培养中，接种步骤中的差异可能会以不希望的方式影响发酵过程中的种群比率。Huber等人描述了合适的接种方法(Huber等人.BMC Biotechnology，2010，10:22)。

[0195] 在特别优选的实施方式中，为了所有质粒DNA种类中的可能出现的一致性最佳，需要所有被培养克隆均匀生长并且具有均匀的生产力(即：携带各自质粒的细菌克隆应该在共培养中均等地生长，以实现相似量的DNA质粒)。

[0196] 如果需要均匀地生产DNA质粒种类，那么可以采取以下措施：

[0197] (I)尽管每种质粒种类编码不同的靶RNA种类，但优选的是质粒序列仅具有最小的差异。这意味着m种不同DNA质粒和分子种类的序列是一致的，即彼此具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少97％或优选至少99％的同一性。质粒骨架具有至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少97％、优选至少99％且最优选100％的同一性，并且m种不同脱氧核糖核酸(DNA)质粒或分子种类的开放阅读框(ORF)应该具有相似的长度，即其长度应该最多变化100个核苷酸、50个核苷酸、40个核苷酸、30个核苷酸、优选最多20个核苷酸、更优选地最多10个核苷酸、7个核苷酸或甚至更优选最多5个核苷酸，其中核苷酸序列仅具有最小的变化，即彼此具有至少80％的同一性。在另一个优选的实施方式中，n种不同RNA分子种类的RNA序列彼此具有至少80％的同一性，彼此具有至少85％、至少90％、至少95％、至少97％或优选至少99％的同一性。

[0198] 因此，对于所有细菌细胞克隆，由质粒复制引起的代谢负担优选是相同的，并且通过上述措施可以避免微生物生长和质粒DNA复制的主要差异。此外，开放阅读框的相似长度允许将HPLC用作纯化所得RNA混合物的方法(例如，如WO 2008/077592A1中所公开的，将其

中描述的HPCL纯化方法通过引用并入本文)。上述措施特别适用于其中RNA分子种类编码相同抗原(例如,病原体的不同血清型或菌株的相同抗原)的不同变体的实施方式。

[0199] 如果例如将RNA组合物作为个体基因疗法提供给患者(例如,缺乏不同的代谢途径酶),那么RNA分子序列及因此需要的DNA分子和质粒种类序列长度的变化可以大于50个核苷酸或具有小于80%的序列同一性。在该上下文中,可以采取如下所述的措施来实现RNA分子组合物中的每种RNA分子种类的所需量。对于包含高度变化的不同RNA分子种类的RNA分子组合物,本发明方法也是适用的。同样,在该实施方式中,测试了经转化细胞的生长和生产行为。如果不存在培养物具有相同或相似的生长行为和/或不存在培养物是每单位时间间隔和体积的细胞培养物生产相同或相似量的质粒DNA,那么采用各自量的细菌细胞培养物用于接种细菌细胞培养物以便用于较大规模地生产RNA体外转录。对于这样的产品,需要调整可替代的纯化程序(例如,聚d(T)捕获)。

[0200] 显然易见,可以经由不同方法产生混合物中的m种不同DNA分子种类,即通过PCR、质粒DNA的细菌扩增和化学合成(如以上所公开的)。

[0201] (II)在以共培养生产质粒DNA以便产生足够的用于RNA体外转录的每种DNA分子种类之前,以独立筛选方法分析所有克隆的个体生长和生产行为,即确定至少一种单一细菌细胞克隆培养物的至少一种生长动力学参数和/或质粒DNA的量。因此,本发明方法还包括以下步骤:i)确定至少一种单一细菌细胞克隆培养物的至少一种生长动力学参数和/或质粒DNA的量,和j)根据步骤i)中确定的参数,为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择一种或多种细菌细胞克隆培养物,优选为m种不同DNA质粒种类中的每一种选择一种细菌细胞克隆培养物。可选地,步骤i)包括以下步骤:i1)通过在一段时间间隔后测量细菌细胞克隆培养物的光密度(优选使用酶标仪,或通过散射光在线测量)确定生长动力学参数,和/或i2)确定每单位体积和时间的细菌细胞培养物所生产的质粒量。

[0202] 优选地,这是以多孔板格式(例如,24孔板、48孔板、96孔板)的高通量方式完成的。将从甘油储备液接种的每个克隆独立地预先培养在微量滴定板的一个培养孔中。之后,从该预先培养板接种第二组培养物,以便用于各体克隆表征。细菌细胞培养物的生长、培养条件(如温度,例如30℃或37℃)、搅拌速度和时间、合适的生长、培养基和选择标志物是技术人员熟知的。

[0203] 可以以光度测定方式记录生长动力学,例如,通过使用酶标仪在不同时间点测量光密度,例如,在2小时后、4小时后、6小时后、8小时后、10小时后、12小时后、18小时后、24小时后等等。也可以以光信号跟踪微生物生长,即通过专门的装置(酶标仪)中的散射光在线测量。另外,在培养结束时进行质粒DNA效价定量。可选地,从显示出均一的生长和生产特性的克隆产生甘油储备液。

[0204] 基于以上提及的细菌克隆生长特性的分析结果,选择所需克隆(优选显示出相似生长特征的克隆)并用于共培养(即,包含携带pDNA(=质粒DNA种类)克隆(编码不同RNA分子种类)的细菌的发酵程序)。

[0205] 因此,在本发明方法的优选实施方式中,针对m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的一种或多种细菌细胞克隆培养物表现出相似或相同的生长动力学和/或相似或相同的DNA生产水平,优选相似或相同的生长动力学和/或相似或相同的DNA生产水平尽可能高。

[0206] 可选地,本发明方法的步骤c1)还包括以下步骤:k1)在单一反应容器中接种并培

养一定量的为步骤j)中的m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的一种或多种细菌细胞克隆培养物中的至少一种，或k2)在用于m种不同DNA质粒种类中的每一种的一个或多个单独的反应容器中接种并培养一定量的为步骤j)中的m种不同DNA质粒种类中的每一种所选择的一种或多种细菌细胞克隆培养物中的至少一种，可选地其中m种不同DNA质粒种类的一种或多种细菌细胞克隆培养物在单一反应容器中一起生长。

[0207] 为了生产DNA质粒种类的目的，可以可选地将选择出的细菌细胞克隆(优选均匀生长和生产的细菌细胞克隆)应用于由以下组成的多步发酵步骤：

[0208] (I)施加从甘油储备液(克隆生长均匀的甘油储备液；一种克隆/DNA质粒种类)接种的矿物培养基或复合培养基(例如，LB培养基、TB培养基或M9培养基)，在摇瓶(例如，培养体积为100mL、250mL或500mL)或小型生物反应器中进行预培养

[0209] (II)施加从预培养物接种的矿物培养基或复合培养基(例如，LB培养基、TB培养基或M9培养基)，在生产规模的生物反应器中进行主要培养。主要培养可以从生物质生成的初始阶段开始，然后是进行由温度变化触发的生长受限的质粒生产阶段。可替换地，可以应用本领域通常已知的所有其它高产量发酵程序。由于所有克隆都表现出相同的生长和生产行为，因而生产的所有质粒DNA变体可能具有相似量。原则上生产规模的生物反应器的培养体积不受限制，通常体积范围在1L至1000L之间。

[0210] 在本发明的优选实施方式中，接种的每种细菌细胞克隆培养物的量相同。可替换地，选择在步骤k1或k2)中用于接种的每种细菌细胞克隆培养物的量，以使得所得的m种不同DNA质粒种类中的每一种的量相同或相似。可替换地，后者可适用于单一细菌细胞克隆显示出不同生长动力学(即，彼此变化大于20％)和/或质粒DNA的产生量不同(即，产量的差异大于20％)的情况。在该上下文中，可以将用于在步骤k1)或k2)中对生产规模体积培养接种的预培养物的量改变，以协调所有DNA质粒种类的生产量。

[0211] 在本发明的另一个实施方式中，接种的每种细菌细胞克隆培养物的量不同。选择在步骤k1或k2)中用于接种的每种细菌细胞克隆培养物的量，以便获得m种不同DNA质粒种类中的每一种的所需量。

[0212] 对于每种细菌克隆，可以进行测试RNA体外转录，以表征转录效率(这对于长度和序列不相似的相异DNA分子/质粒种类特别有用)。基于转录效率，可以产生各自的模板混合物。该实施方式也适用于纯化后的基于PCR的模板。

[0213] 在优选的实施方式中，经由测序(例如，下一代测序(NGS；例如Illumina))、PCR、qPCR或限制性图谱对DNA质粒/分子混合物的同一性和组成进行分析，以便确认每种单独DNA分子种类的同一性和数量。

[0214] 在另一个优选的实施方式中，本发明方法的步骤c1)进一步包括以下步骤：1)获得在步骤k1)和/或k2)中生长的细菌细胞克隆培养物的m种不同DNA质粒种类。该步骤是使用本领域已知的用于从细菌细胞纯化和分离质粒DNA的标准方法完成的。该方法可以可选地包括将在步骤1)中所得的m种不同DNA质粒种类线性化的步骤m)，优选在步骤1)和可选的步骤m)之后，实施获得m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类的混合物的步骤n)。在可替代的实施方式中，在开始RNA体外转录之前，在分开的发酵中产生m种不同DNA质粒种类，并在质粒DNA提取后将它们混合在一起。

[0215] 如果所采用的质粒携带一个用于质粒DNA线性化的EcoRI限制性位点，那么采用市

售可得的限制性内切核酸酶(如EcoRI)进行线性化。如果靶序列中存在各自的限制性位点(如EcoRI限制性位点),则预先将该位点消除掉。可以从制造商的手册中找到合适的反应条件。例如,可以通过琼脂糖凝胶电泳调节成功的线性化。

[0216] 典型地,通过特定的(优选单一的)酶限制将分离出的质粒DNA线性化,以提供用于以下RNA体外转录步骤a)的限定的线性模板。这确保了通过避免转录通读来以限定的方式终止体外RNA转录过程。线性化的DNA质粒种类也被称为DNA分子种类,并且优选地进行纯化,以及确定线性DNA的含量和产量。

[0217] 用于线性化pDNA模板的优选核酸内切酶包括BciVI、Xbal、SpeI、HindIII、Notl、EcoRI、NdeI、AfIII、Hindlll和SapI。最优选的限制酶是EcoRI。

[0218] 特别优选的是以下条件:

[0219] 一次反应的组成:

[0220] 1μg质粒DNA

[0221] 0.5μl反应缓冲液

[0222] 3单位限制酶

[0223] 和5μl WFI(注射用水)。

[0224] 根据用于线性化的质粒DNA的量计算组成(至少1000次反应,优选10000次反应)。反应是在37℃下孵育4至5个小时。

[0225] 优选将线性化模板DNA纯化。可以使用不同的方法,例如,酚/氯仿萃取和随后的醇沉淀、色谱法、过滤法、或基于二氧化硅的DNA捕获法。该纯化步骤还确保了减少来自之前生产步骤的杂质(例如,蛋白质),包括大肠杆菌蛋白质、限制酶和BSA(包含在反应缓冲液中的)。

[0226] 在该上下文下,优选苯酚/氯仿/异戊醇沉淀和随后的异丙醇沉淀。Sambrook等人描述了这些方法(Sambrook等人,Molecular Cloning,第二版,1989,冷泉港实验室出版社)。沉淀后,将质粒DNA重悬于合适的缓冲液中,优选注射用水。

[0227] 优选地分析线性模板质粒DNA的成功/完全线性化。优选经由琼脂糖凝胶电泳分析线性质粒DNA的条带唯一性和条带大小。可替换地,可以使用本领域已知的用于测定DNA片段的任何其它方法,特别是在PCT/EP2015/000959中描述的方法,通过引用将其并入本文。

[0228] 因此,在优选的实施方式中,本发明的方法还包括分析DNA质粒种类的成功线性化。

[0229] 用于在本发明的步骤n)之后分析DNA片段的示例性方法,例如琼脂糖凝胶电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳、芯片凝胶电泳、毛细管电泳、基于荧光的自动DNA片段分析和HPLC(例如,WAVE™ DNA片段分析系统)。特别优选的是Sambrook等人描述的琼脂糖凝胶电泳(Sambrook等人,Molecular Cloning,实验室手册,第二版,冷泉港实验室出版社,1989.6)。

[0230] 在步骤a)之前,本发明方法可以进一步包括小规模测试转录的步骤。优选地经由RNA聚合酶聚合反应来进行将线性DNA分子种类转录成RNA的小规模转录测试。进行这种小规模RNA体外转录测试来估计体外转录RNA的预期产量并且分析体外转录出的RNA的同一性。

[0231] RNA体外转录反应通常包含但不限于作为模板的DNA分子种类、合适的缓冲液(HEPES、Tris-HCl pH 7.5)、DNA依赖性RNA聚合酶(例如,T7、T3、SP6)、合适的核苷酸混合物

(天然和/或修饰的核苷酸)、DTT、亚精胺、NaCl、$MgCl_2$、RNA酶抑制剂和焦磷酸酶。

[0232] 随后,优选地将体外转录出的RNA纯化。用于RNA纯化的不同方法在本领域中是已知的,包括酚/氯仿/异戊醇萃取和随后的乙醇或异丙醇沉淀、用醇和单价阳离子(如钠离子或铵离子)沉淀、LiCl沉淀、色谱法或过滤法。

[0233] 在该上下文中,特别优选LiCl沉淀。优选通过加入50%的8M LiCl体积来进行LiCl沉淀。将反应物混合并在室温下孵育。随后将反应离心,丢弃上清液,并用75%乙醇洗涤RNA沉淀。干燥后,优选将RNA再悬浮于水中。

[0234] 优选通过PCT/EP2015/000959中描述的光度测定来确定测试RNA体外转录的浓度。因此,可以估计体外转录的RNA的产量。

[0235] 优选通过本领域已知的任何方法,特别是通过PCT/EP2015/000959中描述的任何方法来确定(测试)体外转录中的RNA同一性。特别优选的是PCT/EP2015/000959中描述的琼脂糖凝胶电泳,通过引用将其并入本文。

[0236] 以下描述了用于控制模板DNA分子/质粒种类(其包含编码RNA分子种类的核酸序列)的质量的优选步骤。特别地,该部分涉及用于确定DNA分子含量、确定编码靶RNA分子序列的DNA分子序列的同一性和/或确定DNA分子/质粒种类的纯度的优选步骤。

[0237] 优选通过用于核酸的标准光度测定法(经由吸收测量)来确定分离出的模板质粒DNA分子(dsDNA)的浓度。此外,优选确定测量核酸样品纯度的OD 260/280值。纯DNA的A260/280约为1.8。

[0238] 可以用合适的引物进行PCR,以确认所得的DNA质粒/分子种类包含编码RNA分子种类序列的核酸序列。可以将位于编码靶RNA序列的核酸序列中的引物或位于编码靶RNA序列的核酸序列之外的引物用于PCR。

[0239] 如果将质粒DNA质粒种类用于作为步骤a)中RNA体外转录的模板,那么也可以采用位于质粒DNA载体骨架上的引物,例如标准引物,如在编码靶RNA分子种类序列的插入DNA序列旁侧的M13、Sp6或T7引物。

[0240] 可以通过本领域已知的任何方法分析所得的PCR扩增产物,如通过凝胶电泳(例如,琼脂糖凝胶电泳)、DNA测序或色谱法(如HPLC)。特别优选的是通过琼脂糖凝胶电泳或HPLC进行分析。

[0241] 在一个方面,本发明提供了用作分析模板DNA分子/质粒种类方法的PCR,用于控制编码靶RNA分子种类序列的DNA序列的同一性。特别地,将该方法用于作为在根据本发明的生产RNA分子组合物的方法中(优选在生产体外转录出的RNA的过程中)生产模板DNA的质量控制方法。

[0242] 作为对其它方法(如PCR)的替代或补充,优选地进行包含编码靶RNA序列的插入DNA序列的模板质粒DNA载体的限制性分析,并分析所得的质粒DNA载体片段以确认模板质粒DNA载体含有编码靶RNA分子种类序列的插入DNA序列。

[0243] 限制酶特异性结合至已知为识别位点的特定序列内或附近的特定位点处的双链DNA并将其切割。大多数限制酶识别长度为4个、5个或6个核苷酸且示出双重对称性的特定核苷酸序列。有的限制酶正好在对称轴上切割两条链,产生携带平末端的DNA片段;有的限制酶在对称轴相对侧的相似位置处切割每条链,产生携带单链末端的DNA片段(参见定义)。

[0244] 用于限制性消化的反应条件取决于所使用的限制酶。特别是,根据使用的限制酶,

盐浓度不同。因此，限制酶制造商对其限制酶的缓冲液进行了优化。

[0245] 用一种限制酶进行的限制性反应的优选条件是：

[0246] 0.5μg质粒DNA(0.2-2μg质粒DNA)

[0247] 1.5μl 10×反应缓冲液

[0248] 1μl限制酶(1μl通常包含1u)

[0249] 和15μl WFI(注射用水)。

[0250] 用两种限制性酶进行的限制性反应的优选条件是：

[0251] 0.5μg质粒DNA(0.2-2μg质粒DNA)

[0252] 1.5μl 10×反应缓冲液

[0253] 1μl限制酶1(1μl通常包含1u)

[0254] 1μl限制酶2(1μl通常包含1u)

[0255] 和15μl WFI(注射用水)。

[0256] 通常如上所示将限制性反应物混合，并优选在37℃下孵育1-4小时。

[0257] 在该上下文中，特别优选的是将切割插入DNA序列的5'和3'的限制酶组合。可替换地，根据插入DNA序列，选择限制酶的特定组合。在该上下文中，特别优选的是选择在DNA质粒骨架中仅切割一次的限制性酶和在插入DNA序列中切割一次的限制性酶。

[0258] 特别优选的是采用不同的限制酶(组合)进行至少1种、2种、3种、4种或5种不同的限制性反应，以便控制包含编码靶RNA序列的核酸序列的插入DNA序列的同一性。

[0259] 在步骤n)之后，经由市售可得的常规质粒制备试剂盒或应用不同过滤和层析步骤的定制纯化方法从细菌宿主细胞中提取m种不同DNA质粒种类。纯化后，经由测序、下一代测序(NGS；例如，Illumina)、PCR、qPCR或限制性图谱分析质粒DNA混合物的同一性及其组成，以便确认每种单独质粒的同一性和数量。

[0260] 例如，通过酶限制及随后优选经由琼脂糖凝胶电泳进行分析来控制包含在模板质粒DNA载体中的插入DNA序列的同一性。为此目的，将模板质粒DNA与一定数目的特异性限制酶(优选至少5个独立反应)一起孵育，导致模板质粒DNA载体的特异性片段化。随后，通过例如在琼脂糖凝胶上或通过例如通过HPLC分离所得的不同大小的片段来分析限制性DNA样品。将得到的DNA片段化模式与理论上预期的限制模式进行比较。

[0261] 可以对编码靶RNA分子种类序列的质粒DNA或PCR产物的插入DNA分子种类序列进行自动化DNA测序，以确认编码靶RNA分子种类序列的DNA序列的同一性。可以通过本领域已知的任何方法，特别是通过本文或PCT/EP2015/000959中定义的任何方法进行DNA测序。选择用于DNA测序的适当引物以确保编码靶RNA序列的DNA序列的完整长度完全覆盖DNA引物的两条互补链(位于质粒骨架上的编码靶RNA序列的DNA序列(例如，插入DNA序列)旁侧的引物，例如，M13正向引物、M13反向引物)。将得到的序列信息与编码靶RNA序列的DNA序列的预期序列进行比较。

[0262] 因此，在本发明的上下文中特别优选的是确认或控制编码一种或多种RNA分子种类的DNA分子/质粒种类序列的同一性。

[0263] 在发酵后，经由市售可得的常规质粒制备试剂盒或应用不同过滤和层析步骤的定制纯化方法从宿主细胞中提取质粒DNA。纯化后，经由测序、下一代测序(NGS；例如，Illumina)、PCR、qPCR或限制性图谱分析质粒DNA混合物的同一性及其组成，以便确认每种

单独质粒的同一性和数量。

[0264] 关于RNA污染，可以进一步控制DNA分子/质粒种类(本文也称为“模板DNA”或“DNA模板”)。优选地，将模板DNA(例如，质粒DNA种类)与RNA酶A孵育。然后，再次测定经纯化的模板DNA的浓度，并计算RNA酶处理前后的差异。

[0265] 以下反应是特别优选的：

[0266] 将1-20μg模板DNA(优选10-15μg模板DNA)与1μl RNA酶A(1g/l)在37℃下孵育1小时。

[0267] 例如，通过醇沉淀、色谱(优选在Sephadex柱上)将核苷酸分离开。

[0268] 优选地，通过测量260nm处吸收(OD260)的核酸标准光度测定法确定分离出的模板DNA(优选在RNA酶A消化之后的)的浓度(参见上文)。

[0269] 计算包含在模板DNA制备物中的模板DNA的百分比：

[0270] $$\%\text{模板DNA} = \frac{\text{RNA酶A消化后的核酸浓度}}{\text{RNA酶A消化前的核酸浓度}} \times 100\%$$

[0271] 优选进行细菌内毒素检测，以便确定模板DNA制备物中内毒素的存在性和/或含量。优选地，通过采用来自马蹄蟹(horseshoe crab)(美洲鲎(Limulus polyphemus)或中华鲎(Tachypleus tridentatus))的变形细胞裂解物来检测和/或定量革兰氏阴性细菌来源的内毒素。Levin已经发现了这一原理(Levin,J.1979.The reaction between bacterial endotoxin and amebocyte lysate,第131-146页.E.Cohen(编辑),Biomedical Applications of the Horseshoe Crab(Limulidae),Progress in Clinical and Biological Research,第29卷.Alan R.Liss,Inc.,纽约)。

[0272] 一般而言，至少有三种技术可以进行这种测试：基于凝胶形成的凝胶-凝块技术；基于内源性底物裂解后的浊度显影的浊度测定技术；以及基于合成肽-发色团复合物裂解后的颜色显影的显色技术。

[0273] 优选的是LAL测试。根据欧洲药典2.6.14(Pharmacopoeia Europaea，欧洲药典)，通过动力学浊度LAL(鲎属变形细胞裂解物，Limulus-Amoebocyte-Lysate)测试来确定和估计每单位体积质粒DNA的内毒素含量。

[0274] 优选计算每体积模板质粒DNA的总蛋白质含量。用于检测蛋白质的几种不同方法是本领域已知的，包括在280nm处的UV吸光度测量(由于存在芳香族氨基酸)、Lowry测定法、Biuret测定法、Bradford测定法和BCA(二喹啉甲酸，Bichinonic Acid)测定法。

[0275] BCA(二喹啉甲酸，Bichinonic Acid)测定法是基于蛋白质与铜和BCA复合的比色检测法。与蛋白质标准品(BSA)相比，通过562nm吸收来测量包含在RNA中的总蛋白质浓度。二喹啉甲酸(BCA)测定法的原理与Lowry法类似(Lowry,O.H.等人，J.Biol.Chem.,193,265-275(1951))。两者都依赖于在碱性条件下形成Cu^{2+}-蛋白复合物，随后将Cu^{2+}还原成Cu^{+}。还原量与蛋白质存在量成比例。已经表明，半胱氨酸、胱氨酸、色氨酸、酪氨酸和肽键能够将Cu^{2+}还原成Cu^{+}。BCA在碱性环境中与Cu^{+}形成紫蓝色复合物，从而为在最大吸光度562nm下监测蛋白质还原碱性Cu^{2+}提供基础。

[0276] 另一种可用于测定蛋白质的方法是Bradford法。Bradford测定法是一种基于染料考马斯亮蓝G-250吸光度变化的比色蛋白质测定法，其中在酸性条件下红色形式的染料被转化成其蓝色形式以与待测蛋白质结合。染料的(结合)形式具有史上保持在最大595nm的

吸收光谱。阳离子(未结合)形式是绿色或红色。染料与蛋白质的结合稳定了蓝色阴离子形式。595nm处的吸光度增加与结合染料的量成比例,因此其与样品中存在的蛋白质量(浓度)成比例。

[0277] 特别优选的是BCA测定法。为了进行BCA测定,可以使用几种市售可得的试剂盒。

[0278] 为了确定模板DNA制备物的无菌性,可以采用通用细菌引物(检测细菌中的普遍存在基因)进行PCR。而且,可以进行平板测定法。

[0279] 特别优选的是根据欧洲药典2.6.12的平板测定法。为了测定生物负载,在将质粒DNA平铺在琼脂和/或葡萄糖平板上并孵育几天(例如,分别为5天和7天)后在需氧和厌氧条件下测试细菌的存在性/不存在性。通过对在细菌平板上生长的细菌克隆计数来评估生物负载。

[0280] 为此,可以使用不同的铺板介质。特别优选胰酶大豆琼脂(TSA)(大豆酪蛋白消化琼脂(CSA))平板和沙氏葡萄糖(2%)琼脂平板。

[0281] 如果采用大肠杆菌以扩增模板质粒DNA,那么优选确定残留的大肠杆菌DNA。

[0282] 可以采用对大肠杆菌基因具有特异性的引物和探针,通过PCR(优选通过定量PCR(qPCR))检测残留的大肠杆菌DNA。在此上下文中,对于包含在相应细菌菌株(例如,大肠杆菌菌株)中的任何基因组序列或基因具有特异性的引物和探针特别有用于进行PCR或qPCR以确定残留的细菌DNA。

[0283] 为检测残留的大肠杆菌DNA,还检测了质粒DNA。为此目的,对质粒DNA样品以及阳性对照和阴性对照进行了定量PCR(qPCR),并评估了计算的基因组大肠杆菌DNA拷贝数。为此目的,对大肠杆菌特异性基因进行扩增并定量。优选地,将来自罗氏的Light Cycler与FastStart DNA MasterPlus杂交探针组合使用。

[0284] 优选地,使用市售可得的RNA酶检测试剂盒分析模板DNA(例如,线性模板质粒DNA种类)的RNA酶污染,包括RNaseAlert® (Applied Biosystems)、RNA酶污染测定法(New England Biolabs)或其中将模板DNA与参照RNA孵育来作为RNA酶污染的读数的测定法。

[0285] 可以采用RNaseAlert®试剂盒来分析模板DNA的RNA酶污染,该试剂盒利用了一端带有荧光报道分子(荧光剂)标签而另一端带有荧光报告分子淬灭剂标签的RNA底物。在不存在RNA酶下,淬灭剂在物理上的近距离性阻抑荧光剂的荧光。在存在RNA酶下,RNA底物被切割,在溶液中的荧光剂和淬灭剂在空间上分离。这导致荧光剂在被适当波长的光激发时,其发出明亮的绿色信号。可以使用基于滤光片或单色器的荧光计容易地检测荧光。

[0286] 可替换地,可以通过采用RNA酶污染测定试剂盒(New England Biolabs)来分析模板DNA的RNA酶污染,该试剂盒检测通常的RNA酶活性,包括由于样品中重金属污染和高pH导致的基于非酶的RNA降解。测定探针是荧光素标记的RNA转录物(300-mer)。在与pDNA样品孵育后,通过变性PAGE和然后进行的SYBR金染色、或优选通过用FAM/荧光素成像系统扫描来分析RNA探针的完整性。

[0287] 在优选的实施方式中,通过将模板DNA(优选线性模板质粒DNA)与参照RNA孵育并随后通过RNA琼脂糖凝胶电泳分析来分析模板DNA的RNA酶污染。在不存在RNA酶下,可以在琼脂糖凝胶上同时检测到线性DNA和参照RNA,在存在RNA酶污染下,只能检测到DNA条带。

[0288] 然后,在核苷酸混合物存在下采用例如DNA依赖性T7RNA聚合酶,将线性化的DNA分子种类混合物用作步骤a)中RNA体外转录的模板。

[0289] 然后，可以将所得的m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类混合物用于步骤a)的RNA体外转录。

[0290] 作为对所得的m种不同DNA质粒/分子种类混合物的质量控制，通过市售可得的常规质粒制备试剂盒或应用技术人员已知的不同过滤和色谱步骤的定制纯化方法从细菌细胞中提取DNA质粒/分子。

[0291] 优选地，该方法在步骤a)之前还包括确定m种不同脱氧核糖核酸(DNA)分子种类中的每一种的转录效率参数的步骤o)。

[0292] 优选在核苷酸混合物存在下采用DNA依赖性T7RNA聚合酶进行RNA体外转录。对于优选的实施方式，如所公开的，在n种不同RNA分子种类的序列高度相似(G:C:U:A比相似)时，可以应用序列优化的NTP混合物，以便优化RNA/NTP产量。

[0293] RNA体外转录反应通常包含转录缓冲液、核苷三磷酸(NTP)、RNA酶抑制剂和DNA依赖性RNA聚合酶。NTP可以选自但不限于本文描述的那些，包括天然存在的和经过修饰的NTP。DNA-依赖性RNA聚合酶可以选自但不限于T7RNA聚合酶、T3RNA聚合酶、SP6 RNA聚合酶和突变型聚合酶，例如但不限于能够掺入经过修饰的核酸的聚合酶。特别优选的是作为RNA体外转录的酶的T7RNA聚合酶。

[0294] 在聚合期间，mRNA可以是在5'末端用本文定义的帽类似物(例如，N7-MeGpppG)共转录封端的。

[0295] 作为转录缓冲液，优选以下缓冲液：40mM Tris pH 7.5或80mM HEPES。

[0296] 模板DNA：10-500μg/ml，特别优选50μg/ml。

[0297] 采用具有期望化学性质的核苷三磷酸，包括天然存在的核苷酸(例如，核苷酸ATP、CTP、UTP和GTP中的至少一种)和/或经过修饰的核苷酸，优选如本文描述的经过修饰的核苷酸，或其任何组合。ATP、CTP、UTP和GTP的使用浓度优选为0.5-10mM，优选浓度为3-5mM且最优选浓度为4mM。

[0298] 有用的帽类似物包括但不限于N7-MeGpppG(=m7G(5')ppp(5')G)、m7G(5')ppp(5')A、ARCA(抗反向CAP类似物、经过修饰的ARCA(例如，硫代磷酸酯修饰的ARCA)、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'-氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷和2-叠氮基-鸟苷。如果采用5'-CAP(帽类似物)，则与其它使用的核苷酸相比，优选将GTP的浓度降低。此外，帽类似物的使用浓度至少与ATP、CTP和UTP的浓度相同。

[0299] 为了平衡封端产物的百分比和转录反应的效率，帽类似物:GTP的比率变化可以从10:1到1:1，优选采用的帽类似物:GTP比率为4:1-5:1。在该上下文下，如果ATP、UTP和CTP的使用浓度为4mM，则特别优选地使用5.8mM的帽类似物和1.45mM的GTP。

[0300] 可以可选地将$MgCl_2$添加到转录反应中。优选地浓度为1-100mM。特别优选的是，$MgCl_2$的使用浓度为5-30mM，最优选12-24mM。

[0301] 可以可选地将亚精胺加入到转录反应中，优选1-10mM，最优选2mM的亚精胺。

[0302] 可以可选地将二硫苏糖醇(DTT)加入到转录反应中，浓度优选为1-100mM，更优选10-100mM，最优选40mM。

[0303] 可以可选地将RNA酶抑制剂加入到转录反应中，优选0.1-1U/μl，最优选0.2U/μl。

[0304] 可以可选地将大肠杆菌焦磷酸酶加入到转录反应中，浓度优选为1-10U/μg模板DNA，且浓度最优选为5U/μg模板DNA。这确保了转录需要的镁保留在溶液中，并且不会作为

焦磷酸镁沉淀。

[0305] 可以采用以下的病毒DNA依赖性RNA聚合酶:T3聚合酶、T7聚合酶和Sp6聚合酶。可以采用1-1000单位/μg的DNA。优选浓度为100U/μg DNA。

[0306] 可以可选地采用BSA,浓度优选为1-1000μg/ml,浓度最优选为100μg/ml。最优选地,BSA不存在于转录反应中。

[0307] 最优选地,RNA体外转录反应包含以下组分:

[0308] 模板DNA混合物

[0309] 4mM ATP、CTP和UTP

[0310] 1.45mM GTP,

[0311] 5.8mM CAP类似物

[0312] 80mM HEPES或Tris HCl

[0313] 24mM $MgCl_2$

[0314] 2mM亚精胺

[0315] 40mM DTT

[0316] 5u焦磷酸酶

[0317] 4u RNA酶抑制剂

[0318] 100u T7 RNA聚合酶。

[0319] 优选在37℃下孵育RNA体外转录反应,更优选孵育至少4小时。

[0320] 此外,优选地,RNA分子组合物中的n种不同RNA分子种类的每一种的量与m种不同DNA分子种类混合物中的相应DNA分子种类的量或其至少90%成比例。

[0321] 在另一个优选的实施方式中,本发明方法的步骤b)还包括:纯化n种不同RNA分子种类(可选地经由HPLC)的步骤p),并且可选地定性和定量分析步骤b)中所得的RNA分子组合物的步骤q)。为了纯化n种不同RNA分子种类的组合物,可以应用LiCl沉淀和/或TFF(PCT/EP2015/062002,通过引用并入本文)和/或HPLC法(PureMessenger®;WO 2008/077592 A1,通过引用并入本文)。可替换地,可以使用应用聚(T)树脂的亲和色谱法。可选地将纯化的RNA进行定性和/或定量分析。

[0322] 纯化n种不同RNA分子种类的步骤p)可以包括去除模板DNA,即从RNA分子种类将DNA分子种类分离开。在一个实施方式中,使用聚A捕获物以色谱的方式去除RNA分子,例如,基于寡聚dT的亲和纯化步骤。RNA分子与亲和底物结合,而DNA分子流走并且被去除。然而,特别优选的是,采用DNA酶I以酶促的方式去除DNA分子。

[0323] 在优选的实施方式中,可以进一步将通过本发明方法所得的RNA分子封端。作为采用CAP类似物的共转录封端的替代方法,可以以酶促的方式将RNA封端。在具体的实施方式中,可以在相应缓冲液中通过将例如来自大肠杆菌的细菌聚(A)聚合酶(多核苷酸腺苷酰基转移酶)与ATP孵育而将由本发明方法所得的RNA进一步地聚腺苷酸化。

[0324] RNA纯化的步骤p)可以包括本领域已知的任何纯化方法,如醇沉淀、色谱(如HPLC)或LiCl沉淀,其中优选LiCl沉淀。关于RNA纯化方法的其它细节可以获得自PCT/EP2015/000959、PCT/EP2015/062002、WO 2008/077592 A1,通过引用将其并入本文。

[0325] 在优选的实施方式中,如下文和PCT/EP2015/000959中描述的确定RNA分子浓度/RNA含量/RNA量,通过引用将其并入本文。

[0326] 优选通过光谱分析来确定RNA含量。分光光度测量分析是基于核酸以特定模式吸收紫外光的原理。在DNA和RNA的情况下，暴露于260纳米(nm)波长的紫外光的样品将吸收该紫外光。由此产生的效果是，较少的光将撞击光电探测器，并且这将产生较高的光密度(OD)。

[0327] 在260nm测量的光密度为1对应于浓度为40μg/ml的单链RNA。

[0328] 由在260nm测量的吸收(OD260)来估计测试转录的产量。

[0329] 可以通过各种如下面详细解释的方法来确定RNA分子种类的同一性：

[0330] i)测定转录物长度和转录物唯一性

[0331] 优选确认正确的转录物长度和转录物唯一性，以便验证在本发明方法的步骤b)中所得的RNA的同一性和纯度。

[0332] 优选通过琼脂糖凝胶电泳，毛细管凝胶电泳，聚丙烯酰胺凝胶电泳或HPLC来分析mRNA的条带唯一性和条带大小。特别优选的是琼脂糖凝胶电泳。

[0333] 琼脂糖凝胶电泳是一种分离RNA的方法。可以通过添加荧光嵌入染料溴化乙锭或其它的市售可得染料(SybrSafe DNA染色剂，Cybr Green，橙色DNA加载染料)在琼脂糖凝胶中确定RNA。

[0334] 通常采用1×MOPS缓冲液(MOPS，0.74%甲醛的超纯水)来跑胶。

[0335] 为了制备琼脂糖凝胶，将0.5-3%(w/v)琼脂糖或更优选1.2%(w/v)琼脂糖溶解在1×跑胶缓冲液中。

[0336] 将溶液倒入模具中并使其硬化。在凝胶上施加电场时，带负电荷的RNA迁移到阳极。将与用于制备琼脂糖凝胶相同的缓冲液用于作为跑胶缓冲液。

[0337] 将上样缓冲液(例如，含有溴化乙锭(10mg/l)的凝胶上样缓冲液)加入到样品中，并加载到琼脂糖凝胶上。在跑胶完成之后，可以例如通过紫外线来确定RNA。可以将RNA长度与预测长度相比较，由此允许确定是否正确的编码靶RNA序列的DNA序列被整合到质粒中。

[0338] 可替换地，可以使用聚丙烯酰胺凝胶电泳、毛细管凝胶电泳或HPLC。

[0339] ii)通过RNA酶处理和随后分析降解产物来确定RNA同一性

[0340] 在优选的实施方式中，通过使用RNA酶A消化本发明方法的步骤b)所得的RNA样品的测试来确认RNA同一性。优选在RNA凝胶电泳上将消化的RNA与未处理的样品进行比较。

[0341] 在该上下文中，特别优选的是用10μg RNA酶A消化1μg RNA转录物。

[0342] iii)通过RT-PCR和随后的琼脂糖凝胶电泳分析产物来确定RNA同一性

[0343] 在第一步骤中，优选采用逆转录酶将RNA转化为互补DNA(cDNA)。在第二步骤中，采用合适的引物由PCR(聚合酶链式应反)扩增所得cDNA，以提供一定大小的PCR产物。通过琼脂糖凝胶电泳分析PCR产物的正确条带大小。

[0344] 优选使用以RNA为模板的RT-PCR来确定RNA产物的大小。用于逆转录的试剂盒是市售可得的。

[0345] 之后，用靶特异性引物扩增产生的cDNA，并以常规DNA琼脂糖凝胶电泳分析产物条带大小。

[0346] iv)通过逆转录测序来确定RNA同一性：

[0347] 可以通过逆转录测序来表征RNA转录物。将RNA产物与普通的逆转录酶、一对引物和dNTP孵育，以获得cDNA样品。该cDNA用作PCR的模板以扩增cDNA。然后，通过使用如本文定

义的测序程序(如Sanger测序或双向测序)分析来表征PCR产物。

[0348] v)通过寡核苷酸图谱来确定RNA同一性：

[0349] 优选在足以允许探针与RNA杂交以形成双链体的条件下，将在本发明方法的步骤b)中所得的RNA与多种核苷酸探针孵育，其中每个核苷酸探针包括与RNA转录物的不同区域互补的序列。

[0350] 然后，将在足以使RNA酶消化双链体的条件下，将形成的双链体与RNA酶(如RNA酶H或RNA酶T1)接触，以形成反应产物。

[0351] 接下来，分析反应产物，例如通过使用如反相高效液相色谱(RP-HPLC)、阴离子交换HPLC(AEX)或偶联于质谱(MS)的RP-HPLC等程序。最后，使用反应产物的分析结果来表征RNA，以确定RNA序列。

[0352] vi)通过RNA测序来确定RNA同一性。

[0353] 在优选的实施方式中，可以通过RNA测序来确定RNA同一性。用于RNA序列分析的方法是本领域已知的并且可以在本文中使用。

[0354] vii)确定RNA完整性

[0355] 优选将本发明步骤b)中所得的RNA的相对完整性确定为全长RNA(即，非降解RNA)相对于RNA总量(即，全长RNA和降解的RNA片段(在凝胶电泳中表现为模糊条带))的百分比。

[0356] viii)测定pH

[0357] 优选根据欧洲药典(PhEur)2.2.3，使用常规伏特计对pH值进行电位测定，以测定RNA制备物的pH值。

[0358] ix)测定渗透压

[0359] 在优选的实施方式中，确定本发明方法的步骤b)中所得的RNA的渗透压。根据欧洲药典2.2.35，使用常规的渗透压装置进行渗透压测量。

[0360] x)测定生物负载/微生物含量

[0361] 为了确定RNA制备物的无菌性，可以采用通用细菌引物(检测细菌中的普遍存在的基因)进行RT-PCR。而且，可以进行平板测定法。

[0362] 特别优选根据欧洲药典2.6.12的平板测定法：

[0363] 为了测定生物负载，在将DNA平铺在琼脂和/或葡萄糖平板上并孵育几天(例如，分别为5天和7天)后在需氧和厌氧条件下测试细菌的存在性/不存在性。通过对在细菌平板上生长的细菌克隆计数来评估生物负载。

[0364] 为此，可以使用不同的铺板介质。特别优选胰酶大豆琼脂(TSA)(大豆酪蛋白消化琼脂(CSA))平板和沙氏葡萄糖(2％)琼脂平板。

[0365] xi)测定内毒素污染：

[0366] 细菌内毒素检测优选地是优选通过采用来自马蹄蟹(horseshoe crab)(美洲鲎(Limulus polyphemus)或中华鲎(Tachypleus tridentatus))的变形细胞裂解物来检测和/或定量革兰氏阴性细菌来源的内毒素。Levin已经发现了这一原理(Levin,J.1979.The reaction between bacterial endotoxin and amebocyte lysate,第131-146页.E.Cohen(编辑),Biomedical Applications of the Horseshoe Crab(Limulidae),Progress in Clinical and Biological Research,第29卷.Alan R.Liss,Inc.,纽约)。

[0367] 一般而言，有三种技术可以进行这种测试：基于凝胶形成的凝胶-凝块技术；基于

内源性底物裂解后的浊度显影的浊度测定技术;以及基于合成肽-发色团复合物裂解后的颜色显影的显色技术。

[0368] 优选的是LAL测试。根据欧洲药典2.6.14(Pharmacopoeia Europaea,欧洲药典),通过动力学浊度LAL(鲎属变形细胞裂解物,Limulus-Amoebocyte-Lysate)测试来确定和估计每单位体积DNA的内毒素含量。

[0369] xii)测定蛋白质污染:

[0370] 计算本发明方法的步骤b)中所得的每单位体积RNA的总蛋白质含量。

[0371] 用于检测蛋白质的几种不同方法是本领域已知的,包括在280nm处的UV吸光度测量(由于存在芳香族氨基酸)、Lowry测定法、Biuret测定法、Bradford测定法和BCA(二喹啉甲酸,Bichinonic Acid)测定法。

[0372] BCA(二喹啉甲酸,Bichinonic Acid)测定法是基于蛋白质与铜和BCA复合的比色检测法。与蛋白质标准品(BSA)相比,通过562nm吸收来测量包含在RNA中的总蛋白质浓度。二喹啉甲酸(BCA)测定法的原理与Lowry法类似(Lowry,O.H.等人,J.Biol.Chem.,193,265-275(1951))。两者都依赖于在碱性条件下形成Cu^{2+}-蛋白复合物,随后将Cu^{2+}还原成Cu^{+}。还原量与蛋白质存在量成比例。已经表明,半胱氨酸、胱氨酸、色氨酸、酪氨酸和肽键能够将Cu^{2+}还原成Cu^{+}。BCA在碱性环境中与Cu^{+}形成紫蓝色复合物,从而为在最大吸光度562nm下监测蛋白质还原碱性Cu^{2+}提供基础。

[0373] 另一种可用于测定蛋白质的方法是Bradford法。Bradford测定法是一种基于染料考马斯亮蓝G-250吸光度变化的比色蛋白质测定法,其中在酸性条件下红色形式的染料被转化成其蓝色形式以与待测蛋白质结合。染料的(结合)形式具有史上保持在最大595nm的吸收光谱。阳离子(未结合)形式是绿色或红色。染料与蛋白质的结合稳定了蓝色阴离子形式。595nm处的吸光度增加与结合染料的量成比例,因此其与样品中存在的蛋白质量(浓度)成比例。

[0374] 特别优选的是BCA测定法。为了进行BCA测定,可以使用几种市售可得的试剂盒。

[0375] xiii)测定质粒DNA污染:

[0376] 如本文所述,可以可选地采用用于RNA体外转录的DNA质粒的特异性引物和探针,通过PCR或定量PCR检测残留的质粒DNA。特别优选的是如本文所述的采用对所生产的载体中固有的氨苄青霉素基因具有特异性的引物和探针由定量PCR检测残留的质粒DNA。将探针用作为阳性对照,并且因此用于计算质粒DNA浓度。

[0377] xiv)测定细菌DNA污染:

[0378] 可以可选地检测残留的细菌DNA,例如采用对细菌基因组序列具有特异性的引物和探针由PCR或定量PCR检测残留的细菌DNA。特别优选的是,采用对大肠杆菌基因具有特异性的引物和探针由定量PCR来检测残留的细菌DNA。优选将探针用作阳性对照,并且因此用于计算细菌DNA浓度。

[0379] xv)测定残留的溶剂污染

[0380] 优选基于欧洲药典2.2.28法,使用标准加入法由顶空气相色谱法来分析残留的溶剂。将样品加热至80℃,平衡,注入气相,并使用FID(火焰离子检测)进行分析。

[0381] 分析物优选包括乙腈,氯仿,乙酸三乙铵(TEAA),异丙醇和苯酚。

[0382] 如上所述,可以可选地实施一些质量控制,例如分析细菌克隆的生长特征、或表征

RNA体外转录中的质粒DNA或其它DNA模板(例如,使用PCR产生的)的表现。此外,可以可选地实施质量控制以定量且定性地分析DNA模板混合物的组成和/或体外转录的RNA分子的组成。另外,在本发明的上下文中,可以使用在模板生产和RNA生产过程中的合适的质量控制,如在PCT/EP2015/000959和WO2014/144039中公开的,通过引用将二者并入本文。可以从例如PCT/EP2015/000959、PCT/EP2015/062002、WO 2008/077592中得到纯化RNA分子混合物的方法,通过引用将其内容并入本文。

[0383] 优选地,m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种,其中n种不同RNA分子种类中的每一种编码病原体的不同血清型或菌株的抗原、不同的过敏原、不同的自身免疫性抗原、病原体的不同抗原、癌症或肿瘤抗原的不同同种型或变体、单名患者的不同肿瘤抗原、靶向一种蛋白质或一组蛋白质的不同表位的一组抗体中的一种抗体、代谢途径的不同蛋白质、在受试者中存在缺陷的一组蛋白质中的单一蛋白质、或用于分子疗法的蛋白质的不同同种型。

[0384] 更优选地,病原体选自由病毒、细菌、原生动物、朊病毒、真菌、类病毒和寄生虫所组成的组。

[0385] 优选地,病原体选自由以下各项所组成的组:鲍曼不动杆菌(Acinetobacter baumannii)、无形体属(Anaplasma genus)、嗜吞噬细胞无形体(Anaplasma phagocytophilum)、巴西钩口线虫(Ancylostoma braziliense)、十二指肠钩口线虫(Ancylostoma duodenale)、溶血隐秘杆菌(Arcanobacterium haemolyticum)、人蛔虫(Ascaris lumbricoides)、曲霉属(Aspergillus genus)、星状病毒科(Astroviridae)、巴贝虫属(Babesia genus)、炭疽芽孢杆菌(Bacillus anthracis)、蜡样芽胞杆菌(Bacillus cereus)、汉赛巴尔通体(Bartonella henselae)、BK病毒、人酵母菌(Blastocystis hominis)、皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、百日咳博德特氏菌(Bordetella pertussis)、博氏疏螺旋体(Borrelia burgdorferi)、疏螺旋体属(Borrelia genus)、疏螺旋体属某些种(Borrelia spp)、布鲁氏菌属(Brucella genus)、马来丝虫(Brugia malayi)、布尼亚病毒科(Bunyaviridae family)、洋葱伯克霍尔德菌(Burkholderia cepacia)和其它伯克霍尔德菌、鼻疽伯克霍尔德菌(Burkholderia mallei)、假鼻疽伯克霍尔德菌(Burkholderia pseudomallei)、杯状病毒科(Caliciviridae family)、弯曲菌属(Campylobacter genus)、白念珠菌(Candida albicans)、念珠菌属某些种(Candida spp)、沙眼衣原体(Chlamydia trachomatis)、肺炎嗜衣原体(Chlamydophila pneumoniae)、鹦鹉热衣原体(Chlamydophila psittaci)、CJD朊病毒、华枝睾吸虫(Clonorchis sinensis)、肉毒梭状芽胞杆菌(Clostridium botulinum)、艰难梭状芽胞杆菌(Clostridium difficile)、产气荚膜梭状芽胞杆菌(Clostridium perfringens)、产气荚膜梭状芽胞杆菌(Clostridium perfringens)、梭状芽胞杆菌属某些种(Clostridium spp)、破伤风梭状芽胞杆菌(Clostridium tetani)、球孢子菌属某些种(Coccidioides spp)、冠状病毒(coronaviruses)、白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheriae)、贝纳特氏立克次体(Coxiella burnetii)、克里米亚-刚果出血热病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)、新型隐球菌(Cryptococcus neoformans)、隐孢子虫属(Cryptosporidium genus)、巨细胞病毒(CMV)、登革热病毒(Dengue viruse)(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)、脆弱双核阿米巴(Dientamoeba fragilis)、埃博拉病毒(Ebolavirus)(EBOV)、棘球绦虫属

(Echinococcus genus)、恰菲埃里希氏体(Ehrlichia chaffeensis)、埃翁氏埃里希氏体(Ehrlichia ewingii)、埃里希氏体属(Ehrlichia genus)、溶组织内阿米巴(Entamoeba histolytica)、肠球菌属(Enterococcus genus)、肠道病毒属(Enterovirus genus)、肠道病毒(Enteroviruses)(主要为柯萨奇A病毒(Coxsackie A virus)和肠道病毒71(EV71))、表皮癣菌属某些种(Epidermophyton spp)、爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)、大肠埃希氏菌(O157:H7、O111和O104:H4)、肝片吸虫(Fasciola hepatica)和大片吸虫(Fasciola gigantica)、FFI朊病毒、丝虫目(Filarioidea)超家族、黄病毒属(Flaviviruses)、土拉热弗朗西斯氏菌(Francisella tularensis)、梭杆菌属(Fusobacterium genus)、白地霉(Geotrichum candidum)、肠贾第虫(Giardia intestinalis)、颚口虫属某些种(Gnathostoma spp)、GSS朊病毒、瓜纳瑞托病毒(Guanarito virus)、杜克雷氏嗜血杆菌(Haemophilus ducreyi)、流感嗜血杆菌(Haemophilus influenzae)、幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori)、亨尼帕病毒(Henipavirus)(亨德拉病毒、尼帕病毒)、甲型肝炎病毒(Hepatitis A Virus)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、单纯疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2)、夹膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)、HIV(人类免疫缺陷病毒)、威尼克外瓶霉(Hortaea werneckii)、人博卡病毒(Human bocavirus)(HBoV)、人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7)、人偏肺病毒(Human metapneumovirus)(hMPV)、人乳头瘤病毒(HPV)、人副流感病毒(HPIV)、日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus)、JC病毒、胡宁病毒(Junin virus)、金格杆菌(Kingella kingae)、肉芽肿杆菌(Klebsiella granulomatis)、库鲁朊病毒(Kuru prion)、拉沙病毒(Lassa virus)、嗜肺性军团病杆菌(Legionella pneumophila)、利什曼原虫属(Leishmania genus)、钩端螺旋体属(Leptospira genus)、单核细胞增多性李斯特菌(Listeria monocytogenes)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(Lymphocytic choriomeningitis virus)(LCMV)、马丘坡病毒(Machupo virus)、马拉色霉菌属某些种(Malassezia spp)、马尔堡病毒(Marburg virus)、麻疹病毒(Measles virus)、横川后殖吸虫(Metagonimus yokagawai)、微孢子虫门(Microsporidia phylum)、接触传染性软疣病毒(Molluscum contagiosum virus)(MCV)、腮腺炎病毒(Mumps virus)、麻风分枝杆菌(Mycobacterium leprae)和弥漫型麻风分枝杆菌(Mycobacterium lepromatosis)、结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis)、溃疡分枝杆菌(Mycobacterium ulcerans)、肺炎支原体(Mycoplasma pneumoniae)、福氏耐格里阿米巴(Naegleria fowleri)、美洲板口线虫(Necator americanus)、淋病奈瑟氏菌(Neisseria gonorrhoeae)、脑膜炎奈瑟氏菌(Neisseria meningitidis)、星形诺卡氏菌(Nocardia asteroides)、诺卡氏菌属某些种(Nocardia spp)、旋盘尾丝虫(Onchocerca volvulus)、恙虫病东方体(Orientia tsutsugamushi)、正粘病毒科(Orthomyxoviridae family)(流感病毒)、巴西副球孢子菌(Paracoccidioides brasiliensis)、并殖吸虫属某些种(Paragonimus spp)、卫氏并殖吸虫(Paragonimus westermani)、细小病毒B19(Parvovirus B19)、巴斯德菌属(Pasteurella genus)、疟原虫属(Plasmodium genus)、耶氏肺孢子虫(Pneumocystis jirovecii)、脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)、狂犬病病毒(Rabies virus)、呼吸道合胞体病毒(Respiratory syncytial virus)(RSV)、鼻病毒(Rhinovirus)、鼻病毒(rhinoviruses)、小蛛立克次氏体(Rickettsia akari)、立克次体属(Rickettsia genus)、普氏立克次体(Rickettsia

prowazekii)、立氏立克次体(Rickettsia rickettsii)、伤寒立克次体(Rickettsia typhi)、裂谷热病毒(Rift Valley fever virus)、轮状病毒(Rotavirus)、风疹病毒(Rubella virus)、萨比亚病毒(Sabia virus)、沙门氏菌属(Salmonella genus)、疥螨(Sarcoptes scabiei)、SARS冠状病毒、血吸虫属(Schistosoma genus)、志贺氏菌属(Shigella genus)、辛诺柏病毒(Sin Nombre virus)、汉坦病毒(Hantavirus)、申克孢子丝菌(Sporothrix schenckii)、葡萄球菌属(Staphylococcus genus)、葡萄球菌属(Staphylococcus genus)、无乳链球菌(Streptococcus agalactiae)、肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)、酿脓链球菌(Streptococcus pyogenes)、粪类圆线虫(Strongyloides stercoralis)、绦虫属(Taenia genus)、有钩绦虫(Taenia solium)、蜱传脑炎病毒(Tick-borne encephalitis virus)(TBEV)、犬弓蛔虫(Toxocara canis)或猫弓蛔线虫(Toxocara cati)、刚地弓形虫(Toxoplasma gondii)、苍白密螺旋体(Treponema pallidum)、旋毛虫(Trichinella spiralis)、阴道滴虫(Trichomonas vaginalis)、毛癣菌属某些种(Trichophyton spp)、毛首鞭虫(Trichuris trichiura)、布氏锥虫(Trypanosoma brucei)、克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)、解脲脲原体(Ureaplasma urealyticum)、水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus)(VZV)、水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus)(VZV)、重型天花(Variola major)或轻型天花(Variola minor)、vCJD朊病毒、委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)、霍乱弧菌(Vibrio cholerae)、西尼罗病毒(West Nile virus)、西方马脑炎病毒(Western equine encephalitis virus)、班氏线虫(Wuchereria bancrofti)、黄热病病毒(Yellow fever virus)、结肠炎耶尔森菌(Yersinia enterocolitica)、鼠疫耶尔森菌(Yersinia pestis)和假结核耶尔森菌(Yersinia pseudotuberculosis),病原体优选地选自由以下所组成的组:流感病毒、呼吸道合胞体病毒(RSV)、单纯疱疹病毒(HSV)、人乳头瘤病毒(HPV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、疟原虫(Plasmodium)、金黄色酿脓葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、登革病毒、沙眼衣原体、巨细胞病毒(Cytomegalovirus)(CMV)、乙型肝炎病毒(HBV)、结核分枝杆菌、狂犬病病毒、轮状病毒和黄热病病毒。

[0386] 在本发明方法的另一个优选的实施方式中,m种不同DNA分子种类中的每一种编码n种不同RNA分子种类中的一种或多种,其中n种不同RNA分子种类中的每一种编码不同的致病性抗原,该致病性抗原选自由以下各项所组成的组(在括号内列出生物体来源和相应疾病):流感病毒血凝素、流感病毒神经氨酸酶、流感病毒核蛋白、冠状病毒糖蛋白S、前列腺特异性抗原、外膜蛋白A OmpA、生物膜关联蛋白Bap、转运蛋白MucK(鲍曼不动杆菌(Acinetobacter baumannii)、不动杆菌属(Acinetobacter)感染);可变表面糖蛋白VSG、微管关联蛋白MAPP15、唾液酸转移酶TSA(布氏锥虫(Trypanosoma brucei)、非洲昏睡病(非洲锥虫病、African trypanosomiasis));HIV p24抗原、HIV包膜蛋白(Gp120、Gp41、Gp160)、多聚蛋白GAG、负向因子蛋白Nef、反式转录激活因子Tat(HIV(人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus))、AIDS(获得性免疫缺陷综合征(Acquired immunodeficiency syndrome)));半乳糖抑制性粘附蛋白GIAP、29kDa抗原Eh29、Gal/GalNAc凝集素、蛋白CRT、125kDa免疫优势抗原、蛋白M17、粘附素ADH112、蛋白STIRP(溶组织内阿米巴(Entamoeba histolytica)、阿米巴病(Amoebiasis));主要表面蛋白1-5(MSP1a、MSP1b、MSP2、MSP3、MSP4、MSP5)、IV型分泌系统蛋白(VirB2、VirB7、VirB11、VirD4)(无形体属(Anaplasma

genus)、无形体病)；保护性抗原PA、水肿因子EF、致死因子LF、S层同源蛋白SLH(炭疽芽孢杆菌(Bacillus anthracis)、炭疽病(Anthrax))；隐秘溶素、磷脂酶D、胶原蛋白结合蛋白CbpA(溶血隐秘杆菌(Arcanobacterium haemolyticum)、溶血隐秘杆菌感染(Arcanobacterium haemolyticum infection))；核衣壳蛋白NP、糖蛋白前体GPC、糖蛋白GP1、糖蛋白GP2(胡宁病毒、阿根廷出血热(Argentine hemorrhagic fever))；几丁质蛋白层蛋白、14kDa表面抗原A14、主要精子蛋白MSP、MSP聚合组织蛋白MPOP、MSP纤维蛋白2 MFP2、MSP聚合活化激酶MPAK、ABA-1样蛋白ALB、蛋白ABA-1、表皮质CUT-1(人蛔虫(Ascaris lumbricoides)、蛔虫病(Ascariasis))；41kDa过敏原Asp v13、过敏原Asp f3、主要分生孢子表面蛋白rodlet A、蛋白酶Pep1p、GPI锚定蛋白Gel1p、GPI锚定蛋白Crf1p(曲霉属(Aspergillus genus)、曲霉病(Aspergillosis))；家族VP26蛋白、VP29蛋白(星状病毒科(Astroviridae)、星状病毒感染(Astrovirus infection))；棒状体关联蛋白1RAP-1、裂殖子表面抗原MSA-1、MSA-2(a1、a2、b、c)、12D3、11C5、21B4、P29、变异红细胞表面抗原VESA1、顶端膜抗原1AMA-1(巴贝虫属(Babesia genus)、巴贝虫病(Babesiosis))；溶血素、肠毒素C、PXO1-51、乙醇酸氧化酶、ABC-转运蛋白、青霉素结合蛋白、锌转运蛋白家族蛋白、假尿苷合酶Rsu、质粒复制蛋白RepX、寡肽链内切酶F(oligoendopeptidase-F)、前噬菌体膜蛋白(prophage membrane protein)、蛋白HemK、鞭毛抗原H、28.5-kDa细胞表面抗原(蜡样芽胞杆菌(Bacillus cereus)、蜡样芽胞杆菌感染)；大型T抗原LT、小型T抗原、衣壳蛋白VP1、衣壳蛋白VP2(BK病毒、BK病毒感染)；29kDa-蛋白、半胱天冬酶-3样抗原、糖蛋白(人酵母菌(Blastocystis hominis)、人酵母菌感染)；酵母表面粘附素WI-1(皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、芽生菌病(Blastomycosis))；核蛋白N、聚合酶L、基质蛋白Z、糖蛋白GP(马丘坡病毒(Machupo virus)、玻利维亚出血热(Bolivian hemorrhagic fever))；外表面蛋白A OspA、外表面蛋白OspB、外表面蛋白OspC、核心蛋白聚糖结合蛋白A DbpA、核心蛋白聚糖结合蛋白B DbpB、鞭毛丝41kDa核心蛋白Fla、碱性膜蛋白A前体BmpA(免疫优势抗原P39)、外表面22kDa脂蛋白前体(抗原IPLA7)、可变表面脂蛋白vlsE(疏螺旋体属(Borrelia genus)、疏螺旋体属感染)；肉毒神经毒素BoNT/A1、BoNT/A2、BoNT/A3、BoNT/B、BoNT/C、BoNT/D、BoNT/E、BoNT/F、BoNT/G、重组肉毒毒素FHc结构域FHc(肉毒梭状芽胞杆菌(Clostridium botulinum)、肉毒中毒(和婴儿肉毒中毒))；核衣壳、糖蛋白前体(萨比亚病毒、巴西出血热(Brazilian hemorrhagic fever))；铜/锌超氧化物歧化酶SodC、细菌铁蛋白Bfr、50S核糖体蛋白RplL、含有OmpA样跨膜结构域的蛋白Omp31、免疫原性39-kDa蛋白M5P39、锌ABC转运蛋白周质锌结合蛋白znuA、周质免疫原性蛋白Bp26、30S核糖体蛋白S12RpsL、甘油醛-3-磷酸脱氢酶Gap、25kDa外膜免疫原性蛋白前体Omp25、侵袭蛋白B lalB、触发因子Tig、分子伴侣DnaK、推定的肽基脯氨酰顺反异构酶SurA、脂蛋白Omp19、外膜蛋白MotY Omp16、保守外膜蛋白D15、苹果酸脱氢酶Mdh、IV型分泌系统(T4SS)的组分VirJ、未知功能的脂蛋白BAB1_0187(布鲁氏菌属(Brucella genus)、布鲁氏菌病)；ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A BimA、细菌延伸因子-Tu EF-Tu、17kDa OmpA样蛋白、boaA编码蛋白、boaB编码蛋白(洋葱伯克霍尔德菌(Burkholderia cepacia)和其它伯克霍尔德菌、伯克霍尔德菌感染)；分枝酰基转移酶Ag85A、热休克蛋白Hsp65、蛋白TB10.4、19kDa抗原、蛋白PstS3、热休克蛋白Hsp70(溃疡分枝杆菌(Mycobacterium ulcerans)、布路里溃疡(Buruli

ulcer))；诺如病毒主要病毒衣壳蛋白VP1和次要病毒衣壳蛋白VP2及基因组多聚蛋白、沙波病毒衣壳蛋白VP1、蛋白Vp3及基因组多聚蛋白(杯状病毒科、杯状病毒感染(诺如病毒(Norovirus)和沙波病毒(Sapovirus)))；主要外膜蛋白PorA、鞭毛蛋白FlaA、表面抗原CjaA、纤连蛋白结合蛋白CadF、结合天冬氨酸/谷氨酸的ABC转运蛋白Peb1A、蛋白FspA1、蛋白FspA2(弯曲菌属(Campylobacter genus)、弯曲菌病(Campylobacteriosis))；糖酵解酶烯醇酶、分泌型天冬氨酰蛋白酶SAP1-10、糖磷脂酰肌醇(GPI)连接的细胞壁蛋白、蛋白Hyr1、补体受体3相关蛋白CR3-RP、粘附素Als3p、热休克蛋白90kDa hsp90、细胞表面疏水性蛋白CSH(通常为白念珠菌(Candida albicans)及其它念珠菌属种类、念珠菌病(Candidiasis))；17-kDa抗原、蛋白P26、三聚体自转运粘附素TAA、巴尔通体粘附素A BadA、可变表达的外膜蛋白质Vomp、蛋白Pap3、蛋白HbpA、包膜关联蛋白酶HtrA、蛋白OMP89、蛋白GroEL、蛋白LalB、蛋白OMP43、二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶SucB(汉赛巴尔通体(Bartonella henselae)、猫抓病(Cat-scratch disease))；无鞭毛体表面蛋白-2、无鞭毛体特异性表面蛋白SSP4、克鲁兹蛋白酶、反式唾液酸酶TS、锥虫体表面乙二醇蛋白TSA-1、补体调节蛋白CRP-10、蛋白G4、蛋白G2、副轴杆蛋白PAR2、副鞭毛杆组分Par1、黏蛋白关联表面蛋白MPSP(克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)、恰加斯病(Chagas Disease)(美洲锥虫病(American trypanosomiasis)))；包膜糖蛋白(gB、gC、gE、gH、gI、gK、gL)(水痘-带状疱疹病毒(Varicella zoster virus)(VZV)、水痘(Chickenpox))；主要外膜蛋白MOMP、可能的外膜蛋白PMPC、外膜复合蛋白B OmcB、热休克蛋白Hsp60HSP10、蛋白IncA、来自III型分泌系统的蛋白质、核糖核苷酸还原酶小链蛋白NrdB、质粒蛋白Pgp3、衣原体外蛋白N CopN、抗原CT521、抗原CT425、抗原CT043、抗原TC0052、抗原TC0189、抗原TC0582、抗原TC0660、抗原TC0726、抗原TC0816、抗原TC0828(沙眼衣原体(Chlamydia trachomatis)、衣原体)；低钙反应蛋白ELCrE、衣原体外蛋白N CopN、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PknD、酰基载体-蛋白S-丙二酰转移酶FabD、单链DNA结合蛋白Ssb、主要外膜蛋白MOMP、外膜蛋白2Omp2、多态性膜蛋白家族(Pmp1、Pmp2、Pmp3、Pmp4、Pmp5、Pmp6、Pmp7、Pmp8、Pmp9、Pmp10、Pmp11、Pmp12、Pmp13、Pmp14、Pmp15、Pmp16、Pmp17、Pmp18、Pmp19、Pmp20、Pmp21)(肺炎嗜衣原体(Chlamydophila pneumoniae)、肺炎嗜衣原体感染)；霍乱毒素B CTB、毒素共调菌毛蛋白A TcpF、毒素共调菌毛蛋白TcpF、毒素共调菌毛生物合成蛋白F TcpF、霍乱肠毒素亚基A、霍乱肠毒素亚基B、热稳定肠毒素ST、甘露糖敏感血凝素MSHA、外膜蛋白U孔蛋白ompU、Poring B蛋白、多态性膜蛋白-D(霍乱弧菌(Vibrio cholerae)、霍乱)；丙酰辅酶A羧化酶PCC、14-3-3蛋白、抑制素蛋白、半胱氨酸蛋白酶、谷胱甘肽转移酶、凝胶溶素、组织蛋白酶L蛋白酶CatL、表膜蛋白20.8kDa TP20.8、表膜蛋白31.8kDa TP31.8、溶血磷脂酸磷酸酶LPAP(华枝睾吸虫(Clonorchis sinensis)、支睾吸虫病(Clonorchiasis))；表层蛋白SLP、谷氨酸脱氢酶抗原GDH、毒素A、毒素B、半胱氨酸蛋白酶Cwp84、半胱氨酸蛋白酶Cwp13、半胱氨酸蛋白酶Cwp19、细胞壁蛋白CwpV、鞭毛蛋白FliC、鞭毛蛋白FliD(艰难梭状芽胞杆菌(Clostridium difficile)、艰难梭状芽胞杆菌感染)；鼻病毒：衣壳蛋白VP1、VP2、VP3、VP4、冠状病毒：纤突蛋白S、多种包膜蛋白E、多种膜蛋白M、多种核衣壳蛋白N(通常为鼻病毒和冠状病毒、普通感冒(急性病毒鼻咽炎；急性鼻炎))；朊病毒蛋白Prp(CJD朊病毒、克雅二氏症(Creutzfeldt-Jakob disease)(CJD))；包膜蛋白Gc、包膜蛋白Gn、核衣壳蛋白(克里米亚-刚果出血热病毒、克里米亚-刚果出血热(CCHF))；毒力关联DEAD盒RNA解旋酶VAD1、半乳糖木糖甘露聚糖-蛋白GalXM、葡萄糖醛酰木

糖基甘露聚糖GXM、甘露糖蛋白MP(新型隐球菌、隐球菌病(Cryptococcosis))；酸性核糖体蛋白P2CpP2、粘蛋白抗原Muc1、Muc2、Muc3 Muc4、Muc5、Muc6、Muc7、表面粘附蛋白CP20、表面粘附蛋白CP23、表面蛋白CP12、表面蛋白CP21、表面蛋白CP40、表面蛋白CP60、表面蛋白CP15、表面关联糖肽gp40、表面关联糖肽gp15、卵囊壁蛋白AB、抑制蛋白PRF、腺苷三磷酸双磷酸酶(隐孢子虫属(Cryptosporidium genus)、隐孢子虫病(Cryptosporidiosis))；脂肪酸和视黄醇结合蛋白-1FAR-1、金属蛋白酶组织抑制剂TIMP(TMP)、半胱氨酸蛋白酶ACEY-1、半胱氨酸蛋白酶ACCP-1、表面抗原Ac-16、分泌蛋白2ASP-2、金属蛋白酶1 MTP-1、天冬氨酰蛋白酶抑制剂API-1、表面关联抗原SAA-1、成人特异性分泌因子Xa丝氨酸蛋白酶抑制剂抗凝血剂AP、组织蛋白酶D样天冬氨酸蛋白酶ARR-1(通常为巴西钩口线虫(Ancylostoma braziliense)；多种其它寄生虫、皮肤幼虫移行症(CLM))；组织蛋白酶L样蛋白酶、53/25-kDa抗原、8kDa家族成员、具有微弱胰蛋白酶样活性的囊尾蚴蛋白TsAg5、六钩蚴蛋白TSOL18、六钩蚴蛋白TSOL45-1A、乳酸脱氢酶A LDHA、乳酸脱氢酶B LDHB(有钩绦虫(Taenia solium)、囊尾幼虫病)；pp65抗原、膜蛋白pp15、衣壳近端表膜蛋白pp150、蛋白M45、DNA聚合酶UL54、解旋酶UL105、糖蛋白gM、糖蛋白gN、糖蛋白H、糖蛋白B gB、蛋白UL83、蛋白UL94、蛋白UL99(巨细胞病毒(Cytomegalovirus)(CMV)、巨细胞病毒感染)；衣壳蛋白C、膜前蛋白prM、膜蛋白M、包膜蛋白E(结构域I、结构域II、结构域II)、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白NS2B、蛋白NS3、蛋白NS4A、蛋白2K、蛋白NS4B、蛋白NS5(登革热病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)黄病毒属、登革热)；39kDa蛋白质(脆弱双核阿米巴、双核阿米巴病)；白喉毒素前体Tox、白喉毒素DT、菌毛蛋白特异性分选酶SrtA、杆状菌毛蛋白(shaft pilin protein)SpaA、顶端菌毛蛋白(tip pilin protein)SpaC、次要菌毛蛋白SpaB、表面关联蛋白DIP1281(白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheriae)、白喉)；糖蛋白GP、核蛋白NP、次要基质蛋白VP24、主要基质蛋白VP40、转录激活因子VP30、聚合酶辅因子VP35、RNA聚合酶L(埃博拉病毒(EBOV)、埃博拉出血热)；朊病毒蛋白(vCJD朊病毒、克雅二氏病变体(vCJD、nvCJD))；UvrABC系统蛋白B、蛋白Flp1、蛋白Flp2、蛋白Flp3、蛋白TadA、血红蛋白受体HgbA、外膜蛋白TdhA、蛋白CpsRA、调节因子CpxR、蛋白SapA、18kDa抗原、外膜蛋白NcaA、蛋白LspA、蛋白LspA1、蛋白LspA2、蛋白LspB、外膜组分DsrA、凝集素DltA、脂蛋白Hlp、主要外膜蛋白OMP、外膜蛋白OmpA2(杜克雷氏嗜血杆菌(Haemophilus ducreyi)、软下疳(Chancroid))；天冬氨酰蛋白酶1Pep1、磷脂酶B PLB、α-甘露糖苷酶1AMN1、葡聚糖基转移酶GEL1、尿素酶URE、过氧化物酶体基质蛋白Pmp1、富含脯氨酸的抗原Pra、人T细胞反应蛋白TcrP(粗球孢子菌(Coccidioides immitis)和球孢子菌属posadasii、球孢子菌病)；过敏原Tri r2、热休克蛋白60 Hsp60、真菌肌动蛋白Act、抗原Tri r2、抗原Tri r4、抗原Tri t1、蛋白IV、甘油-3-磷酸脱氢酶Gpd1、渗透感应因子HwSho1A、渗透感应因子HwSho1B、组氨酸激酶HwHhk7B、过敏原Mala s1、过敏原Mala s11、硫氧还蛋白Trx Mala s13、过敏原Mala f、过敏原Mala s(通常为毛癣菌属某些种、表皮癣菌属某些种、马拉色霉菌属某些种、威尼克外瓶霉、皮肤癣菌病)；蛋白EG95、蛋白EG10、蛋白EG18、蛋白EgA31、蛋白EM18、抗原EPC1、抗原B、抗原5、蛋白P29、蛋白14-3-3、8-kDa蛋白、亲肌肉抗原、热休克蛋白20 HSP20、糖蛋白GP-89、脂肪酸结合蛋白FAPB(棘球绦虫属(Echinococcus genus)、包虫病(Echinococcosis))；主要表面蛋白2 MSP2、主要表面蛋白4 MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19 OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编

码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白(埃里希氏体属、埃里希氏体病)；分泌抗原SagA、sagA样蛋白Sa1A和Sa1B、胶原粘附素Scm、表面蛋白Fms1(EbpA(fm)、Fms5(EbpB(fm)、Fms9(EpbC(fm)和Fms10、蛋白EbpC(fm)、96kDa免疫保护性糖蛋白G1(棘球绦虫属、棘球绦虫属感染)；基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C(肠道病毒属、肠道病毒感染)；外膜蛋白OM、60kDa外膜蛋白、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、134kDa外膜蛋白、31kDa外膜蛋白、29.5kDa外膜蛋白、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白Adr1(RP827)、细胞表面蛋白Adr2(RP828)、细胞表面蛋白SCA1、侵袭蛋白invA、细胞分裂蛋白fts、sec家族的分泌蛋白、毒力蛋白virB、tlyA、tlyC、细小蛋白样蛋白Plp(parvulin-like protein Plp)、蛋白前体移位酶SecA、120-kDa表面蛋白抗原SPA、138 kD复合抗原、主要100-kD蛋白(蛋白I)、胞质内蛋白D、保护性表面蛋白抗原SPA(普氏立克次体、流行性斑疹伤寒)；爱泼斯坦-巴尔核抗原(EBNA-1、EBNA-2、EBNA-3A、EBNA-3B、EBNA-3C、EBNA-前导蛋白(EBNA-LP))、潜伏膜蛋白(LMP-1、LMP-2A、LMP-2B)、早期抗原EBV-EA、膜抗原EBV-MA、病毒衣壳抗原EBV-VCA、碱性核酸酶EBV-AN、糖蛋白H、糖蛋白gp350、糖蛋白gp110、糖蛋白gp42、糖蛋白gHgL、糖蛋白gB(爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)、爱泼斯坦-巴尔病毒感染性单核细胞增多症)；衣壳蛋白VP2、衣壳蛋白VP1、主要蛋白NS1(细小病毒B19、传染性红斑(第五疾病))；pp65抗原、糖蛋白105、主要衣壳蛋白、包膜糖蛋白H、蛋白U51(人疱疹病毒6(HHV-6)和人疱疹病毒7(HHV-7)、猝发疹(Exanthem subitum))；硫氧还蛋白-谷胱甘肽还原酶TGR、组织蛋白酶L1和L2、Kunitz型蛋白KTM、亮氨酸氨肽酶LAP、半胱氨酸蛋白酶Fas2、皂素样蛋白-2SAP-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPx、Prx-1、Prx-2、组织蛋白酶1半胱氨酸蛋白酶CL3、蛋白酶组织蛋白酶L CL1、磷酸甘油酸激酶PGK、27-kDa分泌蛋白、60kDa蛋白HSP35α、谷胱甘肽转移酶GST、28.5kDa表膜蛋白抗原28.5 kDa TA、组织蛋白酶B3蛋白酶CatB3、I型半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白stefin-1、组织蛋白酶L5、组织蛋白酶L1g和组织蛋白酶B、脂肪酸结合蛋白FABP、亮氨酸氨肽酶LAP(肝片吸虫和大片吸虫、肝片吸虫病)；朊病毒蛋白(FFI朊病毒、致命性家族性失眠症(FFI))；毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白CPI-2、Cox-2(丝虫目超家族、丝虫病)；磷脂酶C PLC、不耐热肠毒素B、ι毒素组分Ib、蛋白CPE1281、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶、延伸因子G EF-G、产气荚膜梭状芽胞杆菌溶素(perfringolysin)O Pfo、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GapC、果糖二磷酸醛缩酶Alf2、产气荚膜梭状芽胞杆菌肠毒素CPE、α毒素AT、α类毒素ATd、ε-类毒素ETd、蛋白HP、大型细胞毒素TpeL、内切-β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶Naglu、磷酸甘油酸变位酶Pgm(产气荚膜梭状芽胞杆菌、产气荚膜梭状芽胞杆菌的食物中毒)；白细胞毒素lktA、粘附蛋白FadA、外膜蛋白RadD、高分子量精氨酸结合蛋白(梭杆菌属、梭杆菌属感染)；磷脂酶C PLC、不耐热肠毒素B、ι毒素成分Ib、蛋白CPE1281、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶、延伸因子G EF-G、产气荚膜梭状芽胞杆菌溶

素O Pfo、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GapC、果糖二磷酸醛缩酶Alf2、产气荚膜梭状芽胞杆菌肠毒素CPE、α毒素AT、α类毒素ATd、ε-类毒素ETd、蛋白HP、大型细胞毒素TpeL、内切-β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶Naglu、磷酸甘油酸变位酶Pgm(通常为产气荚膜梭状芽胞杆菌;其它梭状芽胞杆菌属种类、气性坏疽(Gas gangrene)(气性坏疽(Clostridial myonecrosis));脂肪酶A、脂肪酶B、过氧化物酶Dec1(白地霉、地霉病);朊病毒蛋白(GSS朊病毒、Gerstmann-Sträussler-Scheinker综合征(GSS));胞壁蛋白CWP1、CWP2、CWP3、变体表面蛋白VSP、VSP1、VSP2、VSP3、VSP4、VSP5、VSP6、56kDa抗原、丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶PFOR、醇脱氢酶E ADHE、α-贾第素、α8-贾第素、α1-贾第素、β-贾第素、半胱氨酸蛋白酶、谷胱甘肽-S-转移酶GST、精氨酸脱亚胺酶ADI、果糖-1,6-二磷酸醛缩酶FBA、贾第鞭毛虫滋养体抗原GTA(GTA1、GTA2)、鸟氨酸羧基转移酶OCT、横纹纤维-装配蛋白样蛋白SALP、尿苷磷酰基样蛋白UPL、α-微管蛋白、β-微管蛋白(肠贾第虫、贾第虫病);ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A BimA、细菌延伸因子-Tu EF-Tu、17kDa OmpA-样蛋白、boaA编码蛋白(鼻疽伯克霍尔德菌、鼻疽病);亲环蛋白CyP、24kDa第三阶段幼虫蛋白GS24、排泄-分泌产物ESP(40kDa、80kDa、120kDa和208kDa)(棘颚口线虫(Gnathostoma spinigerum)和刚棘颚口线虫(Gnathostoma hispidum)、颚口线虫病);菌毛蛋白、次要菌毛蛋白关联亚基pilC、主要菌毛蛋白亚基和变体pilE、pilS、相变异蛋白porA、孔蛋白B PorB、蛋白TraD、奈瑟氏菌外膜抗原H.8、70kDa抗原、主要外膜蛋白PI、外膜蛋白P1A和P1B、W抗原、表面蛋白A NspA、转铁蛋白结合蛋白TbpA、转铁蛋白结合蛋白TbpB、PBP2、mtrR编码蛋白、ponA编码蛋白、膜通透酶FbpBC、FbpABC蛋白系统、LbpAB蛋白、外膜蛋白Opa、外膜转运蛋白FetA、铁抑制调节因子MpeR(淋病奈瑟氏菌、淋病);外膜蛋白A OmpA、外膜蛋白C OmpC、外膜蛋白K17 OmpK17(肉芽肿克雷伯氏菌、腹股沟肉芽肿(杜诺凡病(Donovanosis)));纤连蛋白结合蛋白Sfb、纤连蛋白/纤维蛋白原结合蛋白FBP54、纤连蛋白结合蛋白FbaA、M蛋白1型Emm1、M蛋白6型Emm6、免疫球蛋白结合蛋白35Sib35、表面蛋白R28Spr28、超氧化物歧化酶SOD、C5a肽酶ScpA、抗原I/II AgI/II、粘附素AspA、G相关的α2-巨型球蛋白结合蛋白GRAB、表面纤维蛋白M5(酿脓链球菌、A组链球菌感染);C蛋白β抗原、精氨酸脱亚胺酶蛋白、粘附素BibA、105 kDA蛋白BPS、表面抗原c、表面抗原R、表面抗原X、胰蛋白酶抗性蛋白R1、胰蛋白酶抗性蛋白R3、胰蛋白酶抗性蛋白R4、表面免疫原性蛋白Sip、表面蛋白Rib、富含亮氨酸重复的蛋白LrrG、富含丝氨酸的重复蛋白Srr-2、C蛋白α-抗原Bca、β抗原Bag、表面抗原ε、α-样蛋白ALP1、α-样蛋白ALP5表面抗原δ、α-样蛋白ALP2、α-样蛋白ALP3、α-样蛋白ALP4、Cβ蛋白Bac(无乳链球菌、B组链球菌感染);转铁蛋白结合蛋白2 Tbp2、磷酸酶P4、外膜蛋白P6、肽聚糖关联脂蛋白Pal、蛋白D、蛋白E、粘附穿透蛋白Hap、外膜蛋白26 Omp26、外膜蛋白P5(Fimbrin)、外膜蛋白D15、外膜蛋白OmpP2、5'-核苷酸酶NucA、外膜蛋白P1、外膜蛋白P2、外膜脂蛋白Pcp、脂蛋白E、外膜蛋白P4、墨角藻糖激酶FucK、[Cu,Zn]-超氧化物歧化酶SodC、蛋白酶HtrA、蛋白质O145、α-半乳糖基神经酰胺(流感嗜血杆菌、流感嗜血杆菌感染);聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C(肠道病毒、主要是柯萨奇A病毒和肠道病毒71(EV71)、手足口病(HFMD));RNA聚合酶L、蛋白质L、糖蛋白Gn、糖蛋白Gc、核衣壳蛋白S、包膜糖蛋白G1、核蛋白NP、蛋白N、多聚蛋白M(辛诺柏病毒、汉坦病毒、汉坦病毒肺综合征(HPS));热休克蛋白HspA、热休克蛋白HspB、柠檬酸合酶GltA、蛋白UreB、热休克蛋白

Hsp60、嗜中性粒细胞活化蛋白NAP、过氧化氢酶KatA、空泡细胞毒素VacA、脲素酶αUreA、尿素酶βUreb、蛋白Cpn10、蛋白groES、热休克蛋白Hsp10、蛋白MopB、细胞毒性相关的10kDa蛋白CAG、36kDa抗原、β-内酰胺酶HcpA、β-内酰胺酶HcpB(幽门螺旋杆菌、幽门螺旋杆菌感染)；整合膜蛋白、容易发生聚集的蛋白、O-抗原、毒素-抗原Stx2B、毒素抗原Stx1B、粘附抗原片段Int28、蛋白EspA、蛋白EspB、紧密黏附素、蛋白Tir、蛋白IntC300、蛋白Eae(大肠埃希菌O157:H7、O111和O104:H4、溶血性尿毒症综合征(HUS))；RNA聚合酶L、蛋白质L、糖蛋白Gn、糖蛋白Gc、核衣壳蛋白S、包膜糖蛋白G1、核蛋白NP、蛋白N、多聚蛋白M(布尼亚病毒科、肾综合征出血热(HFRS))；糖蛋白G、基质蛋白M、核蛋白N、融合蛋白F、聚合酶L、蛋白W、蛋白C、磷蛋白p、非结构蛋白V(亨尼帕病毒、亨德拉病毒、尼帕病毒、亨尼帕病毒感染)；多聚蛋白、糖蛋白Gp2、甲型肝炎表面抗原HBAg、蛋白2A、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、蛋白P1B、蛋白P2A、蛋白P3AB、蛋白P3D(甲型肝炎病毒、甲型肝炎)；乙型肝炎表面抗原HBsAg、乙型肝炎核心抗原HbcAg、聚合酶、蛋白Hbx、preS2中间表面蛋白、表面蛋白L、大型S蛋白、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4(乙型肝炎病毒(HBV)、乙型肝炎)；包膜糖蛋白E1gp32 gp35、包膜糖蛋白E2 NS1 gp68 gp70、衣壳蛋白C、核心蛋白Core、多聚蛋白、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、抗原G、蛋白NS3、蛋白NS5A(丙型肝炎病毒、丙型肝炎)；病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、大型肝炎δ抗原、小型肝炎δ抗原(丁型肝炎病毒、丁型肝炎)；病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4、衣壳蛋白E2(戊型肝炎病毒、戊型肝炎)；糖蛋白L UL1、尿嘧啶-DNA糖基化酶UL2、蛋白UL3、蛋白UL4、DNA复制蛋白UL5、门蛋白UL6、病毒体成熟蛋白UL7、DNA解旋酶UL8、复制起点结合蛋白UL9、糖蛋白M UL10、蛋白UL11、碱性核酸外切酶UL12、丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶UL13、表膜蛋白UL14、终止酶UL15、表膜蛋白UL16、蛋白UL17、衣壳蛋白VP23UL18、主要衣壳蛋白VP5UL19、膜蛋白UL20、表膜蛋白UL21、糖蛋白H(UL22)、胸苷激酶UL23、蛋白UL24、蛋白UL25、衣壳蛋白P40(UL26、VP24、VP22A)、糖蛋白B(UL27)、ICP18.5蛋白(UL28)、主要DNA结合蛋白ICP8(UL29)、DNA聚合酶UL30、核基质蛋白UL31、包膜糖蛋白UL32、蛋白UL33、内核膜蛋白UL34、衣壳蛋白VP26(UL35)、大型表膜蛋白UL36、衣壳装配蛋白UL37、VP19C蛋白(UL38)、核糖核苷酸还原酶(大亚基)UL39、核糖核苷酸还原酶(小亚基)UL40、表膜蛋白/病毒体宿主关闭VHS蛋白(UL41)、DNA聚合酶持续合成因子UL42、膜蛋白UL43、糖蛋白C(UL44)、膜蛋白UL45、表膜蛋白VP11/12(UL46)、表膜蛋白VP13/14(UL47)、病毒体成熟蛋白VP16(UL48、α-TIF)、包膜蛋白UL49、dUTP二磷酸酶UL50、表膜蛋白UL51、DNA解旋酶/引发酶复合蛋白UL52、糖蛋白K(UL53)、转录调节蛋白IE63(ICP27、UL54)、蛋白UL55、蛋白UL56、病毒复制蛋白ICP22(IE68、US1)、蛋白US2、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶US3、糖蛋白G(US4)、糖蛋白J(US5)、糖蛋白D(US6)、糖蛋白I(US7)、糖蛋白E(US8)、表膜蛋白US9、衣壳/表膜蛋白US10、Vmw21蛋白(US11)、ICP47蛋白(IE12、US12)、主要转录激活因子ICP4(IE175、RS1)、E3泛素连接酶ICP0(IE110)、潜伏期相关蛋白1 LRP1、潜伏期相关蛋白2 LRP2、神经毒力因子RL1(ICP34.5)、潜伏期关联转录物LAT(单纯性疱疹病毒1和2(HSV-1和HSV-2)、单纯性疱疹)；热休克蛋白Hsp60、细胞表面蛋白H1C、二肽基肽酶IV型DppIV、M抗原、70kDa蛋白、17kDa组蛋白样蛋白(夹膜组织胞浆菌、组织胞浆菌病)；脂肪酸和视黄醇结合蛋白-1 FAR-1、金属蛋白酶组织抑制剂TIMP(TMP)、半胱氨酸蛋白酶ACEY-1、半胱氨酸蛋白酶ACCP-1、表面抗原Ac-16、分泌蛋白2 ASP-2、金属蛋白酶1 MTP-1、天冬氨酰蛋白酶抑制剂API-1、表面

关联抗原SAA-1、表面关联抗原SAA-2、成人特异性分泌因子Xa、丝氨酸蛋白酶抑制剂抗凝血剂AP、组织蛋白酶D样天冬氨酸蛋白酶ARR-1、谷胱甘肽S-转移酶GST、天冬氨酸蛋白酶APR-1、乙酰胆碱酯酶AChE(十二指肠钩口线虫和美洲板口线虫、钩虫感染);蛋白NS1、蛋白NP1、蛋白VP1、蛋白VP2、蛋白VP3(人博卡病毒(HBoV)、人博卡病毒感染);主要表面蛋白2 MSP2、主要表面蛋白4 MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19 OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白(埃翁氏埃里希氏体、人埃翁氏埃里希氏体病);主要表面蛋白1-5(MSP1a、MSP1b、MSP2、MSP3、MSP4、MSP5)、IV型分泌系统蛋白VirB2、VirB7、VirB11、VirD4(嗜吞噬细胞无形体、人粒细胞无形体病(HGA));蛋白NS1、小型疏水蛋白NS2、SH蛋白、融合蛋白F、糖蛋白G、基质蛋白M、基质蛋白M2-1、基质蛋白M2-2、磷蛋白P、核蛋白N、聚合酶L(人偏肺病毒(hMPV)、人偏肺病毒感染);主要表面蛋白2 MSP2、主要表面蛋白4 MSP4、MSP变体SGV1、MSP变体SGV2、外膜蛋白OMP、外膜蛋白19 OMP-19、主要抗原性蛋白MAP1、主要抗原性蛋白MAP1-2、主要抗原性蛋白MAP1B、主要抗原性蛋白MAP1-3、Erum2510编码蛋白、蛋白GroEL、蛋白GroES、30-kDA主要外膜蛋白、GE 100-kDa蛋白、GE 130-kDa蛋白、GE 160-kDa蛋白(恰菲埃里希氏体、人类单核细胞的埃里希氏体病毒感染);复制蛋白E1、调节蛋白E2、蛋白E3、蛋白E4、蛋白E5、蛋白E6、蛋白E7、蛋白E8、主要衣壳蛋白L1、次要衣壳蛋白L2(人乳头瘤病毒(HPV)、人乳头瘤病毒(HPV)感染);融合蛋白F、血凝素-神经氨酸酶HN、糖蛋白G、基质蛋白M、磷蛋白P、核蛋白N、聚合酶L(人副流感病毒(HPIV)、人副流感病毒感染);血凝素(HA)、神经氨酸酶(NA)、核蛋白(NP)、M1蛋白、M2蛋白、NS1蛋白、NS2蛋白(NEP蛋白:核输出蛋白)、PA蛋白、PB1蛋白(聚合酶碱性蛋白1)、PB1-F2蛋白和PB2蛋白(正粘病毒科、流感病毒(flu));基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C(日本脑炎病毒、日本脑炎);RTX毒素、IV型菌毛、主要菌毛亚基PilA、调节性转录因子PilS和PilR、蛋白σ54、外膜蛋白(金格杆菌、金格杆菌感染);朊病毒蛋白(库鲁朊病毒、库鲁);核蛋白N、聚合酶L、基质蛋白Z、糖蛋白GP(拉沙病毒、拉沙热);肽聚糖关联脂蛋白PAL、60kDa伴侣蛋白Cpn60(groEL、HspB)、IV型菌毛蛋白PilE、外膜蛋白MIP、主要外膜蛋白MompS、锌金属蛋白酶MSP(嗜肺性军团病杆菌、军团菌病(军团菌病(Legionnaires'disease)、庞提阿克热(Pontiac fever)));P4核酸酶、蛋白WD、核糖核苷酸还原酶M2、表面膜糖蛋白Pg46、半胱氨酸蛋白酶CP、葡萄糖调节蛋白78 GRP-78、阶段特异性S抗原样蛋白A2、ATP酶F1、β-微管蛋白、热休克蛋白70 Hsp70、KMP-11、糖蛋白GP63、蛋白BT1、核苷水解酶NH、细胞表面蛋白B1、核糖体蛋白P1样蛋白P1、固醇24-c-甲基转移酶SMT、LACK蛋白、组蛋白H1、SPB1蛋白、巯基特异性抗氧化因子TSA、蛋白质抗原ST11、信号肽酶SP、组蛋白H2B、表面抗原PSA-2、半胱氨酸蛋白酶b Cpb(利什曼原虫属、利什曼病);主要膜蛋白I、富含丝氨酸的抗原-45kDa、10kDa伴侣蛋白GroES、HSP kDa抗原、氨基氧代壬酸合酶AONS、蛋白重组酶A RecA、乙酰/丙酰辅酶A羧化酶α、丙氨酸消旋酶、60kDa伴侣蛋白2、ESAT-6样蛋白EcxB(L-ESAT-6)、蛋白Lsr2、蛋白ML0276、肝素结合血凝素HBHA、热休克蛋白65 Hsp65、mycP1或ML0041编码蛋白、htrA2或ML0176编码蛋白、htrA4或ML2659编码蛋白、gcp或ML0379编码蛋白、clpC或ML0235编码蛋白(麻风分枝杆菌和弥漫型麻风分枝杆菌、麻风病);外膜蛋白LipL32、膜蛋白LIC10258、膜蛋白LP30、膜蛋白LIC12238、Ompa样蛋白Lsa66、表面蛋白LigA、表面蛋白LigB、主要外膜蛋白OmpL1、外膜蛋白LipL41、蛋白LigAni、

表面蛋白LcpA、粘附蛋白LipL53、外膜蛋白UpL32、表面蛋白Lsa63、鞭毛蛋白FlaB1、膜脂蛋白LipL21、膜蛋白pL40、钩端螺旋体表面粘附素Lsa27、外膜蛋白OmpL36、外膜蛋白OmpL37、外膜蛋白OmpL47、外膜蛋白OmpL54、酰基转移酶LpxA(钩端螺旋体属、细螺旋体病);李斯特菌溶素O前体Hly(LLO)、侵袭关联蛋白Iap(P60)、李斯特菌溶素调节蛋白PrfA、锌金属蛋白酶Mpl、磷脂酰肌醇特异性磷脂酶C PLC(PlcA、PlcB)、O-乙酰基转移酶Oat,、ABC-转运蛋白通透酶Im.G_1771、粘附蛋白LAP、LAP受体Hsp60、粘附素LapB、溶血素李斯特菌溶素O LLO、蛋白ActA、内化蛋白A InlA、蛋白lnlB(单核细胞增多性李斯特菌、李斯特菌病);外表面蛋白A OspA、外表面蛋白OspB、外表面蛋白OspC、核心蛋白聚糖结合蛋白A DbpA、核心蛋白聚糖结合蛋白B DbpB、鞭毛丝41kDa核心蛋白Fla、碱性膜蛋白A BmpA(免疫优势抗原P39)、外表面22kDa脂蛋白前体(抗原IPLA7)、可变表面脂蛋白vlsE(通常为博氏疏螺旋体和其它疏螺旋体属种类、莱姆病(莱姆疏螺旋体病(Lyme borreliosis)));毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1 ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白CPI-2、蛋白Cox-2(班氏线虫和马来丝虫、淋巴丝虫病(象皮病));糖蛋白GP、基质蛋白Z、聚合酶L、核蛋白N(淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎);血小板反应蛋白相关的无名蛋白TRAP、SSP2子孢子表面蛋白2、顶端膜抗原1 AMA1、棒状体膜抗原RMA1、酸碱重复抗原ABRA、细胞穿越蛋白PF、蛋白Pvs25、裂殖子表面蛋白1 MSP-1、裂殖子表面蛋白2 MSP-2、环状体感染的红细胞表面抗原RESA肝阶段抗原3 LSA-3、蛋白Eba-175、丝氨酸重复抗原5 SERA-5、环子孢子蛋白CS、裂殖子表面蛋白3 MSP3、裂殖子表面蛋白8 MSP8、烯醇酶PF10、肝细胞红细胞蛋白17kDa HEP17、红细胞膜蛋白1 EMP1、蛋白质Kβ裂殖子表面蛋白4/5 MSP4/5、热休克蛋白Hsp90、富含谷氨酸的蛋白GLURP、裂殖子表面蛋白4 MSP-4、蛋白STARP、环子孢子蛋白相关抗原前体CRA(疟原虫属、疟疾);核蛋白N、膜关联蛋白VP24、次要核蛋白VP30、聚合酶辅因子VP35、聚合酶L、基质蛋白VP40、包膜糖蛋白GP(马尔堡病毒、马尔堡出血热(MHF));蛋白C、基质蛋白M、磷蛋白P、非结构蛋白V、血凝素糖蛋白H、聚合酶L、核蛋白N、融合蛋白F(麻疹病毒、麻疹);ABC转运蛋白家族成员(LolC、OppA和PotF)、推定的脂蛋白释放系统跨膜蛋白LolC/E、鞭毛蛋白FliC、伯克霍尔德菌胞内运动相关蛋白A(BimA)、细菌延伸因子-Tu EF-Tu、17kDa OmpA样蛋白、boaA编码蛋白、boaB编码蛋白(假鼻疽伯克霍尔德菌、类鼻疽(惠特莫尔氏病));菌毛蛋白、次要菌毛蛋白关联亚基pilC、主要菌毛蛋白亚基和变体pilE、pilS、相变异蛋白porA、孔蛋白B PorB、蛋白TraD、奈瑟氏菌外膜抗原H.8、70kDa抗原、主要外膜蛋白PI、外膜蛋白P1A和P1B、W抗原、表面蛋白A NspA、转铁蛋白结合蛋白TbpA、转铁蛋白结合蛋白TbpB、PBP2、mtrR编码蛋白、ponA编码蛋白、膜通透酶FbpBC、FbpABC蛋白系统、LbpAB蛋白、外膜蛋白Opa、外膜转运蛋白FetA、铁抑制调节因子MpeR、因子H结合蛋白fHbp、粘附素NadA、蛋白NhbA、阻抑蛋白FarR(脑膜炎奈瑟氏菌、脑膜炎球菌病);66kDa蛋白、22kDa蛋白(通常为横川后殖吸虫、后殖吸虫病);极管蛋白(对于格留虫属(Glugea)为34kDa、75kDa和170kDa、对于脑炎微孢子虫属

(Encephalitozoon)为35kDa、55kDa和150kDa)、驱动蛋白相关蛋白、RNA聚合酶II最大亚基、整合膜蛋白YIPA相似物、抗沉默蛋白1、热休克转录因子HSF、蛋白激酶、胸苷激酶、NOP-2样核仁蛋白(微孢子虫门、微孢子虫病);CASP8和FADD样凋亡调节因子、谷胱甘肽过氧化物酶GPX1、RNA解旋酶NPH-II NPH2、聚(A)聚合酶催化亚基PAPL、主要包膜蛋白P43K、早期转录因子70kDa亚基VETFS、早期转录因子82kDa亚基VETFL、金属内肽酶G1型、核苷三磷酸酶INPH1、复制蛋白A28样MC134L、RNA聚合酶7kDa亚基RPO7(接触传染性软疣病毒(MCV)、接触传染性软疣(MC));基质蛋白M、磷蛋白P/V、小型疏水蛋白SH、核蛋白N、蛋白V、融合糖蛋白F、血凝素-神经氨酸酶HN、RNA聚合酶L(腮腺炎病毒、腮腺炎);外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D、结晶表面层蛋白SLP、保护性表面蛋白抗原SPA(伤寒立克次体、鼠型斑疹伤寒(Murine typhus)(地方性斑疹伤寒(Endemic typhus)));粘附素P1、粘附蛋白P30、蛋白p116、蛋白P40、细胞骨架蛋白HMW1、细胞骨架蛋白HMW2、细胞骨架蛋白HMW3、MPN152编码蛋白、MPN426编码蛋白、MPN456编码蛋白、MPN-500编码蛋白(肺炎支原体、肺炎支原体);NocA、铁依赖性调节蛋白、VapA、VapD、VapF、VapG、酪蛋白裂解蛋白酶、丝状体尖端关联的43-kDa蛋白、蛋白P24、蛋白P61、15-kDa蛋白、56-kDa蛋白(通常为星形诺卡氏菌和其它诺卡氏菌属种类、诺卡氏菌病);毒液过敏原同源样蛋白VAL-1、丰富的幼虫转录物ALT-1、丰富的幼虫转录物ALT-2、硫氧还蛋白过氧化物酶TPX、胡蜂过敏原同源物VAH、硫氧还蛋白过氧化物酶2 TPX-2、抗原性蛋白SXP(肽N、肽N1、肽N2和肽N3)、激活关联蛋白-1ASP-1、硫氧还蛋白TRX、转谷氨酰胺酶BmTGA、谷胱甘肽-S-转移酶GST、肌球蛋白、胡蜂过敏原同源物VAH、175kDa胶原酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶GAPDH、角质胶原蛋白Col-4、分泌的幼虫酸性蛋白SLAP、几丁质酶CHI-1、麦芽糖结合蛋白MBP、糖酵解酶果糖-1,6-二磷酸醛缩酶Fba、原肌球蛋白TMY-1、线虫特异性基因产物OvB20、盘尾半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白CPI-2、Cox-2(旋盘尾丝虫、盘尾丝虫病(河盲症(River blindness)));43kDa分泌糖蛋白、糖蛋白gp0、糖蛋白gp75、抗原Pb27、抗原Pb40、热休克蛋白Hsp65、热休克蛋白Hsp70、热休克蛋白Hsp90、蛋白P10、磷酸丙糖异构酶TPI、N-乙酰葡萄糖胺结合凝集素副球菌素、28kDa蛋白Pb28(巴西副球孢子菌、副球孢子菌病(南美芽生菌病(South American blastomycosis)));28-kDa克鲁兹蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶Pw28CCP(通常为卫氏并殖吸虫和其它并殖吸虫属种类、并殖吸虫病);外膜蛋白OmpH、外膜蛋白Omp28、蛋白PM1539、蛋白PM0355、蛋白PM1417、修复蛋白MutL、蛋白BcbC、蛋白PM0305、甲酸脱氢酶-N、蛋白PM0698、蛋白PM1422、DNA旋转酶、脂蛋白PlpE、粘附蛋白Cp39、血红素获取系统受体HasR、39kDa荚膜蛋白、铁调节的OMP IROMP、外膜蛋白OmpA87、菌毛蛋白Ptf、菌毛亚基蛋白PtfA、转铁蛋白结合蛋白Tbp1、酯酶MesA、多杀性巴氏杆菌毒素PMT、粘附蛋白Cp39(巴斯德菌属、巴斯德菌病);“丝状血凝素FhaB、腺苷酸环化酶CyaA、百日咳毒素亚基4前体PtxD、百日咳杆菌粘附素前体Prn、毒素亚基1PtxA、蛋白Cpn60、蛋白brkA、百日咳毒素亚基2前体PtxB、百日咳毒素亚基3前体PtxC、百日咳毒素亚基5前体PtxE、百日咳杆菌粘附素Prn、蛋白Fim2、蛋白Fim3;”(百日咳博德特氏菌、百日咳(Pertussis)(百日咳(Whooping cough)));“F1胶囊抗原、毒力关联V抗原、分泌的效应蛋白LcrV、V抗原、外膜蛋白酶Pla、分泌的效应蛋白YopD、推定的分泌蛋白-酪氨酸磷酸酶YopH、针状复合物主要亚基YscF、蛋白激酶YopO、推定的自转运蛋白YapF、内膜ABC-转运蛋白YbtQ(Irp7)、推定的糖结合蛋白YP00612、热休克蛋白90HtpG、推定的硫酸酯酶蛋白YdeN、外膜脂蛋白载体蛋白LolA、分泌伴

侣蛋白YerA、推定的脂蛋白YPO0420、溶血素激活蛋白HpmB、鼠疫巴氏杆菌素/耶尔森杆菌素外膜受体Psn、分泌的效应蛋白YopE、分泌的效应蛋白YopF、分泌的效应蛋白YopK、外膜蛋白YopN、外膜蛋白YopM、凝固酶/溶纤维蛋白溶酶前体Pla;”(鼠疫耶尔森菌、鼠疫);蛋白PhpA、表面粘附素PsaA、肺炎球菌溶素Ply、ATP依赖性蛋白酶Clp、硫辛酸蛋白连接酶LplA、细胞壁表面锚定蛋白psrP、分选酶SrtA、谷氨酰基-tRNA合成酶GltX、胆碱结合蛋白A CbpA、肺炎球菌表面蛋白A PspA、肺炎球菌表面蛋白C PspC、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶Gnd、铁结合蛋白PiaA、胞壁质水解酶LytB、蛋白LytC、蛋白酶A1(肺炎链球菌、肺炎球菌感染);主要表面蛋白B、kexin样蛋白酶KEX1、蛋白A12、55kDa抗原P55、主要表面糖蛋白Msg(耶氏肺孢子虫、肺孢子虫性肺炎(PCP));基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C(脊髓灰质炎病毒、脊髓灰质炎);蛋白Nfa1、毒蜥外泌肽-3、分泌脂肪酶、组织蛋白酶B样蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、组织蛋白酶、过氧化物毒素、蛋白Cry1Ac(通常为福氏耐格里阿米巴、原发性阿米巴脑膜脑炎(PAM));阿格诺蛋白(agnoprotein)、大型T抗原、小型T抗原、主要衣壳蛋白VP1、次要衣壳蛋白Vp2(JC病毒、进行性多灶性白质脑病);低钙反应蛋白E LCrE、衣原体外蛋白N CopN、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PknD、酰基载体-蛋白S-丙二酰转移酶FabD、单链DNA结合蛋白Ssb、主要外膜蛋白MOMP、外膜蛋白2Omp2、多态性膜蛋白家族(Pmp1、Pmp2、Pmp3、Pmp4、Pmp5、Pmp6、Pmp7、Pmp8、Pmp9、Pmp10、Pmp11、Pmp12、Pmp13、Pmp14、Pmp15、Pmp16、Pmp17、Pmp18、Pmp19、Pmp20、Pmp21)(鹦鹉热衣原体、鹦鹉热);外膜蛋白P1、热休克蛋白B HspB、肽ABC转运蛋白、GTP结合蛋白、蛋白IcmB、核糖核酸酶R、磷酸酶SixA、蛋白DsbD、外膜蛋白To1C、DNA结合蛋白PhoB、ATP酶DotB、热休克蛋白B HspB、膜蛋白Com1、28kDa蛋白、DNA-3-甲基腺嘌呤糖苷酶I、外膜蛋白OmpH、外膜蛋白AdaA、甘氨酸切割系统T-蛋白(贝纳特氏立克次体、Q热);核蛋白N、大型结构蛋白L、磷蛋白P、基质蛋白M、糖蛋白G(狂犬病病毒、狂犬病);融合蛋白F、核蛋白N、基质蛋白M、基质蛋白M2-1、基质蛋白M2-2、磷蛋白P、小型疏水蛋白SH、主要表面糖蛋白G、聚合酶L、非结构蛋白1NS1、非结构蛋白2NS2(呼吸道合胞体病毒(RSV)、呼吸道合胞体病毒感染);基因组多聚蛋白、聚合酶3D、病毒衣壳蛋白VP1、病毒衣壳蛋白VP2、病毒衣壳蛋白VP3、病毒衣壳蛋白VP4、蛋白酶2A、蛋白酶3C(鼻病毒、鼻病毒感染);外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、蛋白PS120、胞质内蛋白D、保护性表面蛋白抗原SPA(立克次体属、立克次体感染);外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D(小蛛立克次氏体、立克次氏体痘);包膜糖蛋白GP、聚合酶L、核蛋白N、非结构蛋白NSS(裂谷热病毒、裂谷热(RVF));外膜蛋白OM、细胞表面抗原OmpA、细胞表面抗原OmpB(sca5)、细胞表面蛋白SCA4、细胞表面蛋白SCA1、胞质内蛋白D(立氏立克次体、落基山斑疹热(Rocky mountain spotted fever、RMSF));“非结构蛋白6 NS6、非结构蛋白2 NS2、中间衣壳蛋白VP6、内衣壳蛋白VP2、非结构蛋白3 NS3、RNA指导的RNA聚合酶L、蛋白VP3、非结构蛋白1 NS1、非结构蛋白5 NS5、外衣壳糖蛋白VP7、非结构糖蛋白4 NS4、外衣壳蛋白VP4;;”(轮状病毒、轮状病毒感染);多聚蛋白P200、糖蛋白E1、糖蛋白E2、蛋白NS2、衣壳蛋白C(风疹病毒、风疹);伴侣蛋白GroEL(MopA)、肌醇磷酸磷酸酶SopB、热休克蛋白HslU、伴侣蛋白DnaJ、蛋白TviB、蛋白IroN、鞭毛蛋白FliC、侵袭蛋白SipC、糖蛋白gp43、外膜蛋白LamB、外膜蛋白PagC、外膜蛋白To1C、外膜蛋白NmpC、外膜蛋白FadL、转运蛋白SadA、转移酶WgaP、效应蛋白SifA、SteC、SseL、SseJ和

SseF(沙门氏菌属、沙门氏菌病)；“蛋白14、非结构蛋白NS7b、非结构蛋白NS8a、蛋白9b、蛋白3a、核蛋白N、非结构蛋白NS3b、非结构蛋白NS6、蛋白7a、非结构蛋白NS8b、膜蛋白M、包膜小型膜蛋白EsM、复制酶多聚蛋白1a、纤突糖蛋白S、复制酶多聚蛋白1ab；”(SARS冠状病毒、SARS(严重急性呼吸系统综合征))；丝氨酸蛋白酶、非典型疥螨抗原1 ASA1、谷胱甘肽S-转移酶GST、半胱氨酸蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、载脂蛋白(疥螨、疥疮)；谷胱甘肽S-转移酶GST、副肌球蛋白、血红蛋白酶SM32、主要卵抗原、14kDa脂肪酸结合蛋白Sm14、主要幼虫表面抗原P37、22.6kDa表膜抗原、钙蛋白酶CANP、三磷酸异构酶Tim、表面蛋白9B、外衣壳蛋白VP2、23kDa整合膜蛋白Sm23、Cu/Zn-超氧化物歧化酶、糖蛋白Gp、肌球蛋白(血吸虫属、血吸虫病(裂体吸虫病(Bilharziosis)))；60kDa伴侣蛋白、56kDa型特异性抗原、丙酮酸磷酸二激酶、4-羟基苯甲酸酯辛烯基转移酶(恙虫病东方体、恙虫病)；脱氢酶GuaB、侵袭蛋白Spa32、侵袭素IpaA、侵袭素IpaB、侵袭素IpaC、侵袭素IpaD、侵袭素IpaH、侵袭素IpaJ(志贺氏菌属、志贺氏菌病(细菌性痢疾(Bacillary dysentery)))；蛋白P53、病毒体蛋白US10同源物、转录调节因子IE63、转录反式激活因子IE62、蛋白酶P33、α反式诱导因子74kDa蛋白、脱氧尿苷5'-核苷三磷酸水解酶、转录反式激活因子IE4、膜蛋白UL43同源物、核磷蛋白UL3同源物、核蛋白UL4同源物、复制起点结合蛋白、膜蛋白2、磷蛋白32、蛋白57、DNA聚合酶持续合成因子、门蛋白54、DNA引发酶、表膜蛋白UL14同源物、表膜蛋白UL21同源物、表膜蛋白UL55同源物、三联终止酶亚基UL33同源物、三联终止酶亚基UL15同源物、衣壳结合蛋白44、病毒体包装蛋白43(水痘-带状疱疹病毒(VZV)、带状疱疹(Shingles、Herpes zoster))；截短3-β羟基-5-烯类固醇脱氢酶同源物、病毒体膜蛋白A13、蛋白A19、蛋白A31、截短蛋白A35同源物、蛋白A37.5同源物、蛋白A47、蛋白A49、蛋白A51、信号素样蛋白A43、丝氨酸蛋白酶抑制剂1、丝氨酸蛋白酶抑制剂2、丝氨酸蛋白酶抑制剂3、蛋白A6、蛋白B15、蛋白C1、蛋白C5、蛋白C6、蛋白F7、蛋白F8、蛋白F9、蛋白F11、蛋白F14、蛋白F15、蛋白F16(重型天花或轻型天花、天花(痘症(Variola)))；粘附素/糖蛋白gp70、蛋白酶(申克孢子丝菌、胞子丝菌病)；血红素-铁结合蛋白IsdB、胶原粘附素Cna、聚集因子A ClfA、蛋白MecA、纤连蛋白结合蛋白A FnbA、肠毒素A型EntA、肠毒素B型EntB、肠毒素C型EntC1、肠毒素C型EntC2、肠毒素D型EntD、肠毒素E型EntE、毒性休克综合征毒素-1 TSST-1、葡萄球菌激酶、青霉素结合蛋白2a PBP2a(MecA)、分泌抗原SssA(葡萄球菌属、葡萄球菌食物中毒)；血红素-铁结合蛋白IsdB、胶原粘附素Cna、聚集因子A ClfA、蛋白MecA、纤连蛋白结合蛋白A FnbA、肠毒素A型EntA、肠毒素B型EntB、肠毒素C型EntC1、肠毒素C型EntC2、肠毒素D型EntD、肠毒素E型EntE、毒性休克综合征毒素-1 TSST-1、葡萄球菌激酶、青霉素结合蛋白2a PBP2a(MecA)、分泌抗原SssA(葡萄球菌属、例如金黄色葡萄球菌、葡萄球菌感染)；抗原Ss-IR、抗原NIE、圆线虫虾红素、Na+-K+ATP酶Sseat-6、原肌球蛋白SsTmy-1、蛋白LEC-5、41kDa抗原P5、41-kDa幼虫蛋白、31-kDa幼虫蛋白、28-kDa幼虫蛋白(粪类圆线虫、类圆线虫病)；甘油磷酸二酯磷酸二酯酶GlpQ(Gpd)、外膜蛋白TmpB、蛋白Tp92、抗原TpF1、重复蛋白Tpr、重复蛋白F TprF、重复蛋白G TprG、重复蛋白I TprI、重复蛋白J TprJ、重复蛋白K TprK、密螺旋体膜蛋白A TmpA、脂蛋白、15kDa Tpp15、47kDa膜抗原、小铁蛋白TpF1、粘附素Tp0751、脂蛋白TP0136、蛋白TpN17、蛋白TpN47、外膜蛋白TP0136、外膜蛋白TP0155、外膜蛋白TP0326、外膜蛋白TP0483、外膜蛋白TP0956(苍白密螺旋体、梅毒)；组织蛋白酶L样蛋白酶、53/25-kDa抗原、8kDa家族成员、具有微弱胰蛋白酶样活性的囊尾蚴蛋白TsAg5、六钩蚴蛋白TSOL18、六钩蚴蛋白TSOL45-1A、乳酸脱氢酶A LDHA、

乳酸脱氢酶B LDHB(绦虫属、绦虫病)；破伤风毒素TetX、破伤风毒素C TTC、140kDa S层蛋白、黄素蛋白β亚基CT3、磷脂酶(卵磷脂酶)、磷酸载体蛋白HPr(破伤风梭状芽胞杆菌、破伤风(Tetanus)(破伤风(Lockjaw)))；基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C(蜱传脑炎病毒(TBEV)、蜱传脑炎)；58-kDa抗原、68-kDa抗原、弓蛔虫幼虫排泄分泌抗原TES、32-kDa糖蛋白、糖蛋白TES-70、糖蛋白GP31、排泄分泌抗原TcES-57、肠周液抗原Pe、可溶性提取物抗原Ex、排泄/分泌幼虫抗原ES、抗原TES-120、多聚蛋白过敏原TBA-1、组织蛋白酶L样半胱氨酸蛋白酶c-cpl-1、26-kDa蛋白(犬弓蛔虫或猫弓蛔线虫、弓蛔虫病(眼幼虫移行症(OLM)和内脏幼虫移行症(VLM)))；微丝蛋白(MIC1、MIC2、MIC3、MIC4、MIC5、MIC6、MIC7、MIC8)、棒状体蛋白Rop2、棒状体蛋白(Rop1、Rop2、Rop3、Rop4、Rop5、Rop6、Rop7、Rop16、Rjop17)、蛋白SR1、表面抗原P22、主要抗原p24、主要表面抗原p30、致密颗粒蛋白(GRA1、GRA2、GRA3、GRA4、GRA5、GRA6、GRA7、GRA8、GRA9、GRA10)、28kDa抗原、表面抗原SAG1、SAG2相关抗原、核苷三磷酸酶1、核苷三磷酸酶2、蛋白Stt3、含HesB样结构域的蛋白质、菱形样蛋白酶5、毒霉素1(toxomepsin1)(刚地弓形虫、弓形体病)；43kDa分泌糖蛋白、53kDa分泌糖蛋白、副肌球蛋白、抗原Ts21、抗原Ts87、抗原p46000、TSL-1抗原、小窝蛋白-1CAV-1、49kDa新生幼虫抗原、鞘脂激活蛋白原同源物、丝氨酸蛋白酶、丝氨酸蛋白酶抑制剂、45-kDa糖蛋白Gp45(旋毛虫、旋毛虫病)；Myb样转录因子(Myb1、Myb2、Myb3)、粘附蛋白AP23、粘附蛋白AP33、粘附素蛋白AP33-3、粘附素AP51、粘附素AP65、粘附蛋白AP65-1、α-辅肌动蛋白、驱动蛋白关联蛋白、teneurin、62kDa蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶样丝氨酸蛋白酶SUB1、半胱氨酸蛋白酶基因3CP3、α-烯醇化酶Eno1、半胱氨酸蛋白酶CP30、热休克蛋白Hsp70、热休克蛋白Hsp60、免疫原性蛋白P270(阴道滴虫、滴虫病)；β-微管蛋白、47-kDa蛋白、分泌性白细胞样蛋白酶-1SLP-1、50-kDa蛋白质TT50、17kDa抗原、43/47kDa蛋白(毛首鞭虫、鞭虫病(鞭虫感染(Whipworm infection)))；蛋白ESAT-6(EsxA)、10kDa滤液抗原EsxB、分泌的抗原85-B FBPB、纤连蛋白结合蛋白A FbpA(Ag85A)、丝氨酸蛋白酶PepA、PPE家族蛋白PPE18、纤连蛋白结合蛋白D FbpD、免疫原性蛋白MPT64、分泌的蛋白MPT51、过氧化氢酶-过氧化物酶-过氧亚硝酸酶T(catalase-peroxidase-peroxynitritase T)KATG、周质磷酸盐结合脂蛋白PSTS3(PBP-3、Phos-1)、铁调节的肝素结合血凝素Hbha、PPE家族蛋白PPE14、PPE家族蛋白PPE68、蛋白Mtb72F、蛋白Apa、免疫原性蛋白MPT63、周质磷酸结合脂蛋白PSTS1(PBP-1)、分子伴侣DnaK、细胞表面脂蛋白Mpt83、脂蛋白P23、磷酸盐转运系统通透酶蛋白pstA、14kDa抗原、纤连蛋白结合蛋白C FbpC1、丙氨酸脱氢酶TB43、谷氨酰胺合成酶1、ESX-1蛋白、蛋白CFP10、TB10.4蛋白、蛋白MPT83、蛋白MTB12、蛋白MTB8、Rpf样蛋白、蛋白MTB32、蛋白MTB39、晶体蛋白、热休克蛋白HSP65、蛋白PST-S(通常为结核分枝杆菌、肺结核)；外膜蛋白FobA、外膜蛋白FobB、胞内生长基因座1g1C1、胞内生长基因座Ig1C2、转氨酶Wbt1、伴侣蛋白GroEL、17kDa主要膜蛋白TUL4、脂蛋白LpnA、几丁质酶家族18蛋白、异柠檬酸脱氢酶、Nif3家族蛋白、IV型菌毛糖基化蛋白、外膜蛋白to1C、FAD结合家族蛋白、IV型菌毛多聚体外膜蛋白、双组分传感蛋白KdpD、伴侣蛋白DnaK、蛋白To1Q(土拉热弗朗西斯氏菌、兔热病)；“MB抗原、尿素酶、蛋白GyrA、蛋白GyrB、蛋白ParC、蛋白ParE、脂质关联的膜蛋白LAMP、胸苷激酶TK、磷脂酶PL-A1、磷脂酶PL-A2、磷脂酶PL-C、表面表达的96-kDa抗原；”(解脲脲原体、解脲脲原体感染)；非结构多聚蛋白、结构多聚蛋白、衣壳蛋白CP、蛋白E1、蛋白E2、蛋白E3、蛋白酶P1、蛋白酶P2、蛋白酶P3(委内瑞拉马脑炎病毒、委内瑞拉马脑炎)；糖蛋白GP、基质蛋白Z、聚合酶L、核蛋白N(瓜纳瑞托

病毒、委内瑞拉出血热)；多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C、蛋白酶NS3、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白AS2B、蛋白NS4A、蛋白NS4B、蛋白NS5(西尼罗病毒、西尼罗热)；衣壳蛋白CP、蛋白E1、蛋白E2、蛋白E3、蛋白酶P2(西方马脑炎病毒、西方马脑炎)；基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C、蛋白酶NS3、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白AS2B、蛋白NS4A、蛋白NS4B、蛋白NS5(黄热病病毒、黄热病)；推定的Yop靶向蛋白YobB、效应蛋白YopD、效应蛋白YopE、蛋白YopH、效应蛋白YopJ、蛋白质易位蛋白YopK、效应蛋白YopT、蛋白YpkA、鞭毛生物合成蛋白FlhA、肽酶M48、钾外流系统KefA、转录调节因子RovA、粘附素Ifp、易位蛋白LcrV、蛋白PcrV、侵袭素Inv、外膜蛋白OmpF样孔蛋白、粘附素YadA、蛋白激酶C、磷脂酶C1、蛋白PsaA、甘露糖基转移酶样蛋白WbyK、蛋白YscU、抗原YPMa(假结核耶尔森菌、假结核耶尔森菌感染)；效应蛋白YopB、60kDa伴侣素、蛋白WbcP、酪氨酸蛋白磷酸酶YopH、蛋白YopQ、肠毒素、半乳糖苷通透酶、还原酶NrdE、蛋白YasN、侵袭素Inv、粘附素YadA、外膜孔蛋白F OmpF、蛋白UspA1、蛋白EibA、蛋白Hia、细胞表面蛋白质Ail、分子伴侣SycD、蛋白LcrD、蛋白LcrG、蛋白LcrV、蛋白SycE、蛋白YopE、调节蛋白TyeA、蛋白YopM、蛋白YopN、蛋白YopO、蛋白YopT、蛋白YopD、蛋白酶ClpP、蛋白MyfA、蛋白FilA和蛋白PsaA(结肠炎耶尔森菌、耶尔森菌病)。(括号中列出的是特定病原体或抗原所来源的病原体家族、以及与这些病原体相关的感染性疾病)。

[0387] 在特别优选的实施方式中，致病性抗原选自：

[0388] • HIV p24抗原、HIV包膜蛋白(Gp120、Gp41、Gp160)、多聚蛋白GAG、负向因子蛋白Nef、反式转录激活因子Tat(如果感染性疾病是HIV，优选人类免疫缺陷病毒感染)，

[0389] • 主要外膜蛋白MOMP、可能的外膜蛋白PMPC、外膜复合蛋白B OmcB、热休克蛋白Hsp60HSP10、蛋白IncA、来自III型分泌系统的蛋白质、核糖核苷酸还原酶小链蛋白NrdB、质粒蛋白Pgp3、衣原体外蛋白N CopN、抗原CT521、抗原CT425、抗原CT043、抗原TC0052、抗原TC0189、抗原TC0582、抗原TC0660、抗原TC0726、抗原TC0816、抗原TC0828(如果感染性疾病是沙眼衣原体感染)，

[0390] • pp65抗原、膜蛋白pp15、衣壳近端表膜蛋白pp150、蛋白M45、DNA聚合酶UL54、解旋酶UL105、糖蛋白gM、糖蛋白gN、糖蛋白H、糖蛋白B gB、蛋白UL83、蛋白UL94、蛋白UL99(如果感染性疾病是巨细胞病毒感染，优选巨细胞病毒(CMV)感染)；

[0391] • 衣壳蛋白C、膜前蛋白prM、膜蛋白M、包膜蛋白E(结构域I、结构域II、结构域II)、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白NS2B、蛋白NS3、蛋白NS4A、蛋白2K、蛋白NS4B、蛋白NS5(如果感染性疾病是登革热，优选登革热病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3和DEN-4)黄病毒属感染；

[0392] • 乙型肝炎表面抗原HBsAg、乙型肝炎核心抗原HbcAg、聚合酶、蛋白Hbx、preS2中间表面蛋白、表面蛋白L、大型S蛋白、病毒蛋白VP1、病毒蛋白VP2、病毒蛋白VP3、病毒蛋白VP4(如果感染性疾病是乙型肝炎，优选乙型肝炎病毒(HBV)感染)；

[0393] • 复制蛋白E1、调节蛋白E2、蛋白E3、蛋白E4、蛋白E5、蛋白E6、蛋白E7、蛋白E8、主要衣壳蛋白L1、次要衣壳蛋白L2(如果感染性疾病是人乳头瘤病毒(HPV)感染，优选人乳头瘤病毒(HPV)感染)；

[0394] • 融合蛋白F、血凝素-神经氨酸酶HN、糖蛋白G、基质蛋白M、磷蛋白P、核蛋白N、聚合酶L(如果感染性疾病是人副流感病毒感染，优选人副流感病毒(HPIV)感染)；

[0395] • 血凝素(HA)、神经氨酸酶(NA)、核蛋白(NP)、M1蛋白、M2蛋白、NS1蛋白、NS2蛋白(NEP蛋白：核输出蛋白)、PA蛋白、PB1蛋白(聚合酶碱性蛋白1)、PB1-F2蛋白和PB2蛋白(正粘

病毒科、流感病毒(flu))；

[0396] • 核蛋白N、大型结构蛋白L、磷蛋白P、基质蛋白M、糖蛋白G(如果感染性疾病是狂犬病，优选狂犬病病毒感染)；

[0397] • 融合蛋白F、核蛋白N、基质蛋白M、基质蛋白M2-1、基质蛋白M2-2、磷蛋白P、小型疏水蛋白SH、主要表面糖蛋白G、聚合酶L、非结构蛋白1 NS1、非结构蛋白2 NS2(如果感染性疾病是呼吸道合胞体病毒感染，优选呼吸道合胞体病毒(RSV)感染)；

[0398] • 分泌抗原SssA(葡萄球菌属，葡萄球菌食物中毒)；分泌抗原SssA(葡萄球菌属，例如，金黄色葡萄球菌，葡萄球菌感染)；分子伴侣DnaK、细胞表面脂蛋白Mpt83、脂蛋白P23、磷酸盐转运系统通透酶蛋白pstA、14kDa抗原、纤连蛋白结合蛋白C FbpC1、丙氨酸脱氢酶TB43、谷氨酰胺合成酶1、ESX-1蛋白、蛋白CFP10、TB10.4蛋白、蛋白MPT83、蛋白MTB12、蛋白MTB8、Rpf样蛋白、蛋白MTB32、蛋白MTB39、晶体蛋白、热休克蛋白HSP65、蛋白PST-S(如果感染性疾病是肺结核，优选结核分枝杆菌感染)；

[0399] • 基因组多聚蛋白、蛋白E、蛋白M、衣壳蛋白C、蛋白酶NS3、蛋白NS1、蛋白NS2A、蛋白AS2B、蛋白NS4A、蛋白NS4B、蛋白NS5(如果感染性疾病是黄热病，优选黄热病病毒感染)；

[0400] n种不同RNA分子种类也可以各自编码癌症或病毒抗原的不同同种型或变体，该癌症或病毒抗原选自由以下所组成的组：5T4、707-AP、9D7、AFP、AlbZIP HPG1、α-5-β-1-整合素、α-5-β-6-整合素、α-辅肌动蛋白-4/m、α-甲基酰基-辅酶A消旋酶、ART-4、ARTC1/m、B7H4、BAGE-1、BCL-2、bcr/abl、β-连环蛋白/m、BING-4、BRCA1/m、BRCA2/m、CA 15-3/CA 27-29、CA 19-9、CA72-4、CA125、钙网蛋白、CAMEL、CASP-8/m、组织蛋白酶B、组织蛋白酶L、CD1、CD20、CD22、CD25、CDE30、CD33、CD4、CD52、CD55、CD56、CD80、CDC27/m、CDK4/m、CDKN2A/m、CEA、CLCA2、CML28、CML66、COA-1/m、毛状蛋白样蛋白、胶原XXIII、COX-2、CT-9/BRD6、Cten、周期素B1、周期素D1、cyp-B、CYPB1、DAM-10、DAM-6、DEK-CAN、EFTUD2/m、EGFR、ELF2/m、EMMPRIN、EpCam、EphA2、EphA3、ErbB3、ETV6-AML1、EZH2、FGF-5、FN、Frau-1、G250、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE7b、GAGE-8、GDEP、GnT-V、gpl OO、GPC3、GPNMB/m、HAGE、HAST-2、hepsin、Her2/neu、HERV-K-MEL、HLA-A*0201-R1 71、HLA-A1 1/m、HLA-A2/m、HNE、同源框NKX3.1、HOM-TES-14/SCP-1、HOM-TES-85、HPV-E6、HPV-E7、HSP70-2M、HST-2、hTERT、iCE、IGF-1R、IL-13Ra2、IL-2R、IL-5、未成熟层粘连蛋白受体、激肽释放酶-2、激肽释放酶-4、Ki67、KIAA0205、KIAA0205/m、KK-LC-1、K-Ras/m、LAGE-A1、LDLR-FUT、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A12、MAGE-B1、MAGE-B2、MAGE-B3、MAGE-B4、MAGE-B5、MAGE-B6、MAGE-B10、MAGE-B16、MAGE-B17、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-D1、MAGE-D2、MAGE-D4、MAGE-E1、MAGE-E2、MAGE-F1、MAGE-H1、MAGEL2、乳腺球蛋白A、MART-1/melan-A、MART-2、MART-2/m、基质蛋白22、MC1R、M-CSF、ME1/m、间皮素、MG50/PXDN、MMP1 1、MN/CA IX-抗原、MRP-3、MUC-1、MUC-2、MUM-1/m、MUM-2/m、MUM-3/m、I类肌球蛋白/m、NA88-A、N-乙酰基葡萄糖胺转移酶-V、Neo-PAP、Neo-PAP/m、NFYC/m、NGEP、NMP22、NPM/ALK、N-Ras/m、NSE、NY-ESO-B、NY-ESO-1、OA1、OFA-iLRP、OGT、OGT/m、OS-9、OS-9/m、骨钙蛋白、骨桥蛋白、pi 5、p190次要bcr-abl、p53、p53/m、PAGE-4、PAI-1、PAI-2、PAP、PART-1、PATE、PDEF、Pim-1-激酶、Pin-1、Pml/PARα、POTE、PRAME、PRDX5/m、前列腺特异性蛋白(prostein)、蛋白酶-3、PSA、PSCA、PSGR、PSM、PSMA、PTPRK/m、RAGE-1、RBAF600/m、RHAMM/CD168、RU1、RU2、S-100、SAGE、SART-1、SART-2、SART-3、SCC、SIRT2/m、Sp17、SSX-1、SSX-2/HOM-

MEL-40、SSX-4、STAMP-1、STEAP-1、生存素、生存素-2B、SYT-SSX-1、SYT-SSX-2、TA-90、TAG-72、TARP、TEL-AML1、TGFβ、TGFβRII、TGM-4、TPI/m、TRAG-3、TRG、TRP-1、TRP-2/6b、TRP/INT2、TRP-p8、酪氨酸酶、UPA、VEGFR1、VEGFR-2/FLK-1和WT1。

[0401] n种不同RNA分子种类也可以各自编码与过敏症或过敏性疾病(过敏原或过敏原抗原)相关的不同过敏原。

[0402] n种不同RNA分子种类也可以各自编码不同的自身免疫自身抗原(自身抗原)。

[0403] n种不同RNA分子种类也可以各自编码不同的治疗性抗体,该治疗性抗体选自由尤其用于治疗癌症或肿瘤疾病、免疫失调、感染性疾病、阿尔茨海默病、哮喘的抗体和用于治疗多种病症(例如,骨质疏松症、龋齿、特发性肺纤维化、局灶节段性肾小球硬化症、疼痛、肌营养不良和新生血管性年龄相关性黄斑变性)的抗体所组成的组。

[0404] n种不同RNA分子种类也可以各自编码治疗性蛋白质的不同同种型或变体,该治疗性蛋白质选自由尤其可用于治疗代谢或内分泌疾病的治疗性蛋白质所组成的组。

[0405] 由于这些蛋白质和其它蛋白质旨在通过以足够量来替换其缺陷性内源产生的功能蛋白质来治疗受试者,因而它们被认为是治疗性的。因此,这类治疗性蛋白质通常来源于哺乳动物,特别是人蛋白质。

[0406] 对于治疗血液病症、循环系统疾病、呼吸系统疾病、癌症或肿瘤疾病、感染性疾病或免疫缺陷,可以由n种不同RNA分子种类编码治疗性蛋白质。

[0407] n种不同RNA分子种类也可以各自编码佐剂蛋白的不同同种型或变体。

[0408] 此外,可以将RNA组合物用于把体细胞重编程为多能或全能干细胞。为此,描述了几种因子,特别是Oct-3/4,Sox基因家族(Sox1、Sox2、Sox3和Sox15)、Klf家族(Klf1、Klf2、Klf4和Klf5)、Myc家族(c-myc、L-myc和N-myc)、Nanog和LIN28。

[0409] 优选地,在本发明意义上的感染性疾病优选选自由病毒感染性疾病、细菌感染性疾病、原生动物感染性疾病和朊病毒感染性疾病所组成的组。这类感染性疾病通常选自由以下各项所组成的列表:不动杆菌属(Acinetobacter)感染、非洲昏睡病(非洲锥虫病(African trypanosomiasis))、艾滋病(获得性免疫缺陷综合征)、阿米巴病(Amoebiasis)、无形体病、炭疽病(Anthrax)、盲肠炎、溶血隐秘杆菌感染、阿根廷出血热、蛔虫病、曲霉病、星状病毒感染、脚癣、巴贝虫病、蜡样芽胞杆菌感染、细菌性脑膜炎、细菌性肺炎、细菌性阴道病(BV)、拟杆菌感染(Bacteroides infection)、小袋纤毛虫病(Balantidiasis)、蛔虫感染(Baylisascaris infection)、裂体吸虫病、BK病毒感染、黑色发结节病(Black piedra)、人芽囊原虫感染(Blastocystis hominis infection)、芽生菌病、玻利维亚出血热、疏螺旋体属感染(疏螺旋体病)、肉毒中毒(和婴儿肉毒中毒)、牛绦虫、巴西出血热、布鲁氏菌病、伯克霍尔德菌感染、布路里溃疡、杯状病毒感染(诺如病毒和沙波病毒)、弯曲菌病、念珠菌病(Candidiasis)(念珠菌病(Candidosis))、犬绦虫感染、猫抓病、恰加斯病(美洲锥虫病)、软下疳、水痘、衣原体感染、沙眼衣原体感染、肺炎嗜衣原体感染、霍乱、着色芽生菌病(Chromoblastomycosis)、气候性横痃(Climatic bubo)、支睾吸虫病、艰难梭状芽胞杆菌感染、球孢子菌病、感冒、科罗拉多蜱热(CTF)、普通感冒(急性病毒鼻咽炎;急性鼻炎)、尖锐湿疣(Condyloma acuminata)、结膜炎(Conjunctivitis)、克罗伊茨费尔特-雅各布病(Creutzfeldt-Jakob disease(CJD))、克里米亚-刚果出血热(CCHF)、隐球菌病、隐孢子虫病、皮肤幼虫移行症(CLM)、皮肤利什曼病、环孢子虫病(Cyclosporiasis)、囊尾幼虫病、巨

细胞病毒感染、登革热、皮肤癣菌病、双核阿米巴病、白喉、裂头绦虫病(Diphyllobothriasis)、杜诺凡病、麦地那龙线虫病(Dracunculiasis)、初夏脑膜脑炎(FSME)、埃博拉出血热、包虫病(Echinococcosis)、埃里希氏体病、蛲虫病(蛲虫感染)、肠球菌感染、肠道病毒感染、流行性斑疹伤寒、会厌炎、爱泼斯坦-巴尔病毒感染性单核细胞增多症、传染性红斑(第五病)、猝发疹、布氏姜片虫、肝片吸虫病、致命性家族性失眠症(FFI)、第五疾病、丝虫病、鱼中毒(西加鱼毒)、鱼绦虫病、流感、由产气荚膜梭状芽胞杆菌引起的食物中毒、福克斯绦虫(Fox tapeworm)、自由生活阿米巴感染、梭杆菌属感染、气性坏疽(Gas gangrene)、地霉病、Gerstmann-Sträussler-Scheinker综合征(GSS)、贾第虫病、鼻疽病、颚口线虫病、淋病、性病肉芽肿(杜诺凡病)、A组链球菌感染、B组链球菌感染、流感嗜血杆菌感染、手足口病(HFMD)、汉坦病毒肺综合征(HPS)、幽门螺旋杆菌感染、溶血性尿毒症综合征(HUS)、肾综合征出血热(HFRS)、亨尼帕病毒感染、甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎、戊型肝炎、单纯性疱疹、I型单纯性疱疹、II型单纯性疱疹、带状疱疹、组织胞浆菌病、中空疣(Hollow warts)、钩虫感染、人博卡病毒感染、人埃翁氏埃里希氏体病、人粒细胞无形体病(HGA)、人偏肺病毒感染、人类单核细胞的埃里希氏体病毒感染、人乳头瘤病毒(HPV)感染、人副流感病毒感染、膜壳绦虫病(Hymenolepiasis)、流感、等孢球虫病(Isosporiasis)、日本脑炎、川崎病(Kawasaki disease)、角膜炎、金格杆菌感染、库鲁、贾弟虫病(Lambliasis)(贾第虫病(Giardiasis))、拉沙热、军团菌病(军团菌病(Legionnaires' disease)、庞提阿克热(Pontiac fever))、利什曼病、麻风病、细螺旋体病、虱子、李斯特菌病、莱姆疏螺旋体病、莱姆病、淋巴丝虫病(象皮病)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎、疟疾、马尔堡出血热(MHF)、马尔堡病毒、麻疹、类鼻疽(惠特莫尔氏病)、脑膜炎、脑膜炎球菌病、后殖吸虫病、微孢子虫病、微型绦虫(Miniature tapeworm)、流产(前列腺炎症)、接触传染性软疣(MC)、单核细胞增多症、腮腺炎、鼠型斑疹伤寒(Murine typhus)(地方性斑疹伤寒)、足分支菌病(Mycetoma)、人支原体、肺炎支原体、蛆病、尿布/尿片皮炎(Nappy/diaper dermatitis)、新生儿结膜炎(新生儿眼炎)、新生儿败血症(绒毛膜羊膜炎)、诺卡氏菌病、诺马病(Noma)、诺沃克病毒感染、盘尾丝虫病(河盲症)、骨髓炎、中耳炎、副球孢子菌病(南美芽生菌病)、并殖吸虫病、副伤寒(Paratyphus)、巴斯德菌病、头虱病(头虱(Head lice))、体虱病(体虱(Body lice))、阴虱病(阴虱(Pubic lice)、毛虱(Crab lice))、盆腔炎(PID)、百日咳(Pertussis)(百日咳(Whooping cough))、发否氏腺热(Pfeiffer's glandular fever)、鼠疫、肺炎球菌感染、肺孢子虫性肺炎(PCP)、肺炎、小儿麻痹症(儿童跛行)、脊髓灰质炎、猪绦虫、普氏菌属感染(Prevotella infection)、原发性阿米巴脑膜脑炎(PAM)、进行性多灶性白质脑病、假格鲁布(Pseudocroup)、鹦鹉热、Q热、兔热病、狂犬病、鼠咬热、莱特尔氏综合征(Reiter's syndrome)、呼吸道合胞体病毒感染(RSV)、鼻孢子虫病、鼻病毒感染、立克次体感染、立克次氏体痘、裂谷热(RVF)、落基山斑疹热(RMSF)、轮状病毒感染、风疹、副伤寒沙门氏菌、伤寒沙门氏菌、沙门氏菌病、SARS(严重急性呼吸系统综合征)、疥疮、猩红热、血吸虫病(裂体吸虫病)、恙虫病、败血症、志贺氏菌病(细菌性痢疾)、带状疱疹、天花(痘症)、软下疳、孢子丝菌病、葡萄球菌食物中毒、葡萄球菌感染、类圆线虫病、梅毒、绦虫病、破伤风、三日热、蜱传脑炎、须癣(Tinea barbae)(须癣(Barber's itch))、头癣(Tinea capitis)(头皮癣(Ringworm of the Scalp))、体癣(Tinea corporis)(体内癣(Ringworm of the Body))、股癣(Tinea cruris)(股癣(Jock itch))、手癣(Tinea manuum)(手癣

(Ringworm of the Hand))、黑癣(Tinea nigra)、脚癣(Tinea pedis)(脚癣(Athlete's foot))、甲癣(Tinea unguium)(甲癣(Onychomycosis))、花斑癣(Tinea versicolor)(花斑癣(Pityriasis versicolor))、弓蛔虫病(眼幼虫移行症(OLM)和内脏幼虫移行症(VLM))、弓形体病、旋毛虫病、滴虫病、鞭虫病(鞭虫感染)、远足者病(Tripper)、锥体虫病(昏睡病)、恙虫病、肺结核、兔热病、斑疹伤寒症、伤寒热、解脲脲原体感染、阴道炎(Vaginitis)(阴道炎(Colpitis))、克罗伊茨费尔特-雅各布病变体(vCJD、nvCJD)、委内瑞拉马脑炎、委内瑞拉出血热、病毒性肺炎、内脏利什曼病(Visceral Leishmaniosis)、疣、西尼罗热、西方马脑炎、白癣(白秃疮)、百日咳、酵母菌斑、黄热病、假结核耶尔森菌感染、耶尔森菌病和接合菌病(Zygomycosis)。

[0410] 癌症和肿瘤选自由以下各项所组成的组:急性成淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病、肾上腺皮质癌、AIDS相关癌症、AIDS相关淋巴瘤、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤、脑干胶质瘤、脑肿瘤、小脑星形细胞瘤、大脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、幕上原始神经外胚层肿瘤、视觉通路和下丘脑胶质瘤、乳腺癌、支气管腺瘤/类癌、伯基特淋巴瘤、儿童类癌瘤、胃肠类癌瘤、不明原发性癌、原发性中枢神经系统淋巴瘤、儿童期小脑星形细胞瘤、儿童期大脑星形细胞瘤/恶性胶质瘤、子宫颈癌、儿童期癌症、慢性淋巴细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性骨髓增殖性疾病、结肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、促结缔组织增生小圆细胞瘤、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、尤文氏肉瘤家族中的尤文氏肉瘤、儿童颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼内黑素瘤、视网膜母细胞瘤、胆囊癌、胃(胃部)癌、胃肠类癌瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、颅外、性腺外或卵巢生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞肿瘤、脑干胶质瘤、儿童大脑星形细胞瘤、儿童视觉通路和下丘脑胶质瘤、胃类癌、多毛细胞白血病、头颈癌、心癌、肝细胞(肝脏)癌、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、儿童下丘脑和视觉通路胶质瘤、眼内黑素瘤、胰岛细胞癌(内分泌胰腺)、卡波西肉瘤、肾癌(肾细胞癌)、喉癌、白血病、急性成淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性骨髓性白血病、多毛细胞白血病、唇及口腔癌、脂肪肉瘤、肝癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、淋巴瘤、艾滋病相关淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨/骨肉瘤的恶性纤维组织细胞瘤、儿童成神经管细胞瘤、黑素瘤、眼内(眼部)黑素瘤、梅克尔细胞癌、成人恶性间皮瘤、儿童间皮瘤、原发灶隐匿转移性颈部鳞状癌、口部癌症、儿童期多发性内分泌腺瘤综合征、多发性骨髓瘤/浆细胞瘤、蕈样真菌病、骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病、慢性粒细胞白血病、成人急性髓细胞性白血病、儿童急性髓细胞性白血病、多发性骨髓瘤(骨髓癌)、慢性骨髓增殖性疾病、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、成神经细胞瘤、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤/骨恶性纤维组织细胞瘤、卵巢癌、卵巢上皮癌(表面上皮-间质肿瘤)、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢轻度恶性潜能肿瘤、胰腺癌、胰岛细胞胰腺癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、松果体星形细胞瘤、松果体生殖细胞瘤、儿童成松果体细胞瘤和幕上原始神经外胚层肿瘤、垂体腺瘤、浆细胞瘤/多发性骨髓瘤、胸膜肺母细胞瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌(肾癌)、肾盂和输尿管癌、视网膜母细胞瘤、儿童横纹肌肉瘤、唾液腺癌、尤文氏肉瘤家族肿瘤、卡波西肉瘤、软组织肉瘤、子宫肉瘤、塞泽里综合征、皮肤癌(非黑素瘤)、皮肤癌(黑素瘤)、梅克尔细胞皮肤癌、小肠癌、鳞状细胞癌、原发灶隐匿转移性颈部鳞

状癌、儿童幕上原始神经外胚层肿瘤、睾丸癌、喉癌、儿童胸腺瘤、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、儿童甲状腺癌、肾盂及输尿管移行细胞癌、妊娠滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫内膜癌、子宫肉瘤、阴道癌、儿童视觉通路和下丘脑胶质瘤、外阴癌、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、和儿童肾母细胞瘤(肾癌)。

[0411] 自身免疫性疾病选自艾迪生病(Addison disease)(自身免疫性肾上腺炎,爱迪生氏病)、斑秃(alopecia areata)、阿狄森贫血症(Addison's anemia)(Morbus Biermer)、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、寒冷型自身免疫性溶血性贫血(AIHA)(冷血凝症、冷自身免疫性溶血性贫血(AIHA)(冷凝集素疾病),CHAD))、温型自身免疫性溶血性贫血(AIHA)(温AIHA,温自身免疫性溶血性贫血(AIHA))、自身免疫性溶血性多纳特-兰德斯坦(Donath-Landsteiner)贫血(阵发性冷型血红蛋白尿)、抗磷脂综合征(APS)、动脉粥样硬化、自身免疫性关节炎、颞动脉炎、大动脉炎(高安氏病(Takayasu's disease),主动脉弓病)、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、自身免疫性慢性胃炎、自身免疫性不育症、自身免疫性内耳病(AIED)、巴西多氏病(Basedow's disease)(Morbus Basedow)、贝希德莱氏病(Bechterew's disease)(Morbus Bechterew,强直性脊椎炎(ankylosing spondylitis)、强直性脊柱炎(spondylitis ankylosans))、贝切特综合征(Behcet's syndrome)(Morbus Behcet)、包括自身免疫性炎性肠病的肠病(包括溃疡性结肠炎(克隆氏症(Morbus Crohn),克罗恩病(Crohn's disease)))、心肌病(特别是自身免疫性心肌病,特发性扩张型心肌病(DCM))、口炎性腹泻皮炎(celiac sprue dermatitis)(谷蛋白介导的肠病)、慢性疲劳免疫功能障碍综合征(CFIDS)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病(CIDP)、慢性多发性关节炎、变应性肉芽肿性(Churg-Strauss syndrome)、瘢痕性类天疱疮、科干综合征(Cogan syndrome)、CREST综合征(皮肤钙质沉积症综合征,雷诺现象(Raynaud phenomenon)、食管动力障碍、指端硬化和毛细管扩张)、克罗恩病(克隆氏症,溃疡性结肠炎)、疱疹样皮炎、皮肤病自身免疫疾病、皮肌炎、糖尿病、1型糖尿病(Diabetes mellitus Type 1)(I型糖尿病(type I diabetes),胰岛素依赖性糖尿病)、2型糖尿病(Diabetes mellitus Type 2)(II型糖尿病(type II diabetes))、原发性混合型冷球蛋白血症、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛、纤维肌炎、古德帕斯丘综合征(Goodpasture syndrome)(抗GBM介导的肾小球肾炎)、移植物抗宿主病、格林巴利综合征(Guillain-Barrésyndrome)(GBM,Polyradikuloneuritis)、血液学自身免疫病、桥本甲状腺炎(Hashimoto thyroiditis)、血友病、获得性血友病、肝炎、自身免疫性肝炎(尤其是自身免疫形式的慢性肝炎)、特发性肺纤维化(IPF)、特发性血小板减少性紫癜、免疫血小板减少性紫癜(Morbus Werlhof;ITP)、IgA肾病、不育症、自身免疫性不育症、青少年类风湿性关节炎(Morbus Still,Still综合征)、兰伯特-伊顿综合征(Lambert-Eaton syndrome)、扁平苔癣、硬化性苔癣、红斑狼疮、系统性红斑狼疮(SLE)、红斑狼疮(盘状)、莱姆关节炎(Lyme arthritis)(莱姆病、疏螺旋体关节炎)、梅尼埃病(Ménierè's disease)(Morbus Ménierè);混合性结缔组织病(MCTD)、多发性硬化症(MS、播散性脑脊髓炎、夏科氏病(Charcot's disease))、重症肌无力(肌无力,MG)、肌炎、多肌炎、神经性自身免疫性疾病、神经性皮炎、寻常天疱疮、大疱性类天疱疮、瘢痕性类天疱疮;结节性多动脉炎(periarteiitis nodosa)、多软骨炎(全软骨炎)、多腺性(自身免疫)综合征(PGA综合征、施密特综合征(Schmidt's syndrome))、风湿性多肌痛、原发性低丙种球蛋白血症、原发性胆汁性肝硬化PBC、原发性自身免疫性胆管炎)、进行性系统

性硬化症(PSS)、银屑病、寻常型银屑病、雷诺现象、瑞特氏综合征(Morbus Reiter,尿道合并滑膜综合征)、类风湿性关节炎(RA、慢性多关节炎、关节风湿性疾病、风湿热)、结节病(Morbus Boeck、贝-伯-肖三氏病(Besnier-Boeck-Schaumann disease))、僵人综合征(stiff-man syndrome)、硬皮病、硬皮病、肖格伦综合征(Sjögren's syndrome)、交感性眼炎;短暂性麸质不耐受、移植器官排斥、葡萄膜炎、自身免疫性葡萄膜炎、血管炎、白癜风(白斑病,皮肤花斑)和韦格纳氏病(Wegner's disease)(Morbus Wegner,韦格纳肉芽肿病)或者所述自身免疫自身抗原的片段、变体或衍生物。

[0412] 优选地,本文提及的疾病优选地选自感染性疾病,赘生物(例如,癌症或肿瘤疾病),血液和造血器官疾病,内分泌、营养和代谢疾病,神经系统疾病,循环系统疾病,呼吸系统疾病,消化系统疾病,皮肤和皮下组织疾病,肌肉骨骼系统和结缔组织疾病以及泌尿生殖系统疾病。

[0413] 在该上下文中,特别优选的是选自以下各项的遗传性疾病:1p36缺失综合征;18p缺失综合征;21-羟化酶缺乏症;45,X(特纳综合征(Turner syndrome);47,XX,+21(唐氏综合征(Down syndrome));47,XXX(三重X染色体综合征);47,XXY(克兰费尔特综合征(Klinefelter syndrome));47,XY,+21(唐氏综合征);47,XYY综合征;5-ALA脱水酶缺陷型卟啉症(ALA脱水酶缺乏症);5-氨基乙酰丙酸脱水酶缺乏型卟啉症(ALA脱水酶缺乏症);5p缺失综合征(Cri du chat)5p-综合征(Cri du chat);A-T(共济失调毛细血管扩张症);AAT(α-1抗胰蛋白酶缺乏症);输精管缺如(先天性双侧输精管缺如);vasa缺失(先天性双侧输精管缺如);血浆铜蓝蛋白缺乏症;ACG2(软骨形成II型);ACH(软骨发育不全);II型软骨发生;软骨发育不全;酸性β-葡萄糖苷酶缺乏症(戈谢病1型(Gaucher disease type 1));尖头并指(趾)(畸形)(Apert)(Apert综合征);尖头并指(趾)(畸形),V型(普费弗综合征(Pfeiffer syndrome));尖头畸形(阿佩尔氏综合征(Apert syndrome));急性脑高歇氏病(戈谢病2型);急性间歇性卟啉病;ACY2缺乏症(卡纳万病);AD(阿尔茨海默病);阿德莱德型颅缝早闭(Muenke综合征);腺瘤性结肠息肉病(家族性腺瘤性息肉病);结肠腺瘤性息肉病(家族性腺瘤性息肉病);ADP(ALA脱水酶缺乏症);腺苷酸琥珀酸裂解酶缺乏症;肾上腺疾病(21-羟化酶缺乏症);肾上腺性变态综合征(21-羟化酶缺陷症);肾上腺脑白质营养不良;AIP(急性间歇性卟啉症);AIS(雄激素不敏感综合征);AKU(碱性尿道炎);ALA脱水酶卟啉症(ALA脱水酶缺乏症);ALA-D卟啉症(ALA脱水酶缺乏症);ALA脱水酶缺乏症;尿黑酸尿症(黑尿症);亚历山大病(Alexander disease);尿黑酸尿症;尿黑酸黄褐病(尿黑酸尿症);α-1抗胰蛋白酶缺乏症;α-1蛋白酶抑制剂(α-1抗胰蛋白酶缺乏症);α-1相关的肺气肿(α-1抗胰蛋白酶缺乏症);α-半乳糖苷酶A缺乏症(法布里病(Fabry disease));ALS(肌萎缩侧索硬化);Alstrom综合征;ALX(亚历山大病);阿尔茨海默病;釉质发育不全;氨基乙酰丙酸脱水酶缺乏症(ALA脱水酶缺乏症);氨酰化酶2缺乏症(卡纳万病);肌萎缩侧索硬化;安德森-法布里病(法布里病);雄激素不敏感综合征;贫血;遗传性铁粒幼细胞性贫血(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);与性基因连锁的低色素性铁粒幼细胞性贫血(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);家族性脾性贫血(戈谢病);天使人综合征(Angelman syndrome);弥漫性躯体性血管角化瘤(法布里病);弥漫性血管角化瘤(法布里病);视网膜血管瘤(冯希佩尔·林道病);ANH1(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);APC耐药,莱顿型(Leiden type)(凝血因子V莱顿易栓症);阿珀特综合征(Apert syndrome);AR缺乏症(雄激素不敏感综合征);AR-CMT2ee(夏科-马里-图思病

(Charcot-Mare-Tooth disease),2型);蜘蛛脚样指(马凡综合征(Marfan syndrome));ARNSHL(非综合征性耳聋常染色体隐性遗传);遗传性进行性关节-眼病(斯蒂克勒综合征(Stickler syndrom)COL2A1);先天性多发性关节弛缓(埃莱尔-当洛综合征关节松弛型(Ehlers-Danlos syndrome arthrochalasia type));AS(天使人综合征);Asp缺乏症(卡纳万病);Aspa缺乏症(卡纳万病);天冬酰胺酰酶缺乏症(卡纳万病);共济失调-毛细血管扩张;自闭症-痴呆-共济失调-有目的手运动消失综合征(瑞特综合征(Rett syndrome));常染色体显性青少年ALS(肌萎缩侧索硬化,4型);常染色体显性opitz G/BBB综合征(22q11.2缺失综合征);常染色体隐性形式的青少年ALS 3型(肌萎缩侧索硬化2型);常染色体隐性非综合征性听力丧失(非综合征性耳聋常染色体隐性遗传);常染色体隐性感觉神经性听力障碍和甲状腺肿(彭德莱综合征(Pendred syndrome));AxD(亚历山大病);原发性肺动脉高压综合征(Ayerza syndrome)(原发性肺动脉高压);氨基己糖苷酶GM2神经节苷脂沉积症的B型变体(山德霍夫氏病(Sandhoff disease));BANF(神经纤维瘤2);Beare-Stevenson cutis gyrata综合征;良性阵发性腹膜炎(地中海热,家族性);本杰明综合征(Benjamin syndrome);β地中海贫血;BH4缺乏症(四氢生物蝶呤缺乏症);双侧声神经纤维瘤病(神经纤维瘤2);生物素酶缺乏症;膀胱癌;出血性疾病(凝血因子V莱顿易栓症);Bloch-Sulzberger综合征(色素失调症);布卢姆综合征(Bloom syndrome);骨疾病;骨髓疾病(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);崩-乌二氏综合征(Bonnevie-Ullrich symdrome)(特纳氏综合征(Turner syndrome));布尔纳维氏病(Bourneville disease)(结节性硬化症);布尔纳维氏母斑病(Bourneville phakomatosis)(结节性硬化症);脑部疾病(朊病毒病);乳腺癌;Birt-Hogg-Dubé综合征;脆性骨病(成骨不全症);广泛的拇指-拇趾综合征(Broad Thumb-Hallux syndrome)(鲁宾斯坦-泰比综合征(Rubinstein-Taybi syndrome));青铜色糖尿病(血色病);青铜色肝硬化(血色病);X连锁性脊髓延髓肌萎缩症(肯尼迪病(Kennedy disease));伯-格二氏综合征(Burger-Grutz disease)(脂蛋白脂肪酶缺乏症,家族性);CADASIL;CGD慢性肉芽肿病;弯肢发育异常;卡纳万病;癌症;家族性癌症综合征(遗传性非息肉性结直肠癌);乳腺的癌症(乳腺癌);膀胱的癌症(膀胱癌);多发性晚发性羧化酶缺乏症(生物素酶缺乏症);心肌病(努南综合征(Noonan syndrome));猫哭综合征(Cat cry syndrome)(Cri du chat);CAVD(先天性双侧输精管缺如);凯勒心脏综合征(Caylor cardiofacial syndrome)(22q11.2缺失综合征);CBAVD(先天性双侧输精管缺如);乳糜泻;CEP(先天性红细胞生成性卟啉症);神经酰胺三己糖苷酶缺乏症(法布里病);家族性小脑视网膜血管瘤(冯希佩尔-林道病(von Hippel-Lindau disease));伴皮质下梗死和白质脑病的脑动脉病(CADASIL);伴皮质下梗死和白质脑病的脑常染色体显性动脉病(CADASIL);脑硬化(结节性硬化症);脑萎缩性高氨血症(瑞特综合征);脑苷脂沉积病(戈谢病);CF(囊性纤维化);CH(先天性甲状腺功能减退症);夏科病(肌萎缩侧索硬化);夏科-马里-图思病(Charcot-Marie-Tooth disease);软骨营养障碍(软骨发育不全);软骨发育障碍综合征(软骨发育不全);伴感觉神经性耳聋的软骨营养不良(眼-耳-脊椎发育不良);软骨形成发育不全(软骨形成,II型);舞蹈手足徐动症自残高尿酸血症综合征(莱施-尼汉综合征(Lesch-Nyhan syndrome));经典半乳糖血症(半乳糖血症);经典埃勒斯-当洛综合征(Classical Ehlers-Danlos syndrome)(埃勒斯-当洛综合征#经典型);经典苯丙酮尿症(苯丙酮尿症);唇裂和腭裂(斯蒂克勒综合征(Stickler syndrome));伴致死性侏儒的苜蓿叶头骨(致死性骨发育不全#2

型);CLS(科-勒二氏综合征(Coffin-Lowry syndrome));CMT(夏科-马里-图思病);科凯恩氏综合征(Cockayne syndrome);科-勒二氏综合征;II型和XI型胶原病;结肠癌,家族性非息肉病(遗传性非息肉性结肠直肠癌);家族性结肠癌(家族性腺瘤性息肉病);结直肠癌;完全HPRT缺乏症(莱施-尼汉综合征);完全性次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶缺乏症(莱施-尼汉综合征);压迫性神经病变(遗传性压迫易感性神经病);先天性肾上腺皮质增生症(21-羟化酶缺乏症);先天性双侧输精管缺如(先天性输精管缺如);先天性红细胞生成性卟啉病;先天性心脏病;先天性髓鞘形成减少(夏科-马里-图思病1型/夏科-马里-图思病4型);先天性甲状腺功能减退症;先天性高铁血红蛋白血症(高铁血红蛋白血症先天性高铁血红蛋白血症);先天性骨硬化症(软骨发育不全);先天性铁粒幼细胞性贫血(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);结缔组织病;圆锥动脉异常面部综合征(22q11.2缺失综合征);库利氏贫血症(Cooley's Anemia)(β地中海贫血症);铜储积病(威尔逊病(Wilson disease));铜运输病(门克斯病(Menkes disease));遗传性的粪卟啉症(遗传性粪卟啉症);粪卟啉原氧化酶缺乏症(遗传性粪卟啉症);考登综合征(Cowden syndrome);CPO缺乏症(遗传性粪卟啉症);CPRO缺乏症(遗传性粪卟啉症);CPX缺乏症(遗传性粪卟啉症);颅面骨关节病(克鲁宗综合征(Crouzon syndrome));颅面畸形(克鲁宗综合征);克汀病(Cretinism)(先天性甲状腺功能减退症);克雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)(朊病毒病);猫叫综合征(Cri du chat)(纤维化的克罗恩病);克鲁宗综合征;伴黑棘皮病的克鲁宗综合征(Crouzonodermoskeletal综合征);Crouzonodermokekeal综合征;CS(科凯恩氏综合征)(考登综合征);库贝斯三氏综合征(Curschmann-Batten-Steinert symdrom)(肌强直性营养不良);Beare-Stevenson皮肤综合征(Beare-Stevenson cutis gyrata综合征);突变染色体病;D-甘油酸脱氢酶缺乏症(原发性的高草酸尿症);干骺端斑驳综合征(脊椎干骺端发育不良,Strudwick型);DAT-痴呆阿尔茨海默病(阿尔茨海默病);遗传性高钙尿症(登特病(Dent's disease));DBMD(肌营养不良,杜兴(Duchenne)型和贝克(Becker)型);伴甲状腺肿的耳聋(彭德莱综合征(Pendred syndrome));耳聋-视网膜色素综合征(乌谢尔综合征(Usher syndrome));苯丙氨酸羟化酶缺乏症(苯丙酮尿症);退行性神经疾病;德-格罗乌稀综合征1(De Grouchy Syndrome);Dejerine-Sottas综合征(夏科-马里-图思病);δ-氨基酮戊酸脱水酶缺陷卟啉症(ALA脱水酶缺乏症);痴呆症(CADASIL);脱髓鞘性脑白质营养不良(亚历山大病);埃勒斯-当洛综合征的皮肤脆裂型(埃勒斯-当洛综合征皮肤脆裂型);皮肤脆裂症(埃勒斯-当洛综合征皮肤脆裂型);发育障碍;dHMN(肌萎缩侧索硬化4型);DHMN-V(远端脊髓性肌萎缩,V型);DHTR缺乏症(雄激素不敏感综合征);弥漫性球状体硬化(克拉伯病(Krabbe disease));迪格奥尔格综合征(DiGeorge syndrome);二氢睾酮受体缺乏症(雄激素不敏感综合征);远端脊髓性肌萎缩V型;DM1(强直性肌营养不良1型);DM2(肌强直性营养不良2型);唐氏综合征;DSMAV(远端脊髓性肌萎缩,V型);DSN(夏科-马里-图思病4型);DSS(夏科-马里-图思病,4型);杜兴/贝克型肌营养不良症(肌营养不良,杜兴型和贝克型);软骨发育不全侏儒症(软骨发育不全);致死性侏儒症(致死性发育不良);侏儒症;侏儒症-视网膜萎缩-耳聋综合征(科凯恩综合症);脱髓鞘性脑白质营养不良(亚历山大病);肌营养不良症(肌强直性营养不良);营养不良性视网膜色素变性-骨发育不良综合征(乌谢尔综合征);早发家族性阿尔茨海默病(EOFAD)(阿尔茨海默病);EDS(埃勒斯-当洛综合征);埃勒斯-当洛综合征;埃-洛二氏病(Ekman-Lobstein disease)(成骨不全症);诱发性神经病变

(遗传性压迫易感性神经病);结节硬化症(Epiloia)(结节性硬化症);EPP(红细胞生成性原卟啉症);成红细胞性贫血(β地中海贫血);红细胞肝性卟啉症(红细胞生成性原卟啉症);红细胞5-氨基乙酰丙酸合成酶缺乏症(X-连锁性铁粒幼细胞性贫血);红细胞生成性卟啉症(先天性红细胞生成性卟啉症);红细胞生成性原卟啉病;红细胞生成性尿卟啉症(先天性红细胞生成性卟啉症);眼癌(成视网膜细胞瘤FA-弗里德赖希共济失调);法布里病;面部伤害和障碍;凝血因子V莱顿易栓症;FALS(肌萎缩侧索硬化);家族性听神经瘤(II型神经纤维瘤);家族性腺瘤性息肉病;家族性阿尔茨海默病(FAD)(阿尔茨海默病);家族性肌萎缩侧索硬化(肌萎缩侧索硬化);家族性自主神经异常;家族性脂肪诱导的高甘油三酯血症(脂蛋白脂肪酶缺乏症,家族性的);家族性血色病(血色病);家族性LPL缺乏症(脂蛋白脂肪酶缺乏症,家族性的);家族性非息肉病性结肠癌(遗传性非息肉性结肠直肠癌);家族性阵发性多发性浆膜炎(地中海热,家族性的);家族性PCT(迟发性皮肤卟啉病);家族性压力敏感型神经病(遗传性压迫易感性神经病);家族性原发性肺动脉高压(FPPH)(原发性肺动脉高压);家族性特纳综合征(努南综合征);家族性血管性白质脑病(CADASIL);FAP(家族性腺瘤性息肉病);FD(家族性自主神经异常);女性假特纳综合征(努南综合征);亚铁螯合酶缺乏症(红细胞生成性原卟啉症);铁转运蛋白病(血色病4型);发热(地中海热,家族性的);FG综合征;FGFR3相关的冠状骨性联结(Muenke综合征);星形胶质细胞纤维素样变性(亚历山大病);胰腺纤维囊性疾病(囊性纤维化);FMF(地中海热,家族性的);费林氏病(Folling disease)(苯丙酮尿症);fra(X)综合征(脆弱X综合征);脆弱X综合征;脆骨症(成骨不全症);FRAXA综合征(脆弱X综合征);FRDA(弗里德赖希的共济失调);弗里德赖希共济失调(弗里德里希的共济失调);弗里德赖希的共济失调;FXS(脆弱X综合征);G6PD缺乏症;半乳糖激酶缺乏症(半乳糖血症);半乳糖-1-磷酸尿苷酰转移酶缺乏症(半乳糖血症);半乳糖血症;半乳糖神经酰缺乏症(克拉伯病);半乳糖神经酰胺脂沉积症(克拉伯病);半乳糖苷脑苷脂酶缺乏症(克拉伯病);半乳糖鞘氨醇脂沉积症(克拉伯病);GALC缺乏症(克拉伯病);GALT缺乏症(半乳糖血症);戈谢病;戈谢样病(假戈谢病);GBA缺乏症(戈谢病1型);GD(戈谢病);遗传性脑病;遗传性肺气肿(α-1抗胰蛋白酶缺乏症);遗传性血色病(血色病);巨细胞肝炎,新生儿(新生儿血色病);GLA缺乏症(法布里病);视网膜成胶质细胞瘤(视网膜母细胞瘤);视网膜胶质瘤(视网膜母细胞瘤);球状细胞脑白质营养不良(GCL,GLD)(克拉伯病);球状细胞白质脑病(克拉伯病);葡萄糖脑苷脂酶缺乏症(戈谢病);葡萄糖脑苷脂沉积病(Glucocerebrosidosis)(戈谢病);葡萄糖脑苷脂沉积症(Glucosyl cerebroside lipidosis)(戈谢病);葡萄糖神经酰胺酶缺乏症(戈谢病);葡萄糖神经酰胺β-葡萄糖苷酶缺乏症(戈谢病);葡萄糖神经酰胺脂沉积症(戈谢病);甘油酸尿症(高草酸尿症,原发性的);甘氨酸脑病(非酮症高甘氨酸血症);乙醇酸尿症(高草酸尿症,原发性的);GM2神经节苷脂症,1型(泰伊-萨克斯二氏病(Tay-Sachs disease));甲状腺肿-耳聋综合征(彭德莱综合征);格雷费-乌谢尔综合征(Graefe-Usher syndrome)(乌谢尔综合征);格-斯综合征(Gronblad-Strandberg syndrome)(弹力纤维性假黄瘤);冈瑟卟啉症(Guenther porphyria)(先天性红细胞生成性卟啉症);冈瑟病(Gunther disease)(先天性红细胞生成性卟啉症);血色病(血色病);霍尔格伦综合征(Hallgren syndrome)(乌谢尔综合征);丑角鱼鳞癣;Hb S病(镰状细胞性贫血);HCH(软骨发育不全);HCP(遗传性粪卟啉症);头部和脑部畸形;听力障碍和耳聋;儿童听力问题;HEF2A(血色病2型);HEF2B(血色病2型);血卟啉症

(卟啉症);血红素合成酶缺乏症(红细胞生成性原卟啉症);血色素病(血色病);血色病;血红蛋白M病(高铁血红蛋白血症β-球蛋白型);血红蛋白S病(镰状细胞性贫血);血友病;HEP(肝红细胞生成性卟啉症);肝AGT缺乏症(高草酸尿症,原发性);肝红细胞生成性卟啉病;肝豆状核变性综合征(威尔逊病);遗传性关节病(斯蒂克勒综合征);遗传性粪卟啉病;遗传性异位脂肪沉积(法布里病);遗传性血色病(HHC)(血色病);遗传性包涵体肌病(骨骼肌再生);遗传性铁负荷性贫血(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);遗传性运动和感觉神经病(夏科-马里-图思病);遗传性运动神经病(脊髓性肌萎缩);遗传性运动神经病,V型(远端脊髓性肌萎缩,V型);遗传性多发性外生骨疣;遗传性非息肉病性结直肠癌;遗传性周期性发热综合征(地中海热,家族性的);遗传性息肉病(家族性腺瘤性息肉病);遗传性肺气肿(α-1抗胰蛋白酶缺乏症);遗传性抗活化的蛋白C症(凝血因子V莱顿易栓症);遗传性感觉和自主神经病III型(家族性自主神经异常);遗传性痉挛性截瘫(婴儿型上升性遗传性痉挛性瘫痪);遗传性脊髓共济失调(弗里德赖希共济失调);遗传性脊柱硬化症(弗里德赖希共济失调);赫里克氏贫血症(Herrick's anemia)(镰状细胞性贫血);杂合性OSMED(Weissenbacher-Zweymüller综合征);杂合性眼-耳-脊椎发育不良(Weissenbacher-Zweymüller综合征);HexA缺乏症(泰伊-萨克斯二氏病);氨基己糖苷酶A缺乏症(泰伊-萨克斯二氏病);氨基己糖苷酶α-亚基缺乏症(变体B)(泰伊-萨克斯二氏病);HFE相关的血色病(血色病);HGPS(儿童早衰症);希佩尔-林道病(冯希佩尔-林道病);HLAH(血色病);HMNV(远端脊髓性肌萎缩,V型);HMSN(夏科-马里-图思病);HNPCC(遗传性非息肉性结直肠癌);HNPP(遗传性压迫易感性神经病变);高胱氨酸尿症;尿黑酸氧化酶缺乏症(碱性尿道炎);尿黑酸尿症(碱性尿道炎);纯合性迟发性皮肤卟啉病(肝红细胞生成性卟啉症);HP1(高草酸尿,原发性);HP2(高草酸尿,原发性);HPA(高苯丙氨酸血症);HPRT-次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶缺乏症(莱施-尼汉综合征);HSAN III型(家族性自主神经异常);HSAN3(家族性自主神经异常);HSN-III(家族性自主神经异常);人皮肤脆裂症(埃勒斯-当洛综合征#皮肤脆裂型);亨廷顿氏病;哈钦森-吉尔福德早老综合征(Hutchinson-Gilford progeria syndrome)(早老症);由于21-羟化酶缺陷(21-羟化酶缺陷)导致的非经典型高雄激素血症;家族性的高乳糜微粒血症(脂蛋白脂肪酶缺乏症,家族性);伴酮酸中毒和白血球减少症的高甘氨酸血症(丙酸血症);I型高脂蛋白血症(脂蛋白脂肪酶缺乏症,家族性);原发性高草酸尿症;高苯丙氨酸血症(高苯丙氨酸血症);高苯丙氨酸血症;软骨发育不良(软骨发育不全);软骨形成不足;软骨发育不全;低色素性贫血(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);先天性低血压(门克斯综合征);次黄嘌呤磷酸核糖转移酶(HPRT)缺乏症(莱施-尼汉综合征);IAHSP(婴儿型上升性遗传性痉挛性瘫痪);特发性血色病(血色病,3型);特发性新生儿血色病(血色病,新生儿);特发性肺动脉高压(原发性肺动脉高压);免疫系统疾病(X连锁性严重联合免疫缺陷);色素失调症;婴儿脑戈谢病(戈谢病2型);婴儿戈谢病(戈谢病2型);婴儿型上升性遗传性痉挛性瘫痪;不育症;遗传性肺气肿(α-1抗胰蛋白酶缺乏症);遗传性人传染性海绵状脑病(朊病毒病);遗传性压力麻痹倾向(遗传性压迫易感性神经病);Insley-Astley综合征(眼-耳-脊椎发育不良);间歇性急性卟啉综合征(急性间歇性卟啉症);肠息肉-皮肤色素沉着综合征(Peutz-Jeghers综合征);IP(色素失调症);铁储存障碍(血色病);异双着丝粒(Isodicentric)15(idic15);孤立性耳聋(非综合征型耳聋);杰克逊-韦斯综合征;JH(血色病2型);Joubert综合征;JPLS(青少年原发性侧索硬化);幼年型肌萎缩侧索硬化(肌萎缩侧索硬化2型);青少年痛风-舞蹈手

足徐动症-精神发育迟滞综合征(莱施-尼汉综合征);青少年高尿酸血症综合征(莱施-尼汉综合征);JWS(Jackson-Weiss综合征);KD(X连锁性脊髓延髓肌萎缩症);肯尼迪病(X连锁性脊髓延髓肌萎缩症);肯尼迪脊髓延髓肌萎缩症(X连锁性脊髓延髓肌萎缩症);角苷脂组织细胞增多症(戈谢病);角苷脂沉积症(戈谢病);角苷脂沉着症(戈谢病);酮性甘氨酸血症(丙酸血症);酮性高甘氨酸血症(丙酸血症);肾脏疾病(高草酸尿症,原发性);克兰费尔特综合征;克兰费尔特综合征;Kniest发育不良;克拉伯病;腔隙性痴呆(CADASIL);Langer-Saldino软骨形成(软骨形成,II型);Langer-Saldino发育不良(软骨形成,II型);迟发性阿尔茨海默病(阿尔茨海默病2型);迟发性家族性阿尔茨海默病(AD2)(阿尔茨海默病2型);迟发性克拉伯病(LOKD)(克拉伯病);学习障碍症(学习障碍);口周着色斑病(Peutz-Jeghers综合征);莱施-尼汉综合征;脑白质营养不良;罗森塔尔纤维(Rosenthal fiber)引起的脑白质营养不良(亚历山大病);海绵状脑白质营养不良(卡纳万病);LFS(李-佛美尼综合征(Li-Fraumeni syndrome));李-佛美尼综合征;脂肪酶D缺乏症(脂蛋白脂肪酶缺乏症,家族性);LIPD缺乏症(脂蛋白脂肪酶缺乏症,家族性);脑苷脂沉积病(戈谢病);婴儿型神经节苷脂沉积症(泰伊-萨克斯二氏病);类脂组织细胞增多症(kerasin型)(戈谢病);家族性脂蛋白脂酶缺乏症;肝脏疾病(半乳糖血症);Lou Gehrig病(肌萎缩侧索硬化);路易斯-巴综合征(Louis-Bar syndrome)(共济失调-毛细血管扩张症);Lynch综合征(遗传性非息肉性结直肠癌);赖氨酰-羟化酶缺乏症(埃勒斯-当洛综合征脊柱后侧凸型);马查多-约瑟夫病(Machado-Joseph disease)(脊髓小脑性共济失调3型);男性乳腺癌(乳腺癌);男性生殖器官疾病;男性特纳综合征(努南综合征);乳腺的恶性赘生物(乳腺癌);乳腺的恶性肿瘤(乳腺癌);膀胱的恶性肿瘤(膀胱癌);乳房的癌症(乳腺癌);马凡综合征15(Marfan syndrome);标志物X综合征(脆弱X综合征);马丁-贝尔综合征(Martin-Bell syndrome)(脆弱X综合征);McCune-Albright综合征;麦克劳德综合征(McLeod syndrome);MEDNIK;地中海贫血(β地中海贫血);家族性地中海热;巨骺侏儒症(眼-耳-脊椎发育不良);Menkea综合征(门克斯综合征);门克斯综合征;伴有骨软骨异常的精神发育迟缓(Coffin-Lowry综合征);代谢紊乱;间向性侏儒症,II型(Kniest发育不良);间向性发育不良II型(Kniest发育不良);高铁血红蛋白血症β-球蛋白型;甲基丙二酸血症;MFS(马凡综合征);MHAM(考登综合征);MK(门克斯综合征);微综合征;小头畸形;MMA(甲基丙二酸血症);MNK(门克斯综合征);单体性1p36综合征(1p36缺失综合征);单体性X(特纳综合征);运动神经病,肌萎缩侧索硬化(肌萎缩侧索硬化);运动障碍;Mowat-Wilson综合征;黏多糖贮积症(MPS I);粘液病(囊性纤维化);Muenke综合征;多梗死性痴呆(CADASIL);迟发性多发性羧化酶缺乏症(生物素酶缺乏症);多发性错构瘤综合征(Cowden综合征);多发性神经纤维瘤病(神经纤维瘤病);肌营养不良;杜兴型和贝克型肌营养不良;肌强直萎缩症(肌强直性营养不良);营养不良性肌强直症(肌强直性营养不良);强直性肌营养不良症;先天性粘液性水肿(先天性甲状腺功能减退症);Nance-Insley综合征(眼-耳-脊椎发育不良);Nance-Sweeney软骨发育不良(眼-耳-脊椎发育不良);NBIA1(泛酸激酶相关的神经变性);尼尔-丁沃尔综合征(科凯恩氏综合征);视网膜成神经细胞瘤(视网膜母细胞瘤);伴脑内铁沉积性神经变性病1型(泛酸激酶相关的神经变性);神经纤维瘤病I型;神经纤维瘤病II型;神经系统疾病;神经肌肉疾病;远端遗传运动的神经病变,V型(远端脊髓性肌萎缩V型);伴锥体束征的远端遗传性运动神经病变(肌萎缩侧索硬化4型);NF(神经纤维瘤病);尼曼-皮克(尼曼-皮克病(Niemann-Pick

disease));Noack综合征(Pfeiffer综合征);非酮症高甘氨酸血症(甘氨酸脑病);非神经性戈谢病(戈谢病1型);非苯丙酮酸高苯丙氨酸血症(四氢生物蝶呤缺乏症);非综合征性耳聋;努南综合征;Norrbottnian戈谢病(戈谢病3型);褐黄病(碱性尿道炎);褐黄病性关节炎(碱性尿道炎);OI(成骨不全症);OSMED(眼-耳-脊椎发育不良);成骨不全症;骨脆症(成骨不全症);先天性骨硬化症(软骨发育不全);眼-耳-脊椎发育不良(眼-耳-脊椎发育不良);眼-耳-脊椎发育不良;草酸盐沉着症(高草酸尿症,原发性);原发性草酸尿(高草酸尿,原发性);泛酸激酶相关的神经变性;帕托综合征(Patau Syndrome)(三体性13);PBGD缺乏症(急性间歇性卟啉症);PCC缺乏症(丙酸血症);PCT(迟发性皮肤卟啉病);PDM(肌强直性营养不良#2型);彭德莱综合征;周期性病(地中海热,家族性);周期性腹膜炎(地中海热,家族性);口周着色斑病综合征(Peutz-Jeghers综合征);周围神经障碍(家族性自主神经异常);周围神经纤维瘤病(神经纤维瘤病1);腓骨肌萎缩症(夏科-马里-图思病);过氧化物酶体丙氨酸:乙醛酸转氨酶缺乏症(高草酸尿症,原发性);Peutz-Jeghers综合征;普费弗综合征;苯丙氨酸羟化酶缺乏症(苯丙酮尿症);苯丙酮尿症;嗜铬细胞瘤(冯希佩尔-林道病);伴胎儿软骨发育不良的Pierre Robin综合征(Weissenbacher-Zweymüller综合征);色素性肝硬化(血色病);PJS(Peutz-Jeghers综合征);PKAN(泛酸激酶相关的神经变性);PKU(苯丙酮尿症);铅卟啉症(ALA缺乏性卟啉症);PMA(夏科-马里-图思病);多囊纤维发育不良(McCune-Albright综合征);结肠息肉病(家族性腺瘤性息肉病);错构瘤样肠病(Peutz-Jeghers综合征);肠息肉病,II型(Peutz-Jeghers综合征);息肉斑综合征(Peutz-Jeghers综合征);胆色素原合酶缺乏症(ALA缺乏性卟啉症);卟啉病;卟啉症(卟啉病);PPH(原发性肺动脉高压);PPOX缺乏症(不定性卟啉病);Prader-Labhart-Willi综合征(Prader-Willi综合征);Prader-Willi综合征;早衰和老年性痴呆(阿尔茨海默病);原发性血色病(血色病);原发性高尿酸血症综合征(莱施-尼汉综合征);原发性肺动脉高压;原发性老年性退行性痴呆(阿尔茨海默病);朊病毒病;突变型前胶原型EDS VII(埃莱尔-当洛综合征关节松弛型);早老(哈钦森吉尔夫德早老综合征);早老样综合征(科凯恩氏综合征);类早老性侏儒症(科凯恩氏综合征);慢性遗传性进行性舞蹈病(亨廷顿舞蹈症)(亨廷顿氏病);进行性肌萎缩(脊髓性肌萎缩);伴正常巩膜的进行性变形的成骨不全症(成骨不全症III型);PROMM(肌强直性营养不良2型);丙酸血症;丙酰辅酶A羧化酶缺乏症(丙酸血症);蛋白C缺乏症;蛋白S缺乏症;原卟啉症(红细胞生成性原卟啉症);原卟啉原氧化酶缺乏症(不定性卟啉病);近端肌强直性营养不良(肌强直性营养不良2型);近端肌强直性肌病(肌强直性营养不良2型);假戈谢病;假Ullrich-特纳综合征(努南综合征);弹性纤维假黄瘤;精神病性脂沉积症(克拉伯病);肺动脉高压(原发性肺动脉高压);肺动脉高压(原发性肺动脉高压);PWS(Prader-Willi综合征);PXE-弹性纤维假黄瘤(弹性纤维假黄瘤);Rb(视网膜母细胞瘤);雷克林豪森神经病(神经纤维瘤病1);复发性多浆膜炎(地中海热,家族性);视网膜病变;视网膜色素变性-耳聋综合征(乌谢尔综合征);视网膜母细胞瘤;瑞特综合征;RFALS 3型(肌萎缩侧索硬化2型);Ricker综合征(肌强直性营养不良2型);莱利-戴综合征(Riley-Day syndrome)(家族性自主神经异常);罗-雷二氏综合征(Roussy-Levy syndrome)(夏科-马里-图思病);RSTS(鲁宾斯坦-泰比综合征);RTS(瑞特综合征)(鲁宾斯坦-泰比综合征);RTT(瑞特综合征);鲁宾斯坦-泰比综合征;Sack-Barabas综合征(埃勒斯-当洛综合征,血管型);SADDAN;李-佛美尼的家族性肉瘤综合征(李-佛美尼综合征);肉瘤-乳腺-白血病-肾上腺(SBLA)综

合征(李-佛美尼综合征);SBLA综合征(李-佛美尼综合征);SBMA(X连锁性脊髓延髓肌萎缩症);SCD(镰状细胞性贫血);双侧听神经鞘瘤(神经纤维瘤2);SCIDX1(X连锁性严重联合免疫缺陷);结节性硬化(结节性硬化症);SDAT(阿尔茨海默病);先天性SED(先天性脊椎骨骺发育不良);SED Strudwick(脊椎干骺端发育不良,Strudwick型);SEDc(先天性脊椎-骨骺发育不良);SEMD,Strudwick型(脊椎干骺端发育不良,Strudwick型);老年性痴呆(阿尔茨海默病2型);发育迟缓和黑棘皮病的严重软骨发育不全(SADDAN);Shprintzen综合征(22q11.2缺失综合征);镰状细胞性贫血;骨骼-皮肤-脑综合征(SADDAN);皮肤色素沉积症;SMA(脊髓性肌萎缩症);SMED,Strudwick型(脊椎干骺端发育不良,Strudwick型);I型SMED(脊椎干骺端发育不良,Strudwick型);史密斯Lemli Opitz综合征;南非遗传性卟啉病(不定性卟啉病);痉挛性瘫痪,婴儿型上升性(婴儿型上升性遗传性痉挛性瘫痪);言语和交流障碍;泰伊-萨克斯鞘脂病(泰伊-萨克斯二氏病);脊髓延髓肌萎缩症;脊髓性肌萎缩症;脊髓性肌萎缩,远端V型(远端脊髓型肌萎缩型V型);上肢主导的远端脊髓性肌萎缩(远端脊髓性肌萎缩V型);脊髓小脑性共济失调;脊椎干骺端发育不良,Strudwick型;先天性脊椎骨骺发育不良;脊椎骨骺发育不良(胶原病,II型和XI型);先天性脊椎干骺端发育不良,Strudwick型(脊椎干骺端发育不良,Strudwick型);脊椎干骺端发育不良(SMD)(脊椎骨骺发育不良,Strudwick型);脊椎干骺端发育不良,Strudwick型(脊椎骨骺发育不良,Strudwick型);中枢神经系统海绵状变性(卡纳万病);脑海绵状变性(卡纳万病);婴儿时期的白质海绵状变性(卡纳万病);散发性原发性肺动脉高压(原发性肺动脉高压);SSB综合征(SADDAN);钢发综合征(门克斯综合征);斯太纳特病(Steinert disease)(肌强直性营养不良);斯太纳特肌强直性营养不良综合征(肌强直性营养不良);斯蒂克勒综合征;中风(CADASIL);Strudwick综合征(脊椎干骺端发育不良,Strudwick型);亚急性神经性戈谢病(戈谢病3型);瑞典遗传性卟啉病(急性间歇性卟啉症);瑞典卟啉症(急性间歇性卟啉症);瑞士奶酪软骨发育不良(Kniest dysplasia);泰伊-萨克斯二氏病;TD-致死性侏儒症(致死性发育不良);伴直股骨和苜蓿叶颅骨的TD(致死性发育不良2型);小脑-眼皮肤的毛细血管扩张症(共济失调-毛细血管扩张症);睾丸女性化综合征(雄激素不敏感综合征);四氢生物蝶呤缺乏症;TFM-睾丸女性化综合征(雄激素不敏感综合征);中间型地中海贫血(β地中海贫血);主要型地中海贫血(β地中海贫血);致死性发育不良;伴糖尿病和感觉神经性耳聋的硫胺素反应性巨成红细胞性贫血;由于缺乏活化蛋白C的辅因子导致的易栓症,莱顿型(凝血因子V莱顿易栓症);甲状腺疾病;腊肠样神经病(遗传性压迫易感性神经病);总HPRT缺乏症(莱施-尼汉综合征);总次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶缺乏症(莱施-尼汉综合征);图雷特综合征(Tourette's Syndrome);可传播的痴呆症(朊病毒病);传染性海绵状脑病(朊病毒病);特雷彻·柯林斯综合征(Treacher Collins syndrome);第三型脆骨病(Trias fragilitis ossium)(成骨不全症I型);三重X综合征;XXX综合征(三重X综合征);三体性21(唐氏综合征);三体性X(三重X综合征);Troisier-Hanot-Chauffard综合征(血色病);TS(特纳综合征);TSD(泰伊-萨克斯二氏病);TSE(朊病毒病);结节状硬化(结节性硬化症);结节性硬化症;特纳综合征;具有X染色体的女性特纳综合征(努南综合征);核型正常的特纳表型(努南综合征);特纳综合征(特纳综合征);特纳样综合征(努南综合征);2型戈谢病(戈谢病2型);3型戈谢病(戈谢病3型);UDP-半乳糖-4-差向异构酶缺乏症(半乳糖血症);UDP葡萄糖4-差向异构酶缺乏症(半乳糖血症);UDP葡萄糖己糖-1-磷酸尿苷酰转移酶缺乏症(半

乳糖血症);Ullrich-努南综合征(努南综合征);Ullrich-特纳综合征(特纳综合征);未分化性耳聋(非综合征性耳聋);UPS缺乏症(急性间歇性卟啉症);膀胱癌(Urinary bladder cancer)(膀胱癌(bladder cancer));UROD缺乏症(迟发性皮肤卟啉病);尿卟啉原脱羧酶缺乏症(迟发性皮肤卟啉病);尿卟啉原合酶缺乏症(急性间歇性卟啉症);UROS缺乏症(先天性红细胞生成性卟啉症);乌谢尔综合征;UTP己糖-1-磷酸尿苷酰转移酶缺乏症(半乳糖血症);Van Bogaert-Bertrand综合征(卡纳万病);范德霍夫综合征(Van der Hoeve syndrome)(成骨不全症I型);不定性卟啉病;Velocardiofacial综合征(22q11.2缺失综合征);VHL综合征(冯希佩尔·林道病);视力障碍和失明(Alstrom综合征);Von Bogaert-Bertrand病(卡纳万病);冯希佩尔-林道病;Von Recklenhausen-Applebaum病(血色病);冯雷克林豪森病(神经纤维瘤病1);VP(不定性卟啉病);Vrolik病(成骨不全症);Waardenburg综合征;Warburg Sjo Fledelius综合征(微综合征);WD(威尔逊病);Weissenbacher-Zweymüller综合征;威尔逊病;威尔逊氏病(威尔逊病);Wolf-Hirschhorn综合征;沃尔夫周期性病(地中海热,家族性);WZS(Weissenbacher-Zweymüller综合征);Xeroderma Pigmentosum;X连锁性智力低下和大睾丸(脆弱X综合征);X连锁性原发性高尿酸血症(莱施-尼汉综合征);X连锁性严重联合免疫缺乏症;X连锁性铁粒幼细胞性贫血;X连锁性脊髓延髓肌萎缩症(肯尼迪病);X连锁性尿酸尿酶缺乏症(莱施-尼汉综合征);X-SCID(X连锁性严重联合免疫缺陷);XLSA(X连锁性铁粒幼细胞性贫血);XSCID(X连锁性严重联合免疫缺陷);XXX综合征(三重X综合征);XXXX综合征(48,XXXX);XXXXX综合征(49,XXXXX);XXY综合征(克兰费尔特综合征);XXY三体性(克兰费尔特综合征);XYY核型(47,XYY综合征);XYY综合征(47,XYY综合征);和YY综合征(47,XYY综合征)。

[0414] 在本发明的优选实施方式中,该方法还包括使根据本发明的RNA分子(全部或仅一部分的分子)与一种或多种阳离子或聚阳离子化合物、优选与阳离子或聚阳离子聚合物、阳离子或聚阳离子肽或蛋白质(例如,鱼精蛋白)、阳离子或聚阳离子多糖和/或阳离子或聚阳离子脂质复合的步骤。

[0415] 还提供了通过根据本发明的方法生产的RNA分子组合物和包含根据本发明的RNA分子组合物和药学上可接受的辅料的药物组合物。药学上可接受的辅料包含通常用于药物组合物中的所有物质。实例是生理上可接受的缓冲剂,如磷酸盐缓冲剂(优选磷酸氢二钠-磷酸二氢钠体系)、柠檬酸盐缓冲剂、乳酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、碳酸盐缓冲剂、Bis Tris、MES和甘氨酸-HCl;表面活性剂,如聚氧乙烯脱水山梨糖醇烷基酯;多元醇,如糖醇,如甘露糖醇或山梨醇。RNA分子组合物的pH优选在6至8的范围内,更优选在6.5至7.5的范围内。

[0416] 在优选的实施方式中,根据本发明的RNA分子组合物中的RNA分子全部或部分地与一种或多种阳离子或聚阳离子化合物、优选与阳离子或聚阳离子聚合物、阳离子或聚阳离子肽或蛋白质(例如,鱼精蛋白)、阳离子或聚阳离子多糖和/或阳离子或聚阳离子脂质复合。

[0417] 根据优选的实施方式,根据本发明的组合物的RNA分子可以全部或部分地与脂质复合,以形成一种或多种脂质体、脂质复合物或脂质纳米颗粒。因此,在一个实施方式中,RNA分子组合物包含脂质体、脂质复合物和/或脂质纳米颗粒。

[0418] 由于基于脂质的制剂具有生物相容性且易于大规模生产,因而越来越将它们认为

是用于RNA的最有希望的递送系统之一。已经将阳离子脂质作为递送RNA的合成材料进行了广泛研究。在将它们混合在一起后，阳离子脂质将核酸缩合以形成已知为脂质复合物的脂质/核酸复合物。这些脂质复合物能够保护遗传物质免受核酸酶破坏，并通过与带负电荷的细胞膜相互作用将其递送到细胞中。可以通过在生理pH下将带正电的脂质与带负电荷的核酸直接混合来制备脂质体复合物。

[0419] 常规的脂质体由可由阳离子(磷酸基)脂质、阴离子(磷酸基)脂质或中性(磷酸基)脂质和胆固醇组成的脂质双层组成，其包封水性核心。脂质双分子层和水性空间都可以分别掺入疏水性化合物或亲水性化合物。可以通过向脂质体表面添加涂覆(例如，聚乙二醇(PEG))的亲水性聚合物以赋予空间稳定性，来改变脂质体特性和体内行为。此外，可以通过将配体(例如，抗体、肽和碳水化合物)连接到脂质体表面或所连接的PEG链末端而将该脂质体用于特异性靶向。

[0420] 脂质体是基于胶体脂质和基于表面活性剂的递送系统，其由围绕水性隔室的磷脂双层组成。它们可能作为球形囊泡而存在，其大小可以在从20纳米到几微米的范围内。基于阳离子脂质的脂质体能够通过静电相互作用与带负电荷的核酸复合，从而使产生的复合物具有生物相容性、低毒性并且可能进行体内临床应用所需的大规模生产。脂质体可以与质膜融合以供摄取；脂质体一旦进入细胞内部，便通过内吞途径对其进行加工，然后从内体/载体释放遗传物质到细胞质中。基于脂质体本质上是生物膜的类似物并且可以由天然磷脂和合成磷脂制备其，它们具有优异的生物相容性，因而长期以来将脂质体认作为药物递送载体。

[0421] 传统上已经将阳离子脂质体最普遍地用于寡核苷酸的非病毒性递送系统，该寡核苷酸包括质粒DNA、反义寡聚物和siRNA/小发夹RNA-shRNA)。阳离子脂质，如(DOTAP)(1,2-二油酰-3-三甲基铵-丙烷)和DOTMA(N-[1-(2,3-二油酰氧基)丙基]-N,N,N-三甲基-甲基硫酸铵)，可以与带负电的核酸形成复合物或脂质复合物，将该复合物或脂质复合物通过静电相互作用以形成纳米颗粒，从而提供较高的体外转染效率。此外，开发了用于RNA递送的基于中性脂质的纳米脂质体(例如，基于中性1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱(DOPC)的纳米脂质体)。

[0422] 因此，在一个实施方式中，RNA分子与阳离子脂质和/或中性脂质复合，从而形成脂质体、脂质纳米颗粒、脂质复合物或基于中性脂质的纳米脂质体。

[0423] 在优选的实施方式中，根据本发明RNA分子组合物中的RNA分子与阳离子或聚阳离子化合物和/或与聚合物载体配制在一起。因此，在本发明的其它实施方式中，优选将如本文定义的RNA分子或本发明(药物)组合物或疫苗中所包含的任何其它核酸与阳离子或聚阳离子化合物或聚合物载体结合或复合，可选的RNA或核酸与阳离子或聚阳离子化合物和/或与聚合物载体的重量比选自约6:1(w/w)至约0.25:1(w/w)的范围、更优选从约5:1(w/w)至约0.5:1(w/w)、甚至更优选从约4:1(w/w)至约1:1(w/w)或约3:1(w/w)至约1:1(w/w)、且最优选比率为约3:1(w/w)至约2:1(w/w)；或者可选的RNA分子或核酸与阳离子或聚阳离子化合物和/或聚合物载体的氮/磷酸酯比(N/P)在约0.1-10的范围内、优选在约0.3-4或0.3-1的范围内、且最优选在约0.5-1或0.7-1的范围内、且甚至更优选在约0.3-0.9或0.5-0.9的范围内。更优选地，RNA与一种或多种聚阳离子的N/P比在约0.1至10的范围内，包括约0.3至4、约0.5至2、约0.7至2和约0.7到1.5的范围。

[0424] 其中，如本文定义的RNA和RNA分子或根据本发明的(药物)组合物或疫苗中所包含的任何其它核酸还可以与转染剂或复合剂载体结合，用于提高根据本发明的RNA/mRNA或可选包含的另外包含的核酸的转染效率和/或免疫刺激性质。

[0425] 作为本文中特别优选的试剂的阳离子或聚阳离子化合物包括鱼精蛋白、核苷线(nucleoline)、精胺或亚精胺、或其它阳离子肽或蛋白质(如聚-L-赖氨酸(PLL)、聚精氨酸、碱性多肽、细胞穿透肽(CPP)(包括HIV结合肽、HIV-1 Tat(HIV)、源自Tat的肽、Penetratin、源自VP22的肽或类似肽、HSV VP22(单纯性疱疹)、MAP、KALA或蛋白转导结构域(PTD)、PpT620、富含脯氨酸的肽、富含精氨酸的肽、富含赖氨酸的肽、一种或多种MPG-肽、Pep-1、L-寡聚物、一种或多种降钙素肽、源自触角足基因(Antennapedia)的肽(特别是源自果蝇触角足(Drosophila antennapedia))、pAntp、pIs1、FGF、乳铁蛋白、Transportan、Buforin-2、Bac715-24、SynB、SynB(1)、pVEC、源自hCT的肽、SAP或组蛋白))。更优选地，根据本发明的mRNA/RNA与一种或多种聚阳离子，优选与鱼精蛋白或oligofectamine(一种转染试剂)，最优选与鱼精蛋白复合。在该上下文中，特别优选鱼精蛋白。

[0426] 另外，优选的阳离子或聚阳离子蛋白质或肽可以选自以下具有以下总式(I)的蛋白质或肽：

[0427] $(Arg)_l;(Lys)_j;(His)_h;(Orn)_o;(Xaa)_x$， (式(I))

[0428] 其中l+j+h+o+x＝8-15，并且l、j、h或o彼此独立地可以是选自0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15，条件是Arg、Lys、His和Orn的总含量占寡肽所有氨基酸的至少50％；并且Xaa可以是选自除Arg、Lys、His或Orn之外的天然(＝天然存在的)或非天然氨基酸的任何氨基酸；并且x可以是选自0、1、2、3或4的任何数字，条件是Xaa的总含量不超过寡肽所有氨基酸的50％。在该上下文中特别优选的阳离子肽是，例如Arg_7、Arg_8、Arg_9、H_3R_9、R_9H_3、$H_3R_9H_3$、$YSSR_9SSY$、$(RKH)_4$、Y$(RKH)_2$R等。在该上下文中，将WO2009/030481的公开内容通过引用并入本文。

[0429] 可以用作转染剂或复合剂的其它优选的阳离子或聚阳离子化合物可以包括阳离子多糖(例如壳聚糖)、聚凝胺、阳离子聚合物(例如聚亚乙基亚胺(PEI))、阳离子脂质(例如，DOTMA:[1-(2,3-二油酰氧基)丙基)]-N,N,N-三甲基-氯化铵、DMRIE、二-C14-脒、DOTIM、SAINT、DC-Chol、BGTC、CTAP、DOPC、DODAP、DOPE:二油基磷脂酰乙醇胺、DOSPA、DODAB、DOIC、DMEPC、DOGS:双十八烷基酰胺基-甘氨酰基精胺、DIMRI:二肉豆蔻酰氧基丙基二甲基羟乙基溴化铵、DOTAP:二油酰氧基-3-(三甲铵基)丙烷、DC-6-14:O,O'-二肉豆蔻酰-N-(-三甲基乙酰铵)氯二乙醇胺、CLIP1:外消旋-[(2,3-双十八烷氧基丙基)(2-羟乙基)]-二甲基氯化铵、CLIP6:外消旋-[2(2,3-二-十六烷基氧基丙基-氧基甲氧基)乙基]三甲胺、CLIP9:外消旋-2(2,3-二-十六烷基氧基丙基-氧基琥珀酰氧基)乙基-三甲胺)、oligofectamine、或者阳离子或聚阳离子聚合物(例如，改性的聚氨基酸(如α-氨基酸-聚合物或反相聚酰胺等)、改性的聚乙烯(如PVP(聚(N-乙基-4-乙烯基吡啶鎓溴化物))等)、改性的丙烯酸酯(如pDMAEMA(聚(甲基丙烯酸二甲基氨基乙基酯))等)、改性的酰胺胺(如pAMAM(聚(酰胺胺))等)、改性的聚β氨基酯(PBAE)(如二胺末端改性的1,4-丁二醇二丙烯酸酯-共-5-氨基-1-聚戊烯聚合物等)、树状聚合物(如聚丙胺树状聚合物或基于pAMAM的树状聚合物等)、聚亚胺(如PEI:聚(亚乙基胺)、聚(亚丙基亚胺)等)、聚烯丙胺、基于糖骨架的聚合物(如基于环糊精的聚合物、基于葡聚糖的聚合物、几丁聚糖等)、基于硅烷骨架的聚合物(如PMOXA-PDMS共聚物等)、

由一种或多种阳离子嵌段(例如,选自如上所述的阳离子聚合物)和一种或多种亲水性或疏水性嵌段(例如,聚乙二醇)的组合所组成的嵌段共聚物;等等)。

[0430] 根据优选的实施方式,本发明的RNA分子组合物包含如本文定义的RNA分子和聚合物载体。根据本发明采用的聚合物载体可以是由二硫化物交联的阳离子组分形成的聚合物载体。二硫化物交联的阳离子组分可以是彼此相同或不同的。聚合物载体还可以含有其它组分。还特别优选的是,根据本发明所采用的聚合物载体包含如本文所述的二硫键交联的阳离子肽、蛋白质或聚合物和可选的如本文所述的其它组分的混合物。在该上下文中,通过引用将WO2012/013326的公开内容合并于此。

[0431] 在该上下文中,由二硫键交联形成聚合物载体基础的阳离子组分通常选自适用于该目的的任何合适的阳离子或聚阳离子的肽、蛋白质或聚合物,特别是能够将本文所定义的mRNA或组合物中所包含的其它核酸复合的任何阳离子或聚阳离子的肽、蛋白质或聚合物,从而优选将(m)RNA或核酸缩合。阳离子或聚阳离子的肽、蛋白质或聚合物优选为线性分子,然而也可采用支化的阳离子或聚阳离子肽、蛋白质或聚合物。

[0432] 可以用于复合根据本发明的RNA分子或本发明的(药物)组合物或疫苗中所包含的任何其它核酸的聚合物载体的任何二硫键交联的阳离子或聚阳离子蛋白质、肽或聚合物含有至少一个-SH部分,最优选至少一个半胱氨酸残基、或任何显示-SH部分的其它化学基团,它们能够在与至少一种另外的阳离子或聚阳离子蛋白质、肽或聚合物(作为如本文提及的聚合物载体的阳离子组分)缩合时形成二硫键。

[0433] 如上所述,可以用于复合本发明的RNA分子或根据本发明的(药物)组合物或疫苗中所包含的任何其它核酸的聚合物载体,可以是由二硫键交联的阳离子(或聚阳离子)组分形成的。优选地,包含或另外经修饰以包含至少一个-SH部分的此类聚合物载体的阳离子或聚阳离子肽或蛋白质或聚合物选自本文定义的用于复合剂的蛋白质、肽和聚合物。

[0434] 在另一个具体的实施方式中,可以用于复合如本文定义的RNA分子或根据本发明的(药物)组合物或疫苗中包含的任何其它核酸的聚合物载体可以选自根据通式(II)的聚合物载体分子:

[0435] L-P1-S-[S-P2-S]$_k$-S-P3-L式(II)

[0436] 其中,

[0437] P1和P3彼此不同或相同并且表示线性或支化的亲水性聚合物链,每个P1和P3显示出至少一个-SH-部分,该-SH-部分在与组分P2或可选地与(AA)、(AA)$_x$或[(AA)$_x$]$_z$(如果将该组分用作P1与P2或P3与P2之间的连接基团)和/或与其它组分(例如,(AA)、(AA)$_x$、[(AA)$_x$]$_z$或L)缩合后能够形成二硫键,线性或支化的亲水性聚合物链彼此独立地选自聚乙二醇(PEG)、聚-N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺、聚-2-(甲基丙烯酰氧基)乙基磷酰胆碱、聚(羟烷基L-天冬酰胺)、聚(2-(甲基丙烯酰氧基)乙基磷酰胆碱)、羟乙基淀粉或聚(羟烷基L-谷氨酰胺),其中亲水性聚合物链的分子量显示为约1kDa至约100kDa、优选约2kDa至约25kDa;或更优选约2kDa至约10kDa,例如,约5kDa至约25kDa或5kDa至约10kDa;

[0438] P2是阳离子或聚阳离子肽或蛋白质,例如,如上文所定义的用于由二硫化物交联阳离子组分形成的聚合物载体的,并且优选长度为约3至约100个氨基酸,更优选长度为约3至约50个氨基酸,甚至更优选长度为约3至约25个氨基酸,例如长度为约3至10个、5至15个、10至20个或15至25个氨基酸,更优选长度为约5至约20个,甚至更优选长度为约10至约20

个;或

[0439] 是阳离子或聚阳离子聚合物,例如,如上文所定义的用于由二硫化物交联的阳离子组分形成的聚合物载体的,通常分子量为约0.5kDa至约30kDa,包括约1kDa至约20kDa、甚至更优选约1.5kDa至约10kDa的分子量,或分子量为约0.5kDa至约100kDa,包括约10kDa至约50kDa、甚至更优选约10kDa至约30kDa的分子量;

[0440] 每个P2显示出至少两个-SH-部分,该SH-部分在与其它组分P2或组分P1和/或P3或者可替换地与其它组分(例如,(AA)、$(AA)_x$或$[(AA)_x]_z$)缩合后能够形成二硫键;

[0441] -S-S-是(可逆的)二硫键(省略括号以便于阅读),其中S优选表示已形成(可逆的)二硫键的硫或携带-SH的部分。(可逆的)二硫键优选是由组分P1和P2、P2和P2或P2和P3(或者可选的本文所定义的其它组分(例如,L、(AA)、$(AA)_x$、$[(AA)_x]_z$等))的-SH-部分的缩合所形成的;-SH-部分可以是这些组分结构的一部分或者通过如下定义的修饰将该-SH-部分加入;

[0442] L是可选的配体,其可以存在或不存在,并且可以独立地选自来自以下的其它物质:RGD、转铁蛋白、叶酸、信号肽或信号序列、定位信号或序列、核定位信号或序列(NLS)、抗体、细胞穿透肽(例如,TAT或KALA)、受体配体(例如,细胞因子、激素、生长因子等)、小分子(例如,碳水化合物、如甘露糖或半乳糖或合成配体)、小分子激动剂、受体的抑制剂或拮抗剂(例如,RGD拟肽类似物)或本文定义的任何其它蛋白质等;

[0443] k是整数,通常选自约1至50的范围,优选约1、2或3至30的范围,更优选约1、2、3、4或5至25的范围,或约1、2、3、4或5至20的范围,或约1、2、3、4或5至15的范围,或约1、2、3、4或5至10的范围,包括例如约4至9、4至10、3至20、4至20、5至20或10至20的范围,或约3至15、4至15、5至15或10至15的范围,或约6至11或7至10的范围。最优选地,k是在约1、2、3、4或5至10的范围内,更优选在约1、2、3或4至9的范围内,在约1、2、3或4至8的范围内,或在约1、2或3至7的范围内。

[0444] 在该上下文中,通过引用将WO 2011/026641的公开内容并入本文。亲水性聚合物P1和P3中的每一个通常显示出至少一个-SH-部分,其中至少一个-SH-部分在与组分P2或与组分(AA)或$(AA)_x$(如果将该至少一个-SH-部分用作下面定义的P1和P2或P3和P2之间的连接基团)并且可选与其它组分例如L和/或(AA)或$(AA)_x$(例如,如果含有两个或更多个-SH-部分)反应后能够形成二硫键。省略括号以便于阅读,上述通式(II)中的以下子式"P1-S-S-P2"和"P2-S-S-P3"(其中,S、P1和P3中的任一个如本文所定义)通常代表其中亲水性聚合物P1和P3的一个-SH-部分与以上通式(II)的组分P2的一个-SH-部分缩合,其中这些-SH-部分的两个硫都形成如本文在式(II)中所定义的二硫键-SS-。这些-SH-部分通常是由亲水性聚合物P1和P3中的每一种提供的,例如通过携带-SH部分的内部半胱氨酸或任何其它(修饰)的氨基酸或化合物提供。因此,如果-SH-部分由半胱氨酸提供,那么也可以将子式"P1-S-S-P2"和"P2-S-S-P3"写成为"P1-Cys-Cys-P2"和"P2-Cys-Cys-P3",其中术语Cys-Cys表示经由二硫键而非经由肽键偶联的两个半胱氨酸。在这种情况下,也可以将这些式中的术语"-S-S-"写成"-S-Cys"、"-Cys-S"或"-Cys-Cys-"。在此上下文中,术语"-Cys-Cys-"不代表肽键,而代表两个半胱氨酸的键合,通过它们的-SH-部分形成二硫键。因此,通常也可以将术语"-Cys-Cys-"理解为"-(Cys-S)-(S-Cys)-",其中在该特定情况下,S表示半胱氨酸的-SH-部分的硫。同样,术语"-S-Cys"和"-Cys-S"表示含-SH的部分和半胱氨酸之间的二硫键,其

也可以将其写成“-S-(S-Cys)”和“-(Cys-S)-S”。可替换地，可以用-SH部分对亲水性聚合物P1和P3进行修饰，优选用携带-SH部分的化合物经由化学反应进行修饰，使得亲水性聚合物P1和P3中的每一个携带至少一个这类-SH部分。这类携带-SH部分的化合物可以是例如携带-SH部分的(额外的)半胱氨酸或任何其它(修饰的)氨基酸。这种化合物也可以是任何非氨基的化合物或部分，其包含或允许将-SH部分引入如本文定义的亲水性聚合物P1和P3中。可以通过化学反应或化合物的结合将这种非氨基的化合物与根据本发明的聚合物载体式(II)的亲水性聚合物P1和P3相连，例如通过结合3-硫代丙酸或thioimolane、通过形成酰胺(例如，羧酸、磺酸、胺等)、通过迈克尔加成反应(Michael addition)(例如，马来酰亚胺部分、α,β-非饱和的羰基化合物等)、通过点击化学(例如，叠氮化物或炔烃)、通过烯烃/炔烃置换(例如，烯烃或炔烃)、亚胺或烃形成(醛或酮、肼、羟胺、胺)、复合反应(亲和素、生物素、蛋白G)或允许Sn型取代反应的组分(例如，卤代烷、硫醇、醇、胺、肼、酰肼、磺酸酯、氧化鏻盐)或可用于连接其它组分的其它化学部分。在该上下文中特别优选的PEG衍生物是α-甲氧基-ω-巯基聚(亚乙基二醇)。在每种情况下，例如半胱氨酸或任何其它(修饰的)氨基酸或化合物的SH-部分可以存在于亲水性聚合物P1和P3的末端或内部任何位置。如本文定义的，亲水性聚合物P1和P3中的每一个通常优选在一个末端显示出至少一个-SH-部分，但也可以含有两个或甚至更多个-SH-部分，可以将其用于额外地连接如本文定义的其它组分，优选其它功能性肽或蛋白质，例如配体、氨基酸组分(AA)或(AA)x、抗体、细胞穿透肽或增强子肽(例如，TAT、KALA)等。

[0445] 优选地，本发明的组合物包含至少一种与一种或多种聚阳离子复合的如本文定义的RNA分子和至少一种游离RNA，其中至少一种复合的RNA优选与至少一种游离RNA相同。在该上下文中，特别优选的是，本发明的组合物包含根据本发明的至少部分与阳离子或聚阳离子化合物和/或聚合物载体(优选阳离子蛋白质或肽)复合的RNA分子。在该上下文中，通过引用将WO 2010/037539和WO 2012/113513的公开内容并入本文。“部分地”是指在根据本发明的组合物中仅一部分如本文定义的RNA分子与阳离子化合物复合，并且其余的如本文定义的RNA分子(包含在本发明(药物)组合物或疫苗中的)是以非复合形式(“游离”)的。优选地，复合RNA分子与游离RNA分子的摩尔比选自约0.001:1至约1:0.001的摩尔比，包括约1:1的比率。更优选地，复合RNA分子与游离RNA分子(在本发明(药物)组合物或疫苗中的)的比率选自约5:1(w/w)至约1:10(w/w)的范围、更优选约4:1(w/w)至约1:8(w/w)的范围、甚至更优选约3:1(w/w)至约1:5w/w)或1:3(w/w)的范围，且最优选本发明药物组合物或疫苗中的复合RNA分子与游离RNA分子的比率选自约1:1(w/w)的比率。

[0446] 根据本发明的(药物)组合物或疫苗中的复合RNA分子优选是根据第一步骤通过将根据本发明的RNA分子与阳离子或聚阳离子化合物和/或与聚合物载体(优选如本文定义的)以特定比率复合来形成稳定复合物而制备的。在该上下文中，非常优选的是，在复合RNA分子后，没有或仅有可忽略少量的游离阳离子或聚阳离子化合物或聚合物载体残留在复合RNA分子的组分中。因此，通常在一定范围内选择在复合RNA分子组分中的RNA分子与阳离子或聚阳离子化合物和/或聚合物载体的比率，以使得将RNA分子完全复合，且没有或仅有可忽略少量的游离阳离子或聚阳离子化合物或聚合物载体残留在该组合物中。

[0447] 优选地，如本文定义的RNA分子与阳离子或聚阳离子化合物和/或与聚合物载体(优选如本文定义的)的比率选自约6:1(w/w)至约0.25:1(w/w)、更优选约5:1(w/w)至约

0.5:1(w/w)、甚至更优选约4:1(w/w)至约1:1(w/w)或约3:1(w/w)至约1:1(w/w)的范围、且最优选比率为约3:1(w/w)至约2:1(w/w)。可替换地,也可以基于整个复合物的氮/磷酸酯比(N/P比),来计算复合RNA分子的组分中的如本文定义的RNA分子与阳离子或聚阳离子化合物和/或与聚合物载体(优选如本文定义的)的比率。在本发明的上下文中,关于在复合物中的RNA分子:阳离子或聚阳离子化合物和/或聚合物载体(优选如本文定义的)的比率,N/P比优选在约0.1-10的范围、优选在约0.3-4的范围、且最优选在约0.5-2或0.7-2的范围、还最优选在约0.7-1.5、0.5-1或0.7-1的范围内、甚至还最优选在约0.3-0.9或0.5-0.9的范围内,优选条件是复合物中的阳离子或聚阳离子化合物是如上定义的阳离子或聚阳离子阳离子或聚阳离子蛋白质或肽和/或聚合物载体。在该具体实施方式中,如本文定义的复合RNA分子也包含在术语"佐剂组分"中。

[0448] 在其它的实施方式中,可以无饰地施用包含如本文定义的RNA分子的根据本发明的组合物,而不用与任何其它溶媒、转染剂或复合剂联合。

[0449] 需要理解和认识到,根据本发明,本发明的组合物可以包含至少一种如本文定义的无饰的RNA分子和/或至少一种如本文定义的经过配制/复合的RNA分子,其中可以使用每种如上所述的制剂和/或复合。

[0450] 本发明还提供了药物容器,其包含根据本发明的RNA分子组合物或药物组合物。药物容器优选为注射器、小瓶、输液瓶、安瓿瓶或卡普耳。

[0451] 还提供了用于用作药物使用的根据本发明的RNA分子组合物或药物组合物,其优选用于在独立地治疗或预防疾病(如果疾病是遗传性的、或获得性的及其组合)中使用,该疾病选自由以下各项所组成的组:基因疾病,敏感症,自身免疫性疾病,感染性疾病,赘生物,癌症和肿瘤相关疾病,炎性疾病,血液和造血器官疾病,内分泌、营养和代谢疾病,神经系统疾病,循环系统疾病,呼吸系统疾病,消化系统疾病,皮肤和皮下组织疾病,肌肉骨骼系统和结缔组织疾病以及泌尿生殖系统疾病。

[0452] 还提供了RNA分子组合物作为免疫治疗剂、基因治疗剂或作为疫苗的用途。

附图说明

[0453] 图1:pDNA序列(图1A)和RNA序列(图1B)的同一性百分比矩阵。该矩阵是基于使用多序列比对的序列同一性值(Clustal 12.1)。标明了SEQ ID NO。

[0454] 图2:不同pDNA克隆的生长曲线(OD_{600})的叠加。在图2A中,将DH5α用作为宿主。确定了显示出相似生长特征的三个组(g1,g2,g3)。在图2B中,将CopyCutter™菌株用作为宿主。所有pDNA培养物都显示出相似的生长特征。实施例7提供了实验的详细描述。

[0455] 图3:DH5α(A)克隆和CopyCutter™(B)克隆的预培养和主要培养生长动力学显示出克隆的生长特征是稳健的。实施例7提供了实验的详细描述。A:DH5α克隆和B:CopyCutter™克隆

[0456] 图4:图4A示出了CoStock和CoInoc共培养策略的方案。图4B示出了不同重复(4种和5种不同克隆的共培养)的生长特征的叠加。实施例8提供了实验的详细描述。

[0457] 图5:图5示出了采用pDNA混合物作为模板的所得RNA分子组合物的RNA琼脂糖凝胶电泳。实施例9提供了实验的详细描述。

[0458] 图6:单一RNA制备物、混合-4制备物和混合-5制备物的定量分析。实施例9提供了

实验的详细描述。

[0459] 图7:4-混合PCR扩增的DNA混合物的限制性分析。M:标志物泳道;对照:不相关的DNA;混合-4_A:用不消化A产物的限制酶组合处理的4-混合PCR扩增的DNA混合物;混合-4_B:用不消化B产物的限制酶组合处理的4-混合PCR扩增的DNA混合物;混合-4_C:用不消化C产物的限制酶组合处理的4-混合PCR扩增的DNA混合物;混合-4_D:用不消化D产物的限制酶组合处理的4-混合PCR扩增的DNA混合物;箭头表示预期条带,表示所有DNA种类(A,B,C,D)存在于PCR扩增的DNA混合物中。

[0460] 图8:图8示出了使用PCR扩增的DNA混合物作为模板的所得RNA分子组合物的RNA琼脂糖凝胶电泳。实施例10提供了实验的详细描述。

[0461] 图9:使用PCR扩增的DNA混合物作为模板所得的PCR扩增的DNA混合物和RNA组合物(4-混合)的NGS分析。实施例10提供了实验的详细描述。

[0462] 实施例

[0463] 以下实施例旨在以其它方式说明本发明。它们仅仅是说明性的,并不意图限制本发明的主题。

[0464] 实施例1:制备编码多种血清型HA蛋白的DNA:

[0465] 对于本发明的实施例,产生了编码不同血凝素蛋白(在流感病毒(甲型流感病毒和乙型流感病毒)表面上存在的糖蛋白)的DNA序列。对于本发明的实施例,采用了多种血清型的不同HA蛋白(参见以下表1)。通过修饰编码DNA序列的野生型(通过引入GC优化的序列)来制备DNA序列以便稳定。将序列引入相同的载体(源自pUC19的载体)骨架,并将其修饰以包含源自32L4核糖体蛋白的5'-UTR(32L4 TOP 5'-UTR)和源自白蛋白(组蛋白-茎-环结构)的3'-UTR,以及在3'末端的一段64个腺苷的伸展段。序列方案(SEQ ID NO:1-14(RNA序列)和SEQ ID NO:15-28(质粒DNA序列))提供了各自的质粒DNA序列以及相应的RNA序列。所产生的序列示出了较高的序列相似性(图1提供的质粒DNA序列和预期的RNA序列的序列同一性矩阵)。将所得的质粒DNA构建体转化至细菌(大肠埃希杆菌)中并在细菌中增殖,并使用本领域已知的常规方法制备甘油储备液。

[0466] 表1:实验中所采用的HA构建体

[0467]

RNA 的 SEQ ID NO	pDNA 的 SEQ ID NO	HA 蛋白的描述	pDNA 长度	RNA 长度	RNA 的 GC 含量
1	15	H1N1 甲型流感病毒(波多黎各(Puerto Rico)/1934)	3952	1915	60.78
2	16	H1N1 甲型流感病毒(荷兰(Netherlands)/2009)	3955	1918	60.84
3	17	H1N1 甲型流感病毒(加利福	3955	1918	61.00

[0468]

		尼亚（California）/2009）			
4	18	H5N1 甲型流感病毒（NIBRG-14）	3949	1912	60.25
5	19	H5N1 甲型流感病毒（越南（Vietnam）2004）	3961	1924	60.34
6	20	H5N1 甲型流感病毒（巴伐利亚州（Bavaria）/2006）	3961	1924	60.60
7	21	H1N1 甲型流感病毒（布里斯班（Brisbane）/2007）	3952	1915	60.78
8	22	H3N2 甲型流感病毒（乌拉圭（Uruguay）/2007）	3955	1918	60.74
9	23	H3N2 甲型流感病毒（香港（Hongkong）/1968）	3955	1918	61.52
10	24	H2N2 甲型流感病毒（日本（Japan）/1957）	3943	1906	61.12
11	25	H7N7 甲型流感病毒（伯拉第斯拉瓦（Bratislava）/1979）	3946	1909	62.28
12	26	H1N1 甲型流感病毒（荷兰2009）-wBB（（加利福尼亚2009）	3955	1918	60.85
13	27	HA 乙型流感病毒（Brisbane 2008）	4012	1975	63.39
14	28	H1N1 甲型流感病毒（（加利福尼亚 2009）-wBB（荷兰2009）	3955	1918	61.00

[0469] 实施例2:筛选单种克隆的生长行为

[0470] 该实验的目的是评估携带在实施例1所得的质粒的细菌培养物的个体生长和生产行为。该分析对于鉴定来自HA质粒DNA的均一生长的克隆是必要的(参见表1)，其保证以相似量生产所有质粒DNA变体(参见实施例3)。

[0471] 2.1从甘油储备液的预培养

[0472] 对于每种细菌克隆，用相应甘油储备液对1ml LB培养基(含有100μg/ml氨苄青霉素)进行接种，并在振荡培养箱中在37℃下孵育16小时。之后，将10μl的单个细菌培养物转移到固体LB培养基(补充有100μg/ml氨苄青霉素)中，并在37℃下孵育16小时，以获得单个离散菌落。从每个平板取单个离散菌落以对1ml液体LB培养基(含有100μg/ml氨苄青霉素)

进行接种，用于预培养，然后筛选主培养物。以这种方式，实现了第一次增长同步。

[0473] 2.2筛选微量滴定板中的生长性能

[0474] 在用酶标仪通过光密度测量确定预培养物的生物质浓度后，转移每种克隆的相应体积，以接种1mL液体TB培养基(含有100μg/ml氨苄青霉素)，初始细胞密度都均匀地为0.1。使用在线测量(散射光和溶解氧张力(DOT)测量)，监测具有透明底部的特定微量滴定板中的各种克隆的生长。记录的在线信号允许详细确定生长动力学，如滞后期持续时间、生长速率和最终生物质形成。在培养结束后，进行质粒滴度定量和下一代测序。确定均一生长的克隆，并用于生产甘油储备液。随后，将这些克隆用于大规模质粒DNA生产。

[0475] 2.3筛选单种克隆的RNA体外转录性能

[0476] 采用EcoRI将DNA质粒以酶促的方式线性化，并在各自的缓冲液条件下在核苷酸混合物存在下采用DNA依赖性T7RNA聚合酶进行体外转录。为了评估单种克隆随时间的转录效率，对在不同时间点采集的样品进行定量分析。

[0477] 2.4单个mRNA构建体的体外和体内表征

[0478] • 对单个mRNA进行表达分析(体外翻译、体外表达和由蛋白质印迹、FACS和ELISA进行分析)。

[0479] • 分别分析抗原的抗原性

[0480] 实施例3：大规模质粒DNA生产

[0481] 从每个HA抗原(参见表1)，取一个均匀生长的经过预先选择的克隆(甘油储备液)，在摇瓶(含有100μg/ml氨苄青霉素的200ml LB培养基)中对异源预培养物(含有来自每种抗原的克隆)进行接种，在37℃下保持16小时。取100ml该预培养物，用于接种生产规模的发酵罐(Eppendorf BioFlo415，容积15升)。

[0482] 为了获得最佳的细菌生长，将进料溶液(包含氨苄青霉素(100μg/ml)的LB培养基，含有2％葡萄糖)不断地加入至发酵罐中。在发酵过程中，对标准参数进行精确调节并连续监测(例如，pH：7.0，温度：37℃)。通过在600nm处测定光度来控制细胞密度。在孵育20小时后终止发酵过程。将细菌培养物在室温下以6000g离心15分钟，弃去上清液，并将细胞沉淀用于质粒DNA分离。

[0483] 由于所有克隆都表现出相同的生长和生产行为，因此极有可能以相似量生产所有质粒DNA种类。

[0484] 实施例4：质粒DNA制备及质量控制

[0485] 使用市售可得的不含内毒素的质粒DNA Giga制备试剂盒(Macherey Nagel)，将所得的细菌细胞沉淀(参见实施例3)用于制备质粒。纯化后，通过下一代测序(NGS)、qPCR或限制性图谱分析质粒DNA混合物的同一性和数量，以便确认各自量的每种编码单一抗原的质粒的存在性。

[0486] 另外，通过UV吸收和阴离子交换色谱法来测定质粒DNA含量和纯度。

[0487] 实施例5：RNA体外转录

[0488] 采用EcoRI将DNA质粒混合物以酶促的方式线性化，并在各自的缓冲液条件下在核苷酸混合物存在下采用DNA依赖性T7RNA聚合酶进行体外转录。采用PureMessenger®(CureVac，图宾根，德国；WO 2008/077592A1)对所得的mRNA混合物进行纯化，并用于体外和体内实验。

[0489] 实施例6:多价HA疫苗的配制

[0490] 6.1用鱼精蛋白配制

[0491] 在用于体内疫苗接种之前,先将mRNA混合物进一步与鱼精蛋白复合。mRNA制剂由50%游离mRNA和50%的与鱼精蛋白复合(重量比为2:1(根据WO/2010/037539))的mRNA的混合物组成。首先,通过向mRNA添加鱼精蛋白-林格乳酸盐溶液(protamine-Ringer's lactate solution)使mRNA与鱼精蛋白复合。在孵育10分钟后,在稳定产生复合物时,加入游离mRNA,用林格乳酸盐溶液调节疫苗的最终浓度。

[0492] 6.2LNP封装

[0493] 采用可电离的氨基脂质(阳离子脂质)、磷脂、胆固醇和聚乙二醇化的脂质来制备脂质纳米颗粒(LNP)封装的mRNA混合物。如下制备LNP。将阳离子脂质、DSPC、胆固醇和PEG-脂质溶于乙醇中。简要地,将mRNA混合物在50mM柠檬酸盐缓冲液(pH 4)中稀释至0.05mg/mL的总浓度。使用注射泵以将乙醇脂质溶液与mRNA混合物以约1:6至1:2(体积/体积)的比率混合。然后除去乙醇,通过透析将用PBS替换外部缓冲液。最后,通过0.2μm孔径的无菌过滤器过滤脂质纳米颗粒。使用Malvern Zetasizer Nano(马尔文,英国)通过准弹性光散射测定脂质纳米颗粒的粒径。

[0494] 实施例7:不同pDNA菌株的培养和生长行为表征

[0495] 将12种不同的HA pDNA构建体(根据实施例1所得的)在DH5α和CopyCutter™大肠杆菌菌株中繁殖,并表征其生长行为。

[0496] 7.1在大肠埃希菌中重新转化pDNA:

[0497] 为了重新转化携带编码流感抗原的序列(SEQ ID NO:1-11,13)的pDNA(根据实施例1所得的),制备123μl SOC培养基,并保持在37℃。将25μl感受态细胞(DH5α和CopyCutter™)在冰上解冻,混合,并加入2μL各个pDNA。在冰上孵育30分钟后,将细胞在42℃下热休克30秒。然后,将细胞在冰上冷却2分钟。加入123μL SOC培养基,然后将细胞在37℃和500rpm下孵育60分钟。然后,将细胞接种在1.5%琼脂糖LB(APS氨苄青霉素[100mg/L])上,并在37℃下孵育过夜,以允许离散菌落生长。

[0498] 7.2所得克隆生长行为的表征:

[0499] 为了筛选克隆的生长特征,使用了具有用于pH和DO的光极的48孔BOH花板。利用主培养物在DH5α和CopyCutter™宿主上进行培养和生长表征。为了接种预培养物,每次转化挑取两个离散的菌落,并转移到含有1.2mL LB(APS氨苄青霉素[100mg/L])的不同孔中。用透气密封箔密封48孔花板以减少蒸发,并在Biolector® (m2p-labs)微生物反应器中(条件:37℃;1200rpm振荡频率;20.95%O_2;85%湿度;孔读数:循环时间10分钟;生物质增益25;pO_2增益38;pH增益22)培养。孵育平板,直到OD_{600}达到0.4和0.7之间。在1.1ml LB APS氨苄青霉素[100mg/L]中用预培养物接种主培养物至最终OD_{600}为0.05-0.1,CopyCutter ™克隆另外用诱导溶液处理。以相同的培养条件继续培养,直到所有克隆达到静止期。收获细胞,用于制备pDNA。表征DH5α和CopyCutter™克隆,然后制备所有最终OD_{600}为1.0的克隆的甘油储备物,用于进一步实验。图2示出了DH5α和CopyCutter™菌株的每个单独的主培养物的生长特征。图2示出了DH5α和CopyCutter™菌株的每个pDNA构建体的两个不同克隆的预培养物和主培养物的生长动力学的比较。

[0500] 7.3结果:

[0501] 图2的结果表明，对于DH5α菌株和CopyCutter™菌株，多个经过分析的克隆的生长特征相似。例如，可以将DH5α克隆分成可能在一起培养的三个特征组(g1，g2，g3)。CopyCutter™克隆示出了更加均衡和均匀的增长特征。可以将这些克隆聚集并在一起培养。数据表明，产生用于生产RNA体外转录的pDNA模板混合物的克隆共培养物是可行的，这将极大地节约成本和简化RNA生产过程。

[0502] 图3的结果表明携带相同pDNA构建体的不同克隆的生长特征彼此相当，表明生长行为的特征是稳健的，因此还适合于评估和预测一组共培养物的生长行为。

[0503] 综上所述，数据表明多组克隆群体的共培养适用于(工业)生产RNA混合物。

[0504] 实施例8：不同克隆混合物的共培养和表征

[0505] 基于实施例7的结果，选择具有相似生长特征的CopyCutter™克隆，并用于共培养不同的流感病毒抗原克隆并产生pDNA模板混合物。在一个设置中，选择四种不同的pDNA(“4-混合”)用于共培养(A;B;C;D)，在另一种设置中，选择五种不同的pDNA(“5-混合”)用于共培养(A;B;C;D;E)；所选择的构建体示出了高度相似的序列长度，并且在RNA水平上的GC含量高度相似且序列相似性较高(参见表2和表3)。

[0506] 表2：选择用于共培养的4-混合和5-混合的概述

[0507]

抗原	pDNA 长度	RNA 的 GC 含量%	SEQ ID NO RNA	SEQ ID NO pDNA
4-混合				
A	3955	60.84	2	16
B	3961	60.34	5	19
C	3955	60.74	8	22
D	3943	61.12	10	24
5-混合				
A	3955	60.84	2	16
B	3961	60.34	5	19
C	3955	60.74	8	22
D	3943	61.12	10	24
E	4012	63.39	13	27

[0508] 表3：pDNA水平上的4-混合和5-混合序列的序列同一性矩阵(以%计)

[0509]

	E	C	A	B	D
E	100	82.27	81.90	82.11	82.33
C	82.27	100	84.38	84.37	84.29
A	81.90	84.38	100	88.76	89.03
B	82.11	84.37	88.76	100	90.91
D	82.33	84.29	89.03	90.91	100

[0510] 测试了两种共培养概念:共储备(“CoStock”)和共接种(“CoInoc”)策略(参见图4A)。在共储备策略中,将相应克隆的甘油储备液以等摩尔比混合,并用作预培养物的接种物(1.2mL LB(APS氨苄青霉素[100mg/L]))。对于4种克隆的混合物,采用15μL的每种甘油储备物(OD_{600}=1)(总共60μL)。对于5种克隆的混合物,使用12.5μL的每种甘油储备物(OD_{600}=1)(总共60μL)。在预培养物的OD_{600}达到10后,将预培养物用作主培养物的接种物。在共接种策略中,将60μL每种单独的甘油储备物(OD_{600}=1)用作单独的预培养物的接种物(1.2mL LB(APS氨苄青霉素[100mg/L]))。分别将每种克隆在预培养物中培养,直至各个培养物的OD_{600}达到10。将所述预培养的混合物用于接种主培养物。

[0511] 两种策略中的主培养物均生长至OD_{600} 0.2的浓度。对于每种主培养物,添加CopyCutter™诱导溶液。在各个培养物达到对数期后期时(约7小时后),收获细胞。之后,提取pDNA,用分光光度法测量,并定量分析(限制性分析,测序,定量PCR)。如实施例7中概述的那样监测各个共培养重复(多次重复的共储备策略和共接种策略)的生长特征。图4B示出了结果。

[0512] 结果:

[0513] 图4表明,观察不到各个测试设置(共接种策略、共储备策略、4-混合和5-混合)的较大差异,表明各个共培养物的总体生长特征彼此相当。在该实验中,共储备培养物重复表明生长行为非常均匀,样品间变化很小。

[0514] 综上所述,数据表明多种不同克隆的共培养运行稳健且可重现。因此,可以通过在共培养中扩增细菌,来产生用于RNA体外转录的pDNA混合物,这简化和改善基于RNA混合物的治疗剂的生产过程。

[0515] 实施例9:采用pDNA模板混合物的RNA体外转录

[0516] 该实验的目的是表明,可以采用pDNA混合物作为模板,通过RNA体外转录在一个反应中产生mRNA混合物。在本实施例中,产生4-混合的RNA混合物和5-混合的RNA混合物(参见表2和表3)。

[0517] 9.1pDNA模板混合物的产生:

[0518] 首先,在相应消化缓冲液中,采用60μL EcoRI(10U/μL)酶,将混合-4和混合-5的pDNA(参见表2)分别线性化(每种200μg pDNA)。将反应在37℃下孵育4-5小时。使用异丙醇沉淀来回收线性化的pDNA。将所得的线性化pDNA样品重新溶解于WFI中,并使用琼脂糖凝胶电泳分析线性化的完整性。将线性化的pDNA模板用于产生pDNA混合-4和混合-5的混合物(各种线性化的pDNA为0.09μg/μL)。

[0519] 9.2采用pDNA模板混合物的RNA体外转录:

[0520] 在Tris-HCl转录缓冲液中,在序列优化的NTP-混合物(13.45mM)(包含帽相似物(4×GTP)、2500U/mL T7聚合酶、24mM $MgCl_2$、5U/mL焦磷酸酶(PP酶)和0.2U/μL Ribolock)存在下,用相应的混合-4和混合-5pDNA的混合物(总共25μg/mL DNA)进行RNA体外转录。在37℃下孵育反应物。孵育90分钟,然后加入Tris-HCl转录缓冲液和NTP(NTP终浓度为26.9mM),并在37℃下再孵育5小时。之后,采用脱氧核糖核酸酶I(Dnase I)消化物除去DNA模板。用25mM EDTA终止消化反应,并且对样品进行LiCl沉淀。将沉淀的RNA重新溶解在WFI中。之后,使用RNA琼脂糖凝胶电泳分析RNA(参见图5)。定量和定性分析RNA混合物的组成(参见图6)。此外,使用NGS和qPCR对所得的RNA组合物进行表征。根据实施例6,可以进一步配制所得的

mRNA混合物。

[0521] 9.3结果：

[0522] RNA琼脂糖凝胶电泳(参见图5A)表明，对照反应(单一RNA制备物)、混合-4反应和混合-5反应产生了可比较量的RNA。对于标准、混合-4和混合-5，定义的条带是可见的，处于预期大小之间。此外，无法确定副产品，在各个重复中也观察不到条带强度的变化。数据证明，采用pDNA混合物作为模板，在同一RNA体外转录反应中产生RNA混合物是可行的。此外，数据证明RNA体外反应以稳健、纯净和可重现的方式产生了预期产物。

[0523] 图6表明，pDNA模板混合物的RNA体外转录所产生的RNA量与从单一RNA制备物所得的RNA量相当。此外，数据表明，混合-4和混合-5RNA制备物中的样品间变化很小，这表明该方法运行稳健且可重现。

[0524] 综上所述，数据表明pDNA混合物的RNA体外转录运行稳健且可重现。此外，所得RNA混合物显示出的质量属性与单一RNA制备物相同。因此，本发明的RNA体外转录过程简化了基于RNA混合物的治疗剂的生产过程并节约了成本。

[0525] 实施例10：使用制备性PCR和随后的RNA体外转录生产模板混合物

[0526] 该实验的目的是评估DNA混合物的PCR是否适合于产生用于RNA体外转录的DNA模板混合物。

[0527] 10.1产生PCR扩增的DNA模板混合物：

[0528] 作为PCR模板，采用4-混合pDNA混合物(参见实施例9.1)。WFI中终浓度的所有组分为1×KAPA HiFi HotStart ReadyMix、1 ng 4-混合DNA混合物、1M甜菜碱、0.3μM T7正向引物和0.3μM反向引物。使用市售可得的热循环仪进行PCR。采用Agencourt® AMPure®XP-试剂盒(根据生产商的说明书)纯化所得的PCR产物混合物，并以限制性分析对4-混合PCR产物进行分析，揭示了每种产物被扩增至相似的程度(参见图7)。另外，使用NGS分析PCR产物(图9)。

[0529] 10.2采用PCR扩增的DNA模板混合物的RNA体外转录：

[0530] 如实施例9.2所述，将所得的经过纯化的4-混合PCR扩增的DNA混合物用于RNA体外转录。使用RNA琼脂糖凝胶电泳(参见图8)和NGS(参见图9)对所产生的RNA混合物的组成进行定量和定性分析。此外，使用qPCR对所得的RNA分子组成进行表征。根据

[0531] 实施例6，可以进一步配制所得的mRNA混合物。

[0532] 10.3结果：

[0533] 图7表明PCR适合于扩增并产生可以用作为由RNA体外转录生产RNA混合物的模板的DNA混合物。每种PCR产物存在于所得的4-混合PCR扩增的DNA混合物中。

[0534] RNA AGE(参见图8)表明，对照反应(对照RNA)和混合-4反应产生了可比较量的RNA。对于对照和混合-4，定义的条带是可见的，具有预期的大小。此外，无法确定副产品，在各个重复中也观察不到条带强度的变化。数据证明，采用PCR扩增的DNA混合物作为模板，在同一反应中由RNA体外转录产生RNA混合物是可行的。此外，数据证明RNA体外反应以稳健、纯净和可重现的方式产生了预期产物。

[0535] 下一代测序(参见图9)表明，同时PCR扩增DNA模板混合物产生几乎等量的DNA。此外，使用PCR扩增的DNA混合物作为同时RNA体外转录的模板，产生了几乎与理论上的预期比率(1:1:1:1)相符的均匀RNA混合物(4-混合)(25:27:25:22)。值得注意的是，NGS结果还证

明该方法是线性的，这意味着PCR产生的混合物的比率与最终RNA混合物的比率相符。因此，结果表明，根据应用或目的，本发明方法也适合于产生以其它比率的RNA混合物。

[0536] 综上所述，数据表明PCR扩增的DNA混合物的RNA体外转录运行稳健且可重现。此外，所得RNA混合物显示出的质量属性与单一RNA制备物相同。因此，本发明的RNA体外转录过程简化了基于RNA混合物的治疗剂的生产过程并节约了成本。

[0537] 实施例11：采用芯片PCR和随后的RNA体外转录生产模板混合物

[0538] 将含有合成的固定化DNA的混合物的芯片作为用于制备性PCR的模板(从TWIST bioscience所得的DNA芯片)。基本上根据实施例10进行制备性PCR。将所得的PCR产物纯化，并用于RNA体外转录以产生RNA混合物(基本上根据实施例10进行)，并进行定量和定性测量(例如，RNA AGE、RT-qPCR、NGS和光谱测定)。随后，进行纯化步骤(例如，PureMessenger®；WO2008077592)，并且可选地进行配制步骤(例如，鱼精蛋白复合，LNP包封)。

[0539] 实施例12：采用dbDNA模板和随后的RNA体外转录生产模板混合物

[0540] 进行用于扩增DNA模板并将扩增的DNA转化成封闭的线性“doggybone”DNA(dbDNA)的体外无细胞过程，以产生用于随后的RNA体外转录的DNA混合物。根据WO2010/086626进行DNA模板滚环扩增和产生dbDNA。采用合适的限制酶(例如，EcoRI)分别将所得的dbDNA模板线性化，纯化，并混合，以产生线性化的模板混合物(例如，混合-4，混合-5；例如，参见表2)。将线性化的模板混合物用于RNA体外转录(基本上根据实施例9进行)，并进行定量和定性测量(例如，RNA AGE、RT-qPCR、NGS和光谱测定)。随后，进行纯化步骤(例如，PureMessenger®；WO2008077592)，并且可选地进行配制步骤(例如，鱼精蛋白复合，LNP包封)。

[0001]

序列表

<110> 库瑞瓦格股份公司

<120> 生产RNA分子组合物的方法

<130> C09919WO2 / RN

<140>
<141>

<150> PCT/EP2015/081000
<151> 2015.12.22

<160> 28

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 1915
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 1
gggagaaagc uuaccaugaa ggccaaccug cucgugcugc ugugcgcccu cgcggccgcc 60

gacgccgaca ccaucugcau cggcuaccac gccaacaaca gcaccgacac ggucgacacc 120

gugcuggaga agaacgugac cgucacccac uccgugaacc ugcucgagga cagccacaac 180

gggaagcugu gccggcugaa gggcaucgcg ccccuccagc uggggaagug caacaucgcc 240

ggcuggcugc ucgggaaccc ggagugcgac ccccugcugc ccgugcgcuc cuggagcuac 300

aucgucgaga cgcccaacuc cgagaacggc aucugcuacc cgggcgacuu caucgacuac 360

gaggagcucc gggagcagcu gagcuccgug agcuccuucg agcgcuucga gaucuucccc 420

aaggagagcu ccuggcccaa ccacaacacc aacgggguga ccgccgccug cagccacgag 480

ggcaagucca gcuucuaccg gaaccugcuc uggcugaccg agaaggaggg guccuacccc 540

aagcugaaga acagcuacgu caacaagaag ggcaaggagg ugcucgugcu gugggggauc 600

caccacccgc ccaacuccaa ggagcagcag aaccuguacc agaacgagaa cgcguacguc 660

agcgugguga cguccaacua caaccgccgg uucacccccg agaucgccga gcgccccaag 720

guccgggacc aggccggccg caugaacuac uacuggaccc uccugaagcc gggcgacacc 780

aucaucuucg aggccaacgg gaaccugauc gccccgaugu acgcguucgc ccucagccgg 840

ggcuucggga gcggcaucau cacguccaac gccagcaugc acgagugcaa caccaagugc 900

[0002]

cagacccccc ugggcgccau caacuccagc cugcccuacc agaacaucca cccggugacc 960

aucggggagu gccccaagua cgugcgcucc gccaagcucc ggauggucac gggccugcgc 1020

aacaacccca gcauccaguc ccgggggcug uucggcgcga ucgccggguu caucgagggc 1080

ggcuggaccg ggaugaucga cggcugguac ggguaccacc accagaacga gcagggcagc 1140

ggguacgccg ccgaccagaa guccacccag aacgccauca acggcaucac caacaaggug 1200

aacacgguga ucgagaagau gaacauccag uucaccgcgg ucggcaagga guucaacaag 1260

cucgagaagc gcauggagaa ccugaacaag aagguggacg acggguuccu ggacaucugg 1320

accuacaacg ccgagcuccu ggugcugcuc gagaacgagc ggacccugga cuuccacgac 1380

agcaacguca agaaccugua cgagaaggug aagucccagc ucaagaacaa cgccaaggag 1440

aucggcaacg ggugcuucga guucuaccac aagugcgaca acgagugcau ggagagcguc 1500

cgcaacggca cguacgacua ccccaaguac uccgaggaga gcaagcugaa ccgggagaag 1560

guggacgggg ugaagcugga guccaugggc aucuaccaga uccucgccau cuacagcacc 1620

gucgccucca gccuggugcu gcuggugucc cucggcgcga ucagcuucug gaugugcagc 1680

aacggguccc ugcagugccg caucugcauc ugaccacuag uuauaagacu gacuagcccg 1740

augggccucc caacgggccc uccucccccuc cuugcaccga gauuaauaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa augcaucccc 1860

ccccccccccc ccccccccccc cccccccaaa ggcucuuuuc agagccacca gaauu 1915

<210> 2
<211> 1918
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 2
gggagaaagc uuaccaugaa ggccauccug gugguccucc uguacaccuu cgccaccgcg 60

aacgccgaca cgcugugcau cggcuaccac gccaacaaca gcaccgacac cguggacacc 120

gugcucgaga agaacgucac ggugacccac uccgugaacc ugcuggagga caagcacaac 180

gggaagcucu gcaagcugcg gggcgucgcc ccgcugcacc ucgggaagug caacaucgcc 240

ggcuggaucc uggggaaccc ggagugcgag agccugucca ccgcgagcuc cuggagcuac 300

aucguggaga ccuccagcuc cgacaacggc acgugcuacc ccggcgacuu caucgacuac 360

gaggagcucc gcgagcagcu gagcuccgug agcuccuucg agcgguucga gaucuucccc 420

[0003]

aagaccagcu ccuggcccaa ccacgacagc aacaaggggg ucaccgccgc cugcccgcac 480

gccggcgcga aguccuucua caagaaccug aucuggcucg ugaagaaggg gaacagcuac 540

cccaagcugu ccaagagcua caucaacgac aagggcaagg aggugcuggu ccucuggggg 600

auccaccacc ccagcaccuc cgccgaccag cagagccugu accagaacgc cgacgccuac 660

guguucgugg gcuccagccg cuacuccaag aaguucaagc ccgagaucgc cauccggccg 720

aagguccgcg accaggaggg ccggaugaac uacuacugga cgcuggugga gcccggggac 780

aagaucaccu ucgaggcgac cggcaaccuc gugguccccc gcuacgccuu cgccauggag 840

cggaacgccg ggagcggcau caucaucucc gacacccccg ugcacgacug caacacgacc 900

ugccagaccc cgaagggcgc caucaacacc agccugcccu uccagaacau ccacccccauc 960

acgaucggga agugccccaa guacgugaag uccaccaagc ugcgccucgc gaccggccug 1020

cggaacgucc cgagcaucca gucccgcggg cuguucggcg ccaucgccgg guucaucgag 1080

ggcggcugga ccgggauggu ggacggcugg uacggguacc accaccagaa cgagcagggc 1140

agcggguacg ccgccgaccu caaguccacg cagaacgcga ucgacgagau caccaacaag 1200

gugaacagcg ucaucgagaa gaugaacacc caguucaccg ccgugggcaa ggaguucaac 1260

caccuggaga agcggaucga gaaccugaac aagaaggucg acgacggcuu ccucgacauc 1320

uggacguaca acgccgagcu gcuggugcuc cuggagaacg agcgcacccu ggacuaccac 1380

gacuccaacg ugaagaaccu cuacgagaag guccggagcc agcugaagaa caacgccaag 1440

gagaucggga acggcugcuu cgaguucuac cacaagugcg acaacaccug cauggagucc 1500

gugaagaacg ggaccuacga cuaccccaag uacagcgagg aggccaagcu gaaccgcgag 1560

gagaucgacg gcgugaagcu cgaguccacg cggaucuacc agauccuggc gaucuacagc 1620

accgucgcca gcucccuggu gcucgugguc agccuggggg ccaucuccuu cuggaugugc 1680

agcaacggcu cccugcagug ccgcaucugc aucugaccac uaguuauaag acugacuagc 1740

ccgaugggcc ucccaacggg cccuccuccc cuccuugcac cgagauuaau aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaugcauc 1860

ccccccccccc ccccccccccc ccccccccccc aaaggcucuu uucagagcca ccagaauu 1918

<210> 3
<211> 1918
<212> RNA
<213> 人工序列

[0004]

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 3

gggagaaagc uuaccaugaa ggccauccug gugguccucc uguacaccuu cgccaccgcg 60

aacgccgaca cgcugugcau cggcuaccac gccaacaaca gcaccgacac cguggacacc 120

gugcucgaga agaacgucac ggugacccac uccgugaacc ugcuggagga caagcacaac 180

gggaagcucu gcaagcugcg gggcgucgcc ccgcugcacc ucgggaagug caacaucgcc 240

ggcuggaucc uggggaaccc ggagugcgag agccugucca ccgcgagcuc cuggagcuac 300

aucguggaga ccccccuccag cgacaacggc acgugcuacc ccggcgacuu caucgacuac 360

gaggagcucc gcgagcagcu guccagcgug uccagcuucg agcgguucga gaucuucccc 420

aagaccucca gcuggccgaa ccacgacucc gacaaggggg ucaccgccgc cugccccCac 480

gccggcgcga agagcuucua caagaaccug aucuggcucg ugaagaaggg gaacuccuac 540

cccaagcuga gcaaguccua caucaacgac aagggcaagg aggugcuggu ccucuggggg 600

auccaccacc ccagcaccag cgccgaccag caguccccugu accagaacgc cgacgccuac 660

guguucgugg gcagcucccg cuacagcaag acguucaagc cggagaucgc cauccggccc 720

aaggUccgcg accgggaggg ccgcaugaac uacuacugga cccuggugga gcccggggac 780

aagaucaccu ucgaggcgac cggcaaccuc gugguccccc gguacgccuu cgccauggag 840

cgcaacgccg gguccggcau caucaucagc gacacgccgg ugcacgacug caacaccacc 900

ugccagaccc ccaagggcgc caucaacacg ucccugcccu uccagaacau ccaccccauc 960

accaucggga agugcccgaa guacgugaag agcaccaagc ugcggcucgc gaccggccug 1020

cgcaacaucc ccuccaucca gagccggggg cuguucggcg ccaucgccgg guucaucgag 1080

ggcggcugga cggggauggu cgacggcugg uacggguacc accaccagaa cgagcagggc 1140

agcggguacg ccgccgaccu caaguccacg cagaacgcga ucgacgagau caccaacaag 1200

gugaacagcg ucaucgagaa gaugaacacc caguucaccg ccgugggcaa ggaguucaac 1260

caccuggaga agcggaucga gaaccugaac aagaaggucg acgacggcuu ccucgacauc 1320

uggacguaca acgccgagcu gcuggugcuc cuggagaacg agcgcacccu ggacuaccac 1380

gacuccaacg ugaagaaccu cuacgagaag guccggagcc agcugaagaa caacgccaag 1440

gagaucggga acggcugcuu cgaguucuac cacaagugcg acaacaccug cauggagucc 1500

gugaagaacg ggaccuacga cuaccccaag uacagcgagg aggccaagcu gaaccgcgag 1560

gagaucgacg gcgugaagcu cgaguccacg cggaucuacc agauccuggc gaucuacagc 1620

[0005]

accgucgcca gcucccuggu gcucgugguc agccuggggg ccaucuccuu cuggaugugc 1680

agcaacggcu cccugcagug ccgcaucugc aucugaccac uaguuauaag acugacuagc 1740

ccgaugggcc ucccaacggg cccuccuccc cuccuugcac cgagauuaau aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaugcauc 1860

cccccccccc cccccccccc cccccccccc aaaggcucuu uucagagcca ccagaauu 1918

<210> 4
<211> 1912
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 4
gggagaaagc uuaccaugga gaagaucgug cugcucuucg ccaucgucag ccuggugaag 60

uccgaccaga ucugcaucgg cuaccacgcc aacaacagca ccgagcaggu ggacaccauc 120

auggagaaga acgucacggu gacccacgcg caggacaucc uggagaagac ccacaacggg 180

aagcucugcg accuggacgg cgugaagccc cugauccucc gggacugcuc cgucgccggg 240

uggcugcugg gcaacccgau gugcgacgag uucaucaacg ugcccgagug gagcuacauc 300

guggagaagg ccaaccccgu caacgaccuc ugcuaccccg gggacuucaa cgacuacgag 360

gagcugaagc accugcucuc ccgcaucaac cacuucgaga agauccagau caucccgaag 420

agcuccugga gcucccacga ggccagccug ggcgugucca gcgccugccc cuaccagggc 480

aaguccagcu ucuuccggaa cguggucugg cugaucaaga agaacuccac cuaccccacg 540

aucaagcgca gcuacaacaa caccaaccag gaggaccucc uggugcugug ggggauccac 600

caccccaacg acgcggccga gcagaccaag cucuaccaga acccgaccac guacaucucc 660

gugggcacca gcacccugaa ccagcggcug guccccccgca ucgccacccg guccaaggug 720

aacgggcaga gcggccgcau ggaguucuuc uggacgaucc ucaagcccaa cgacgccauc 780

aacuucgaga gcaacgggaa cuucaucgcg cccgaguacg ccuacaagau cgugaagaag 840

ggcgacucca ccaucaugaa gagcgagcug gaguacggca acugcaacac caagugccag 900

accccgaugg gggccaucaa cuccagcaug cccuuccaca acauccaccc ccugacgauc 960

ggcgagugcc ccaaguacgu caaguccaac cggcucgugc uggccaccgg gcugcgcaac 1020

agcccgcagc gggagacccg cggccucuuc ggcgccaucg cgggguucau cgagggcggg 1080

[0006]

uggcagggca ugguggacgg gugguacggc uaccaccacu ccaacgagca gggcagcggg 1140

uacgccgccg acaaggaguc cacccagaag gccaucgacg gcgucacgaa caaggugaac 1200

agcaucaucg acaagaugaa cacccaguuc gaggccgugg ggcgggaguu caacaaccug 1260

gagcgccgga ucgagaaccu gaacaagaag auggaggacg gcuuccucga cgucuggacc 1320

uacaacgcgg agcugcuggu gcucauggag aacgagcgca cccuggacuu ccacgacucc 1380

aacgucaaga accuguacga caaggugcgg cuccagcugc gcgacaacgc caaggagcug 1440

gggaacggcu gcuucgaguu cuaccacaag ugcgacaacg agugcaugga gagcgugcgg 1500

aacggcacgu acgacuaccc ccaguacucc gaggaggccc gccucaagcg ggaggagauc 1560

agcgggguca agcuggaguc caucggcauc uaccagaucc ugagcaucua cuccaccgug 1620

gccagcuccc ucgcccuggc gaucauggug gccgggcuga gccucuggau gugcagcaac 1680

ggcucccugc agugccgcau cugcaucuga ggacuaguua uaagacugac uagcccgaug 1740

ggccucccaa cgggcccucc ucccccuccuu gcaccgagau uaauaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaug caucccccccc 1860

ccccccccccc ccccccccccc ccccaaaggc ucuuuucaga gccaccagaa uu 1912

<210> 5
<211> 1924
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 5
gggagaaagc uuaccaugga gaagaucgug cugcucuucg ccaucgucag ccuggugaag 60

uccgaccaga ucugcaucgg cuaccacgcc aacaacagca ccgagcaggu ggacaccauc 120

auggagaaga acgucacggu gacccacgcg caggacaucc uggagaagac ccacaacggg 180

aagcucugcg accuggacgg cgugaagccc cugauccucc gggacugcuc cgucgccggg 240

uggcugcugg gcaacccgau gugcgacgag uucaucaacg ugcccgagug gagcuacauc 300

guggagaagg ccaaccccgu caacgaccuc ugcuaccccg gggacuucaa cgacuacgag 360

gagcugaagc accugcucuc ccgcaucaac cacuucgaga agauccagau caucccgaag 420

agcuccugga gcucccacga ggccagccug ggcgugucca gcgccugccc cuaccagggc 480

aaguccagcu ucuuccggaa cguggucugg cugaucaaga agaacuccac cuaccccacg 540

aucaagcgca gcuacaacaa caccaaccag gaggaccucc uggugcugug ggggauccac 600

[0007]

cacccaacg acgcggccga gcagaccaag cucuaccaga acccgaccac guacaucucc 660

gugggcacca gcacccugaa ccagcggcug gucccccgca ucgccacccg guccaaggug 720

aacgggcaga gcggccgcau ggaguucuuc uggacgaucc ucaagcccaa cgacgccauc 780

aacuucgaga gcaacgggaa cuucaucgcg cccgaguacg ccuacaagau cgugaagaag 840

ggcgacucca ccaucaugaa gagcgagcug gaguacggca acugcaacac caagugccag 900

accccgaugg gggccaucaa cuccagcaug cccuuccaca acauccaccc ccugacgauc 960

ggcgagugcc ccaaguacgu caaguccaac cggcucgugc uggccaccgg gcugcgcaac 1020

agccccgcagc gggagcggcg ccggaagaag cgcggccucu ucggcgccau cgcgggguuc 1080

aucgagggcg gguggcaggg caugguggac ggguguacg gcuaccacca cuccaacgag 1140

cagggcagcg gguacgccgc cgacaaggag uccacccaga aggccaucga cggcgucacg 1200

aacaagguga acagcaucau cgacaagaug aacacccagu ucgaggccgu ggggcgggag 1260

uucaacaacc uggagcgccg gaucgagaac cugaacaaga agauggagga cggcuuccuc 1320

gacgucugga ccuacaacgc ggagcugcug gugcucaugg agaacgagcg cacccuggac 1380

uuccacgacu ccaacgucaa gaaccuguac gacaaggugc ggcuccagcu gcgcgacaac 1440

gccaaggagc uggggaacgg cugcuucgag uucuaccaca agugcgacaa cgagugcaug 1500

gagagcgugc ggaacggcac guacgacuac ccccaguacu ccgaggaggc ccgccucaag 1560

cgggaggaga ucagcggggu caagcuggag uccaucggca ucuaccagau ccugagcauc 1620

uacuccaccg uggccagcuc ccucgcccug gcgaucaugg uggccgggcu gagccucugg 1680

augugcagca acggcucccu gcagugccgc aucugcaucu gaggacuagu uauaagacug 1740

acuagcccga ugggccuccc aacgggcccu ccuccccucc uugcaccgag auuaauaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

ugcaucccccc ccccccccccc ccccccccccc ccccccaaag gcucuuuuca gagccaccag 1920

aauu 1924

<210> 6
<211> 1924
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 6

[0008]

gggagaaagc uuaccaugga gaagaucaug cugcuccugg ccaucgugag ccuggucaag 60

uccgaccaga ucugcaucgg cuaccacgcc aacaacagca ccgagcaggu ggacaccauc 120

auggagaaga acgugacggu cacccacgcg caggacaucc ucgagaagac ccacaacggg 180

aagcugugcg accuggacgg cgugaagccc cucauccugc gggacugcuc cguggccggg 240

uggcugcucg gcaacccgau gugcgacgag uuccugaacg uccccgagug gagcuacauc 300

guggagaaga ucaaccccgc caacgaccug ugcuaccccg ggaacuucaa cgacuacgag 360

gagcucaagc accugcuguc ccgcaucaac cacuucgaga agauccagau caucccgaag 420

agcuccugga gcgaccacga ggccuccagc ggcgugucca gcgccugccc cuaccagggc 480

cgguccagcu ucuuccgcaa cgucgugugg cucaucaaga aggacaacgc guaccccacc 540

aucaagcggu ccuacaacaa cacgaaccag gaggaccugc uggugcucug ggggauccac 600

caccccaacg acgccgccga gcagacccgc cuguaccaga acccgaccac cuacaucagc 660

gucggcacgu ccacccugaa ccagcggcuc gugcccaaga ucgccacccg cagcaaggug 720

aacgggcagu ccggccggau ggaguucuuc uggaccaucc ugaagcccaa cgacgcgauc 780

aacuucgaga gcaacgggaa cuucaucgcc cccgagaacg ccuacaagau cgucaagaag 840

ggcgacagca cgaucaugaa guccgagcug gaguacggca acugcaacac caagugccag 900

accccgaucg gggccaucaa cagcuccaug cccuuccaca acauccaccc ccucaccauc 960

ggcgagugcc ccaaguacgu gaagagcaac cgccuggugc uggccacggg gcuccggaac 1020

uccccgcagg gcgagcgccg gcgcaagaag cggggccugu ucggggcgau cgccggcuuc 1080

aucgagggcg gguggcaggg gauggucgac ggcugguacg gcuaccacca cagcaacgag 1140

caggguccg gcuacgccgc cgacaaggag agcacccaga aggccaucga cggggugacc 1200

aacaagguga acuccaucau cgacaagaug aacacccagu ucgaggcggu cggccgcgag 1260

uucaacaacc uggagcggcg caucgagaac cucaacaaga agauggagga cggguuccug 1320

gacgugugga cguacaacgc cgagcugcuc gugcugaugg agaacgagcg gacccuggac 1380

uuccacgaca gcaacgucaa gaaccucuac gacaaggugc gccugcagcu gcgggacaac 1440

gccaaggagc ucggcaacgg cugcuucgag uucuaccacc gcugcgacaa cgagugcaug 1500

gaguccgucc ggaacgggac cuacgacuac ccccaguaca gcgaggaggc ccggcugaag 1560

cgcgaggaga ucuccggcgu gaagcuggag agcaucggga ccuaccagau ccucuccauc 1620

uacagcacgg uggccuccag ccuggcgcug gccaucaugg ucgccggccu cucccugugg 1680

augugcagca acgggagccu gcagugccgg aucugcaucu gaccacuagu uauaagacug 1740

[0009]

acuagcccga ugggccuccc aacgggcccu ccucccccucc uugcaccgag auuaauaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1860

ugcaucccccc ccccccccccc ccccccccccc ccccccaaag gcucuuuuca gagccaccag 1920

aauu 1924

<210> 7
<211> 1915
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 7
gggagaaagc uuaccaugaa ggugaagcug cucguccugc ugugcaccuu caccgccacg 60

uacgccgaca ccaucugcau cggcuaccac gcgaacaaca gcaccgacac cguggacacg 120

gugcucgaga agaacgucac cgugacccac uccgugaacc ugcuggagaa cagccacaac 180

gggaagcucu gccugcugaa gggcaucgcc ccccuccagc uggggaacug cuccgucgcc 240

ggcuggaucc uggggaaccc ggagugcgag cuccugauca gcaaggaguc cuggagcuac 300

aucguggaga agcccaaccc cgagaacggc accugcuacc ccggccacuu cgccgacuac 360

gaggagcugc gggagcagcu cuccagcgug uccagcuucg agcgcuucga gaucuucccg 420

aaggagucca gcuggcccaa ccacacgguc accggggugu ccgccagcug cucccacaac 480

ggcgagagcu ccuucuaccg gaaccugcug uggcucaccg ggaagaacgg ccuguacccc 540

aaccugagca aguccuacgc gaacaacaag gagaaggagg ugcucguccu gugggcgug 600

caccacccgc cgaacaucgg gaaccagaag gcccuguacc acaccgagaa cgccuacgug 660

agcgucguga gcucccacua cagccgcaag uucacgcccg agaucgccaa gcggcccaag 720

gugcgcgacc aggagggccg gaucaacuac uacuggaccc uccuggagcc cggggacacc 780

aucaucuucg aggcgaacgg caaccugauc gccccgcgcu acgccuucgc ccucucccgg 840

ggguucggca gcggcaucau caacuccaac gccccgaugg acaagugcga cgcgaagugc 900

cagacccccc agggggccau caacagcucc cugcccuucc agaacgucca cccggugacg 960

aucggcgagu gccccaagua cgugcgcagc gccaagcugc ggauggucac cgggcuccgc 1020

aacaucccccu ccauccagag ccggggccug uucggggcca ucgccggcuu caucgagggc 1080

ggguggaccg gcaugggugga cgggugguac ggcuaccacc accagaacga gcaggggucc 1140

[0010]

ggcuacgcgg ccgaccagaa gagcacccag aacgccauca acggcaucac gaacaaggug 1200

aacuccguca ucgagaagau gaacacccag uucaccgccg uggggaagga guucaacaag 1260

cuggagcgcc ggauggagaa ccucaacaag aaggucgacg acggcuucau cgacaucugg 1320

accuacaacg ccgagcugcu ggugcuccug gagaacgagc gcacgcugga cuuccacgac 1380

agcaacguga agaaccucua cgagaagguc aagucccagc ugaagaacaa cgcgaaggag 1440

aucgggaacg gcugcuucga guucuaccac aagugcaacg acgagugcau ggagagcgug 1500

aagaacggga ccuacgacua ccccaaguac uccgaggaga gcaagcugaa ccgggagaag 1560

aucgacggcg ugaagcucga guccaugggc gucuaccaga uccuggccau cuacagcacc 1620

guggccagcu cccuggugcu ccuggucagc cuggggccca ucuccuucug gaugugcagc 1680

aacggcuccc ugcagugccg caucugcauc ugaggacuag uuauaagacu gacuagcccg 1740

augggccucc caacgggccc uccuccccuc cuugcaccga gauuaauaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa augcaucccc 1860

cccccccccc cccccccccc cccccccaaa ggcucuuuuc agagccacca gaauu 1915

<210> 8
<211> 1918
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 8
gggagaaagc uuaccaugaa gaccaucauc gcccugagcu acauccucug ccugguguuc 60

gcccagaagc ugcccggcaa cgacaacucc accgcgacgc ucugccuggg gcaccacgcc 120

gucccgaacg gcaccaucgu gaagaccauc accaacgacc agaucgaggu gacgaacgcc 180

accgagcugg uccagagcuc cagcaccggg gagaucugcg acucccccca ccagauccuc 240

gacggcgaga acugcacccu gaucgacgcc cugcucgggg acccccagug cgacggcuuc 300

cagaacaaga agugggaccu guucguggag cggagcaagg ccuacuccaa cugcuacccc 360

uacgacgugc cggacuacgc gagccugcgc ucccucgucg ccagcuccgg cacgcuggag 420

uucaacaacg agagcuucaa cuggaccggg gugacccaga acggcaccuc cagcuccugc 480

aucccggggga gcaacaacuc cuucuucagc cgccugaacu ggcucacgca ccugaaguuc 540

aaguaccccg cccugaacgu gaccaugccc aacaacgaga aguucgacaa gcucuacauc 600

uggggcgucc accacccccgg gaccgacaac gaccagaucu ucccguacgc ccaggcgucc 660

[0011]

ggccggauca ccgugagcac gaagcgcagc cagcagaccg ugaucccaa caucggcucc 720

cggccccgcg uccggaacau ccccagccgc aucuccaucu acuggaccau cgugaagccg 780

ggggacaucc ugcugaucaa cagcaccggc aaccucaucg ccccgcgggg guacuucaag 840

auccgcuccg gcaagagcuc caucaugcgg agcgacgccc ccaucggcaa gugcaacucc 900

gagugcauca cgcccaacgg gagcaucccg aacgacaagc ccuuccagaa cgugaaccgc 960

aucaccuacg gcgccugccc ccgguacguc aagcagaaca cccugaagcu ggccaccggg 1020

augcgcaacg ugcccgagaa gcagacgcgg ggcaucuucg gggcgaucgc cggcuucauc 1080

gagaacggcu gggaggggau gguggacggc ugguacgggu uccgccacca gaacuccgag 1140

ggcaucgggc aggccgccga ccucaagagc acccaggccg cgaucgacca gaucaacggc 1200

aagcugaacc ggcugaucgg caagaccaac gagaaguucc accagaucga gaaggaguuc 1260

uccgaggucg aggggcgcau ccaggaccuc gagaaguacg uggaggacac caagaucgac 1320

cuguggagcu acaacgccga gcugcucgug gcccuggaga accagcacac gaucgaccug 1380

accgacuccg agaugaacaa gcucuucgag aagaccaaga agcagcugcg ggagaacgcc 1440

gaggacaugg gcaacgggug cuucaagauc uaccacaagu gcgacaacgc cugcaucggc 1500

agcauccgca acgggaccua cgaccacgac gucuaccggg acgaggcgcu gaacaaccgg 1560

uuccagauca agggcgugga gcucaagucc ggcuacaagg acuggauccu guggaucagc 1620

uucgccaucu ccugcuuccu gcucugcgug gcccugcugg gguucaucau gugggccugc 1680

cagaagggca acauccgcug caacaucugc aucugaggac uaguuauaag acugacuagc 1740

ccgaugggcc ucccaacggg cccuccuccc cuccuugcac cgagauuaau aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaugcauc 1860

cccccccccc cccccccccc cccccccccc aaaggcucuu uucagagcca ccagaauu 1918

<210> 9
<211> 1918
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 9
gggagaaagc uuaccaugaa gaccaucauc gcccugagcu acaucuucug ccucgcccug 60

ggccaggacc ugcccgggaa cgacaacucc accgcgacgc ucugccuggg ccaccacgcc 120

[0012]

gugccgaacg ggacccuggu caagaccauc accgacgacc agaucgaggu gacgaacgcc 180

accgagcucg ugcagagcuc cagcaccggc aagaucugca acaaccccca ccggauccug 240

gacgggaucg acugcacccu gaucgacgcc cuccugggcg acccccacug cgacgucuuc 300

cagaacgaga cgugggaccu guucguggag cgcuccaagg ccuucagcaa cugcuacccc 360

uacgacgugc cggacuacgc guccccuccgg agccuggucg ccuccagcgg cacccuggag 420

uucaucaccg agggguucac cuggacgggc gugacccaga acgggggcuc caacgccugc 480

aagcgcgggc ccggcagcgg cuucuucucc cggcucaacu ggcugaccaa gagcgggucc 540

accuaccccg ugcugaacgu cacgaugccc aacaacgaca acuucgacaa gcucuacauc 600

uggggcgugc accacccgag caccaaccag gagcagaccu cccuguacgu gcaggccagc 660

gggcgcguca ccguguccac gcggcgcagc cagcagacca ucaucccccaa caucgagagc 720

cggcccuggg ugcgcggcca guccagccgg aucuccaucu acuggaccau cgucaagccc 780

ggcgacgugc uggugaucaa cagcaacggg aaccucaucg cgccgcgcgg cuacuucaag 840

augcggaccg ggaaguccag caucaugcgc uccgacgccc ccaucgacac gugcaucagc 900

gagugcauca ccccccaacgg cuccaucccc aacgacaagc cguuccagaa cgucaacaag 960

aucaccuacg gggccugccc caaguacgug aagcagaaca cccugaagcu ggccacgggc 1020

augcggaacg ugcccgagaa gcagacccgc ggccucuucg gggccaucgc gggcuucauc 1080

gagaacgggu gggagggcau gaucgacggg ugguacggcu uccggcacca gaacagcgag 1140

ggcaccgggc aggccgccga ccugaagucc acccaggccg ccaucgacca gaucaacggc 1200

aaggucaacc gcaucaucga gaagacgaac gagaaguucc accagaucga gaaggaguuc 1260

agcgaggugg aggggcggau ccaggaccug gagaaguacg uggaggacac caagaucgac 1320

cucugguccu acaacgcgga gcugcugguc gcccucgaga accagcacac caucgaccug 1380

accgacagcg agaugaacaa gcuguucgag aagacgcgcc ggcagcuccg cgagaacgcc 1440

gaggacaugg gcaacgggug cuucaagauc uaccacaagu gcgacaacgc cugcaucgag 1500

uccauccgga gcggcaccua cgaccacgac guguaccggg acgaggcccu gaacaaccgc 1560

uuccagauca agggcgucga gcugaagucc ggguacaagg acuggauccu cuggaucagc 1620

uucgcgaucu ccugcuuccu gcugugcgug gugcuccugg gcuucaucau gugggccugc 1680

cagcggggga acauccgcug caacaucugc aucugaggac uaguuauaag acugacuagc 1740

ccgaugggcc ucccaacggg cccuccuccc cuccuugcac cgagauuaau aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaugcauc 1860

[0013]

ccccccccccc ccccccccccc ccccccccccc aaaggcucuu uucagagcca ccagaauu 1918

<210> 10
<211> 1906
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 10
gggagaaagc uuaccauggc caucaucuac cugauccucc uguucaccgc cgugcggggc 60

gaccagaucu gcaucgggua ccacgcgaac aacagcaccg agaaggucga cacgauccug 120

gagcgcaacg ugaccgugac ccacgccaag gacauccucg agaagaccca caacggcaag 180

cugugcaagc ugaacgggau cccgccgcuc gagcugggcg acugcuccau cgccgggugg 240

cugcucggca accccgagug cgaccggcug cugagcgucc ccgagugguc cuacaucaug 300

gagaaggaga acccccgcga cggccucugc uacccgggga gcuucaacga cuacgaggag 360

cugaagcacc ugcucuccag cgugaagcac uucgagaagg ugaagauccu gcccaaggac 420

cgguggacgc agcacaccac caccggcggg ucccgcgccu gcgccgucag cggcaacccc 480

uccuucuucc ggaacauggu guggcugacg gagaagggga gcaacuaccc cguggcgaag 540

ggcuccuaca acaacaccag cggcgagcag augcucauca ucuggggcgu ccaccacccg 600

aacgacgaga ccgagcagcg cacccuguac cagaacgugg ggacguacgu guccgucggg 660

accagcaccc ugaacaagcg guccaccccc gagaucgcca cgcgccccaa ggugaacggc 720

cagggcgggc ggauggaguu cagcuggacc cuccuggaca ugugggacac caucaacuuc 780

gaguccaccg gcaaccugau cgcccccgag uacggguuca agaucagcaa gcgcggcucc 840

agcgggauca ugaagacgga gggcacccuc gagaacugcg agaccaagug ccagaccccg 900

cugggcgcca ucaacacgac ccugcccuuc cacaacgugc acccccucac caucggggag 960

ugccccaagu acgucaagag cgagaagcug gugcuggcga ccggccuccg gaacgugccg 1020

cagaucgagu cccgcgggcu guucggcgcc aucgccgggu ucaucgaggg cggcuggcag 1080

gggauggucg acggcuggua cggguaccac cacagcaacg accagggcuc cggguacgcc 1140

gccgacaagg agagcacgca gaaggcguuc gacggcauca ccaacaaggu gaacuccgug 1200

aucgagaaga ugaacaccca guucgaggcc gucggcaagg aguucagcaa ccuggagcgg 1260

cgccucgaga accugaacaa gaagauggag gacgguuucc uggacgugug gaccuacaac 1320

[0014]

gccgagcucc uggugcugau ggagaacgag cggacgcucg acuuccacga cuccaacguc 1380

aagaaccugu acgacaaggu gcgcaugcag cugcgggaca acgucaagga gcucggcaac 1440

gggugcuucg aguucuacca caagugcgac gacgagugca ugaacagcgu gaagaacggc 1500

accuacgacu accccaagua cgaggaggag uccaagcuga accgcaacga gaucaagggc 1560

gugaagcuga gcuccauggg ggucuaccag auccucgcca ucuacgccac cguggcgggc 1620

agccuguccc uggccaucau gauggccggg aucagcuucu ggaugugcuc caacggcagc 1680

cugcagugcc ggaucugcau cugaggacua guuauaagac ugacuagccc gaugggccuc 1740

ccaacgggcc cuccuccccu ccuugcaccg agauuaauaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaugcauccc cccccccccc 1860

cccccccccc cccccccccaa aggcucuuuu cagagccacc agaauu 1906

<210> 11
<211> 1909
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 11
gggagaaagc uuaccaugaa cacccagauc cugguguucg cccucgucgc cgugauccac 60

accaacgcgg acaagaucug ccuggccac cacgccguga gcaacgggac gaaggucaac 120

acccugaccg agcggggcgu ggaggugguc aacgccaccg agacggugga gcgcaccaac 180

aucccaaga ucugcuccaa ggggaagcgg accguggacc ucggccagug cgggcugcug 240

ggcaccauca cgggccagcc gcagugcgac caguuccucg aguucagcgc cgaccugauc 300

aucgagcgcc gggacgggaa cgacgucugc uaccccggca aguucgugaa cggggaggcc 360

cugcgccaga uccuccggaa guccggcggg aucaacaagg agaccauggg cuucaccuac 420

agcggcaucc gcaccaacgg gacgaccucc gcgugccggc gcagcggcuc cagcuucuac 480

gccgagauga aguggcugcu guccgacacc gacaacgccg ccuucccccа gaugaccaag 540

agcuacaaga acacgcggcg cgagcccgcg cucaucgugu gggggaucca ccacuccggc 600

agcaccaccg agcagaccaa gcuguacggc uccgggaaca agcuggucac gguggggcagc 660

uccaaguacc agcagagcuu cgugccgucc cccgagaccc ggccccaggu caacgggcag 720

agcggccgca ucgacuucca cuggcucauc cuggacucca acgacaccgu gaccuucagc 780

uucaacgggg ccuucaucgc ccccgaccgg gccagcuucc ugaagggcaa guccaugggc 840

[0015]

auccagagcg acgugcaggu cgacgccaac ugcgaggggg agugcuacca cuccggcggg 900

acgaucacca gcucccuccc guuccagaac aucaacagcc gcgcgguggg caagugcccc 960

cgguacguga agcaggaguc ccugcugcuc gccaccggga ugaagaacgu ccccgagcug 1020

agcaagaagc gccggaagcg cggccuguuc ggcgccaucg ccggguucau cgagaacggc 1080

ugggaggggc ucguggacgg cugguacggg uuccggcacc agaacgccca gggcgagggc 1140

accgcggccg acuacaaguc cacgcagagc gccaucgacc agaucaccgg gaagcugaac 1200

cgccugaucg agaagaccaa ccagcaguuc gagcucaucg acaacgaguu caccgaggug 1260

gagaagcaga ucggcaacgu caucaacugg acgcgggacu ccaucaccga gguguggagc 1320

uacaacgccg agcugcuggu cgccauggag aaccagcaca ccaucgaccu cgcggacucc 1380

gagaugaaca agcuguacga gcgggugcgc aagcagcugc gggagaacgc cgaggaggac 1440

gggaccggcu gcuucgagau cuuccacaag ugcgacgacg acugcauggc cagcauccgc 1500

aacaacacgu acgaccacuc caaguaccgg gaggaggcca ugcagaaccg cauccagauc 1560

gaccccguga agcucagcgg cggguacaag gacgucaucc ugugguucuc cuucggcgcc 1620

agcugcuucc ugcuccuggc gaucgccaug gggcuggugu ucaucugcgu gaagaacggc 1680

aacaugcggu gcaccaucug caucugacca cuaguuauaa gacugacuag cccgaugggc 1740

cucccaacgg gcccuccucc ccuccuugca ccgagauuaa uaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaugcau cccccccccc 1860

cccccccccc cccccccccc caaaggcucu uuucagagcc accagaauu 1909

<210> 12
<211> 1918
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 12
gggagaaagc uuaccaugaa ggccauccug gugguccucc uguacaccuu cgccaccgcg 60

aacgccgaca cgcugugcau cggcuaccac gccaacaaca gcaccgacac cguggacacc 120

gugcucgaga agaacgucac ggugacccac uccgugaacc ugcuggagga caagcacaac 180

gggaagcucu gcaagcugcg gggcgucgcc ccgcugcacc ucgggaagug caacaucgcc 240

ggcuggaucc uggggaaccc ggagugcgag agccugucca ccgcgagcuc cuggagcuac 300

[0016]

aucguggaga ccuccuccag cgacaacggc acgugcuacc ccggcgacuu caucgacuac 360

gaggagcucc gcgagcagcu guccagcgug uccagcuucg agcgguucga gaucuucccc 420

aagaccucca gcuggccgaa ccacgacucc aacaaggggg ucaccgccgc cugccccCac 480

gccggcgcga agagcuucua caagaaccug aucuggcucg ugaagaaggg gaacuccuac 540

cccaagcuga gcaaguccua caucaacgac aagggcaagg aggugcuggu ccucuggggg 600

auccaccacc ccagcaccag cgccgaccag caguccCugu accagaacgc cgacgccuac 660

guguucgugg gcagcucccg cuacagcaag aaguucaagc cggagaucgc cauccggccc 720

aaggUccgcg accaggaggg ccgcaugaac uacuacugga cccuggugga gcccggggac 780

aagaucaccu ucgaggcgac cggcaaccuc gugguccccc gguacgccuu cgccauggag 840

cgcaacgccg gguccggcau caucaucagc gacacgccgg ugcacgacug caacaccacc 900

ugccagaccc ccaagggcgc caucaacacg ucccugcccu uccagaacau ccaccccauc 960

accaucggga agugcccgaa guacgugaag agcaccaagc ugcggcucgc gaccggccug 1020

cgcaacgucc ccuccaucca gagccggggg cuguucggcg ccaucgccgg guucaucgag 1080

ggcggcugga cggggauggu cgacggcugg uacggguacc accaccagaa cgagcagggc 1140

agcggguacg ccgccgaccu caaguccacg cagaacgcga ucgacgagau caccaacaag 1200

gugaacagcg ucaucgagaa gaugaacacc caguucaccg ccgugggcaa ggaguucaac 1260

caccuggaga agcggaucga gaaccugaac aagaaggucg acgacggcuu ccucgacauc 1320

uggacguaca acgccgagcu gcuggugcuc cuggagaacg agcgcacccu ggacuaccac 1380

gacuccaacg ugaagaaccu cuacgagaag guccggagcc agcugaagaa caacgccaag 1440

gagaucggga acggcugcuu cgaguucuac cacaagugcg acaacaccug cauggagucc 1500

gugaagaacg ggaccuacga cuaccccaag uacagcgagg aggccaagcu gaaccgcgag 1560

gagaucgacg gcgugaagcu cgaguccacg cggaucuacc agauccuggc gaucuacagc 1620

accgucgcca gcucccuggu gcucgugguc agccuggggg ccaucuccuu cuggaugugc 1680

agcaacggcu cccugcagug ccgcaucugc aucugaccac uaguuauaag acugacuagc 1740

ccgaugggcc ucccaacggg cccuccuccc cuccuugcac cgagauuaau aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaugcauc 1860

ccccccccCc ccccccccCc ccccccccCc aaaggcucuu uucagagcca ccagaauu 1918

<210> 13
<211> 1975

[0017]

〈212〉 RNA
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 GC优化的HA mRNA

〈400〉 13

gggagaaagc uuaccaugaa ggccaucauc gugcugcuca uggucgugac cagcaacgcc 60

gaccggaucu gcaccggcau cacguccagc aacucccccgc acguggucaa gaccgcgacc 120

caggggggagg ugaacgugac cggcgucauc ccgcugacga ccacccccac caagagccac 180

uucgccaacc ugaaggggac ggagacccgc ggcaagcucu gccccaagug ccugaacugc 240

accgaccugg acguggcccu cgggcggccc aagugcaccg gcaagauccc guccgcccgc 300

gugagcaucc ugcacgaggu ccggcccgug acguccggcu gcuuccccau caugcacgac 360

cgcaccaaga uccggcagcu gcccaaccuc cugcgcgggu acgagcacau ccggcugagc 420

acccacaacg ugaucaacgc cgagaacgcg ccgggcgggc ccuacaagau cggcaccucc 480

gggagcugcc ccaacaucac gaacggcaac ggcuucuucg ccaccauggc cugggccguc 540

cccaagaacg acaagaacaa gaccgcgacc aacccgcuca cgaucgaggu gcccuacauc 600

ugcaccgagg gggaggacca gaucaccgug uggggcuucc acuccgacaa cgagacccag 660

auggccaagc uguacgggga cagcaagccc cagaaguuca cguccagcgc caacggcguc 720

accacccacu acguguccca gaucggcggg uuccccaacc agaccgagga cggcgggcug 780

ccgcagagcg gccgcaucgu ggucgacuac auggugcaga aguccgggaa gacgggcacc 840

aucaccuacc agcggggcau ccuccugccc cagaaggugu ggugcgccag cgggcgcucc 900

aaggucauca agggcagccu gccccucauc ggggaggccg acugccugca cgagaaguac 960

ggcgggcuga acaagagcaa gcccuacuac accggcgagc acgcgaaggc caucggcaac 1020

ugcccgaucu gggugaagac gccccucaag cuggccaacg ggaccaagua ccggcccccc 1080

gccaagcugc ucaaggagcg cggcuucuuc ggggccaucg cgggcuuccu ggagggcggg 1140

ugggagggca ugaucgccgg guggcacggc uacaccuccc acggggccca cggcguggcc 1200

gucgccgcgg accugaagag cacccaggag gccaucaaca agaucacgaa gaaccucaac 1260

ucccugagcg agcuggaggu gaagaaccuc cagcggcugu ccggcgccau ggacgagcug 1320

cacaacgaga uccucgagcu ggacgagaag gucgacgacc ugcgcgccga caccaucagc 1380

ucccagaucg agcucgccgu gcugcugagc aacgagggga ucaucaacuc cgaggacgag 1440

caccuccugg cgcuggagcg gaagcucaag aagaugcugg gcccgagcgc cguggagauc 1500

[0018]

gggaacggcu gcuucgagac caagcacaag ugcaaccaga ccugccugga ccgcaucgcc 1560

gccgggaccu ucgacgcggg cgaguucucc cucccccacgu ucgacagccu gaacaucacc 1620

gccgccuccc ugaacgacga cggccuggac aaccacacca uccuccugua cuacagcacc 1680

gccgccucca gccuggcggu cacgcucaug aucgccaucu ucguggugua cauggucucc 1740

cgggacaacg ugagcugcuc caucugccug ugaggacuag uuauaagacu gacuagcccg 1800

augggccucc caacgggccc uccucccccuc cuugcaccga gauuaauaaa aaaaaaaaaa 1860

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa augcaucccc 1920

ccccccccccc ccccccccccc ccccccccaaa ggcucuuuuc agagccacca gaauu 1975

<210> 14
<211> 1918
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA mRNA

<400> 14
gggagaaagc uuaccaugaa ggccauccug gugguccucc uguacaccuu cgccaccgcg 60

aacgccgaca cgcugugcau cggcuaccac gccaacaaca gcaccgacac cguggacacc 120

gugcucgaga agaacgucac ggugacccac uccgugaacc ugcuggagga caagcacaac 180

gggaagcucu gcaagcugcg gggcgucgcc ccgcugcacc ucgggaagug caacaucgcc 240

ggcuggaucc uggggaaccc ggagugcgag agccugucca ccgcgagcuc cuggagcuac 300

aucguggaga ccccagcuc cgacaacggc acgugcuacc ccggcgacuu caucgacuac 360

gaggagcucc gcgagcagcu gagcuccgug agcuccuucg agcgguucga gaucuucccc 420

aagaccagcu ccuggcccaa ccacgacagc gacaaggggg ucaccgccgc cugcccgcac 480

gccggcgcga aguccuucua caagaaccug aucuggcucg ugaagaaggg gaacagcuac 540

cccaagcugu ccaagagcua caucaacgac aagggcaagg aggugcuggu ccucuggggg 600

auccaccacc ccagcaccuc cgccgaccag cagagccugu accagaacgc cgacgccuac 660

guguucgugg gcuccagccg cuacuccaag acguucaagc ccgagaucgc cauccggccg 720

aaggucccgcg accgggaggg ccggaugaac uacuacugga cgcuggugga gcccggggac 780

aagaucaccu ucgaggcgac cggcaaccuc gugguccccc gcuacgccuu cgccauggag 840

cggaacgccg ggagcggcau caucaucucc gacaccccccg ugcacgacug caacacgacc 900

ugccagaccc cgaagggcgc caucaacacc agccugcccu uccagaacau ccaccccauc 960

[0019]

acgaucggga agugccccaa guacgugaag uccaccaagc ugcgccucgc gaccggccug 1020

cggaacaucc cgagcaucca gucccgcggg cuguucggcg ccaucgccgg guucaucgag 1080

ggcggcugga ccgggauggu ggacggcugg uacggguacc accaccagaa cgagcagggc 1140

agcggguacg ccgccgaccu caaguccacg cagaacgcga ucgacgagau caccaacaag 1200

gugaacagcg ucaucgagaa gaugaacacc caguucaccg ccgugggcaa ggaguucaac 1260

caccuggaga agcggaucga gaaccugaac aagaaggucg acgacggcuu ccucgacauc 1320

uggacguaca acgccgagcu gcuggugcuc cuggagaacg agcgcacccu ggacuaccac 1380

gacuccaacg ugaagaaccu cuacgagaag guccggagcc agcugaagaa caacgccaag 1440

gagaucggga acggcugcuu cgaguucuac cacaagugcg acaacaccug cauggagucc 1500

gugaagaacg ggaccuacga cuaccccaag uacagcgagg aggccaagcu gaaccgcgag 1560

gagaucgacg gcgugaagcu cgaguccacg cggaucuacc agauccuggc gaucuacagc 1620

accgucgcca gcucccuggu gcucgugguc agccuggggg ccaucuccuu cuggaugugc 1680

agcaacggcu cccugcagug ccgcaucugc aucugaccac uaguuauaag acugacuagc 1740

ccgaugggcc ucccaacggg cccuccuccc cuccuugcac cgagauuaau aaaaaaaaaa 1800

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaugcauc 1860

cccccccccc cccccccccc cccccccccc aaaggcucuu uucagagcca ccagaauu 1918

<210> 15
<211> 3952
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 15
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

[0020]

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aaggccaacc 2040

tgctcgtgct gctgtgcgcc ctcgcggccg ccgacgccga caccatctgc atcggctacc 2100

acgccaacaa cagcaccgac acggtcgaca ccgtgctgga gaagaacgtg accgtcaccc 2160

[0021]

actccgtgaa cctgctcgag gacagccaca acgggaagct gtgccggctg aagggcatcg 2220

cgcccctcca gctggggaag tgcaacatcg ccggctggct gctcgggaac ccggagtgcg 2280

acccccctgct gcccgtgcgc tcctggagct acatcgtcga gacgcccaac tccgagaacg 2340

gcatctgcta cccgggcgac ttcatcgact acgaggagct ccgggagcag ctgagctccg 2400

tgagctcctt cgagcgcttc gagatcttcc ccaaggagag ctcctggccc aaccacaaca 2460

ccaacggggt gaccgccgcc tgcagccacg agggcaagtc cagcttctac cggaacctgc 2520

tctggctgac cgagaaggag gggtcctacc ccaagctgaa gaacagctac gtcaacaaga 2580

agggcaagga ggtgctcgtg ctgtgggggga tccaccaccc gcccaactcc aaggagcagc 2640

agaacctgta ccagaacgag aacgcgtacg tcagcgtggt gacgtccaac tacaaccgcc 2700

ggttcacccc cgagatcgcc gagcgcccca aggtccggga ccaggccggc cgcatgaact 2760

actactggac cctcctgaag ccgggcgaca ccatcatctt cgaggccaac gggaacctga 2820

tcgccccgat gtacgcgttc gccctcagcc ggggcttcgg gagcggcatc atcacgtcca 2880

acgccagcat gcacgagtgc aacaccaagt gccagacccc cctgggcgcc atcaactcca 2940

gcctgcccta ccagaacatc cacccggtga ccatcgggga gtgccccaag tacgtgcgct 3000

ccgccaagct ccggatggtc acgggcctgc gcaacaaccc cagcatccag tcccgggggc 3060

tgttcggcgc gatcgccggg ttcatcgagg gcggctggac cgggatgatc gacggctggt 3120

acgggtacca ccaccagaac gagcagggca gcgggtacgc cgccgaccag aagtccaccc 3180

agaacgccat caacggcatc accaacaagg tgaacacggt gatcgagaag atgaacatcc 3240

agttcaccgc ggtcggcaag gagttcaaca agctcgagaa gcgcatggag aacctgaaca 3300

agaaggtgga cgacgggttc ctggacatct ggacctacaa cgccgagctc ctggtgctgc 3360

tcgagaacga gcggaccctg gacttccacg acagcaacgt caagaacctg tacgagaagg 3420

tgaagtccca gctcaagaac aacgccaagg agatcggcaa cgggtgcttc gagttctacc 3480

acaagtgcga caacgagtgc atggagagcg tccgcaacgg cacgtacgac taccccaagt 3540

actccgagga gagcaagctg aaccgggaga aggtggacgg ggtgaagctg gagtccatgg 3600

gcatctacca gatcctcgcc atctacagca ccgtcgcctc cagcctggtg ctgctggtgt 3660

ccctcggcgc gatcagcttc tggatgtgca gcaacgggtc cctgcagtgc cgcatctgca 3720

tctgaccact agttataaga ctgactagcc cgatgggcct cccaacgggc cctcctcccc 3780

tccttgcacc gagattaata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

[0022]

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaatgcatcc cccccccccc cccccccccc ccccccccca 3900

aaggctcttt tcagagccac cagaattcgg atactctaga catatgctta ag 3952

<210> 16
<211> 3955
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 16
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

[0023]

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aaggccatcc 2040

tggtggtcct cctgtacacc ttcgccaccg cgaacgccga cacgctgtgc atcggctacc 2100

acgccaacaa cagcaccgac accgtggaca ccgtgctcga gaagaacgtc acggtgaccc 2160

actccgtgaa cctgctggag gacaagcaca acgggaagct ctgcaagctg cggggcgtcg 2220

ccccgctgca cctcgggaag tgcaacatcg ccggctggat cctggggaac ccggagtgcg 2280

agagcctgtc caccgcgagc tcctggagct acatcgtgga gacctccagc tccgacaacg 2340

gcacgtgcta ccccggcgac ttcatcgact acgaggagct ccgcgagcag ctgagctccg 2400

tgagctcctt cgagcggttc gagatcttcc ccaagaccag ctcctggccc aaccacgaca 2460

gcaacaaggg ggtcaccgcc gcctgcccgc acgccggcgc gaagtccttc tacaagaacc 2520

tgatctggct cgtgaagaag gggaacagct accccaagct gtccaagagc tacatcaacg 2580

acaagggcaa ggaggtgctg gtcctctggg ggatccacca ccccagcacc tccgccgacc 2640

agcagagcct gtaccagaac gccgacgcct acgtgttcgt gggctccagc cgctactcca 2700

agaagttcaa gcccgagatc gccatccggc cgaaggtccg cgaccaggag ggccggatga 2760

actactactg gacgctggtg gagcccgggg acaagatcac cttcgaggcg accggcaacc 2820

tcgtggtccc ccgctacgcc ttcgccatgg agcggaacgc cgggagcggc atcatcatct 2880

ccgacacccc cgtgcacgac tgcaacacga cctgccagac cccgaagggc gccatcaaca 2940

ccagcctgcc cttccagaac atccacccca tcacgatcgg gaagtgcccc aagtacgtga 3000

[0024]

agtccaccaa gctgcgcctc gcgaccggcc tgcggaacgt cccgagcatc cagtcccgcg 3060

ggctgttcgg cgccatcgcc gggttcatcg agggcggctg gaccgggatg gtggacggct 3120

ggtacgggta ccaccaccag aacgagcagg gcagcgggta cgccgccgac ctcaagtcca 3180

cgcagaacgc gatcgacgag atcaccaaca aggtgaacag cgtcatcgag aagatgaaca 3240

cccagttcac cgccgtgggc aaggagttca accacctgga gaagcggatc gagaacctga 3300

acaagaaggt cgacgacggc ttcctcgaca tctggacgta caacgccgag ctgctggtgc 3360

tcctggagaa cgagcgcacc ctggactacc acgactccaa cgtgaagaac ctctacgaga 3420

aggtccggag ccagctgaag aacaacgcca aggagatcgg gaacggctgc ttcgagttct 3480

accacaagtg cgacaacacc tgcatggagt ccgtgaagaa cgggacctac gactacccca 3540

agtacagcga ggaggccaag ctgaaccgcg aggagatcga cggcgtgaag ctcgagtcca 3600

cgcggatcta ccagatcctg gcgatctaca gcaccgtcgc cagctccctg gtgctcgtgg 3660

tcagcctggg ggccatctcc ttctggatgt gcagcaacgg ctccctgcag tgccgcatct 3720

gcatctgacc actagttata gactgacta gcccgatggg cctcccaacg ggccctcctc 3780

ccctccttgc accgagatta ataaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatgca tccccccccc ccccccccccc ccccccccccc 3900

ccaaaggctc ttttcagagc caccagaatt cggatactct agacatatgc ttaag 3955

<210> 17
<211> 3955
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 17
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

[0025]

aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aaggccatcc 2040

tggtggtcct cctgtacacc ttcgccaccg cgaacgccga cacgctgtgc atcggctacc 2100

acgccaacaa cagcaccgac accgtggaca ccgtgctcga gaagaacgtc acggtgaccc 2160

[0026]

actccgtgaa cctgctggag gacaagcaca acgggaagct ctgcaagctg cggggcgtcg 2220

ccccgctgca cctcgggaag tgcaacatcg ccggctggat cctggggaac ccggagtgcg 2280

agagcctgtc caccgcgagc tcctggagct acatcgtgga gacccccctcc agcgacaacg 2340

gcacgtgcta ccccggcgac ttcatcgact acgaggagct ccgcgagcag ctgtccagcg 2400

tgtccagctt cgagcggttc gagatcttcc ccaagacctc cagctggccg aaccacgact 2460

ccgacaaggg ggtcaccgcc gcctgccccc acgccggcgc gaagagcttc tacaagaacc 2520

tgatctggct cgtgaagaag gggaactcct accccaagct gagcaagtcc tacatcaacg 2580

acaagggcaa ggaggtgctg gtcctctggg ggatccacca ccccagcacc agcgccgacc 2640

agcagtccct gtaccagaac gccgacgcct acgtgttcgt gggcagctcc cgctacagca 2700

agacgttcaa gccggagatc gccatccggc ccaaggtccg cgaccgggag ggccgcatga 2760

actactactg gaccctggtg gagcccgggg acaagatcac cttcgaggcg accggcaacc 2820

tcgtggtccc ccggtacgcc ttcgccatgg agcgcaacgc cgggtccggc atcatcatca 2880

gcgacacgcc ggtgcacgac tgcaacacca cctgccagac ccccaagggc gccatcaaca 2940

cgtccctgcc cttccagaac atccacccca tcaccatcgg gaagtgcccg aagtacgtga 3000

agagcaccaa gctgcggctc gcgaccggcc tgcgcaacat cccctccatc cagagccggg 3060

ggctgttcgg cgccatcgcc gggttcatcg agggcggctg gacggggatg gtcgacggct 3120

ggtacgggta ccaccaccag aacgagcagg gcagcgggta cgccgccgac ctcaagtcca 3180

cgcagaacgc gatcgacgag atcaccaaca aggtgaacag cgtcatcgag aagatgaaca 3240

cccagttcac cgccgtgggc aaggagttca accacctgga gaagcggatc gagaacctga 3300

acaagaaggt cgacgacggc ttcctcgaca tctggacgta caacgccgag ctgctggtgc 3360

tcctggagaa cgagcgcacc ctggactacc acgactccaa cgtgaagaac ctctacgaga 3420

aggtccggag ccagctgaag aacaacgcca aggagatcgg gaacggctgc ttcgagttct 3480

accacaagtg cgacaacacc tgcatggagt ccgtgaagaa cgggacctac gactacccca 3540

agtacagcga ggaggccaag ctgaaccgcg aggagatcga cggcgtgaag ctcgagtcca 3600

cgcggatcta ccagatcctg gcgatctaca gcaccgtcgc cagctccctg gtgctcgtgg 3660

tcagcctggg ggccatctcc ttctggatgt gcagcaacgg ctccctgcag tgccgcatct 3720

gcatctgacc actagttata agactgacta gcccgatggg cctcccaacg ggccctcctc 3780

ccctccttgc accgagatta ataaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatgca tccccccccc cccccccccc cccccccccc 3900

[0027]

ccaaaggctc ttttcagagc caccagaatt cggatactct agacatatgc ttaag 3955

<210> 18
<211> 3949
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 18
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

[0028]

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg gagaagatcg 2040

tgctgctctt cgccatcgtc agcctggtga agtccgacca gatctgcatc ggctaccacg 2100

ccaacaacag caccgagcag gtggacacca tcatggagaa gaacgtcacg gtgacccacg 2160

cgcaggacat cctggagaag acccacaacg ggaagctctg cgacctggac ggcgtgaagc 2220

ccctgatcct ccgggactgc tccgtcgccg ggtggctgct gggcaacccg atgtgcgacg 2280

agttcatcaa cgtgcccgag tggagctaca tcgtggagaa ggccaacccc gtcaacgacc 2340

tctgctaccc cggggacttc aacgactacg aggagctgaa gcacctgctc tcccgcatca 2400

accacttcga gaagatccag atcatcccga agagctcctg gagctcccac gaggccagcc 2460

tgggcgtgtc cagcgcctgc ccctaccagg gcaagtccag cttcttccgg aacgtggtct 2520

ggctgatcaa gaagaactcc acctacccca cgatcaagcg cagctacaac aacaccaacc 2580

aggaggacct cctggtgctg tgggggatcc accaccccaa cgacgcggcc gagcagacca 2640

agctctacca gaacccgacc acgtacatct ccgtgggcac cagcaccctg aaccagcggc 2700

tggtcccccg catcgccacc cggtccaagg tgaacgggca gagcggccgc atggagttct 2760

tctggacgat cctcaagccc aacgacgcca tcaacttcga gagcaacggg aacttcatcg 2820

cgcccgagta cgcctacaag atcgtgaaga agggcgactc caccatcatg aagagcgagc 2880

tggagtacgg caactgcaac accaagtgcc agaccccgat gggggccatc aactccagca 2940

tgcccttcca caacatccac cccctgacga tcggcgagtg ccccaagtac gtcaagtcca 3000

accggctcgt gctggccacc gggctgcgca acagcccgca gcgggagacc cgcggcctct 3060

[0029]

tcggcgccat cgcggggttc atcgagggcg ggtggcaggg catggtggac gggtggtacg 3120

gctaccacca ctccaacgag cagggcagcg ggtacgccgc cgacaaggag tccacccaga 3180

aggccatcga cggcgtcacg aacaaggtga acagcatcat cgacaagatg aacacccagt 3240

tcgaggccgt ggggcgggag ttcaacaacc tggagcgccg gatcgagaac ctgaacaaga 3300

agatggagga cggcttcctc gacgtctgga cctacaacgc ggagctgctg gtgctcatgg 3360

agaacgagcg caccctggac ttccacgact ccaacgtcaa gaacctgtac gacaaggtgc 3420

ggctccagct gcgcgacaac gccaaggagc tggggaacgg ctgcttcgag ttctaccaca 3480

agtgcgacaa cgagtgcatg gagagcgtgc ggaacggcac gtacgactac ccccagtact 3540

ccgaggaggc ccgcctcaag cgggaggaga tcagcggggt caagctggag tccatcggca 3600

tctaccagat cctgagcatc tactccaccg tggccagctc cctcgccctg gcgatcatgg 3660

tggccgggct gagcctctgg atgtgcagca acggctccct gcagtgccgc atctgcatct 3720

gaggactagt tataagactg actagcccga tgggcctccc aacgggccct cctcccctcc 3780

ttgcaccgag attaataaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa tgcatccccc ccccccccccc ccccccccccc ccccccaaag 3900

gctcttttca gagccaccag aattcggata ctctagacat atgcttaag 3949

<210> 19
<211> 3961
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 19
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

[0030]

aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg gagaagatcg 2040

tgctgctctt cgccatcgtc agcctggtga agtccgacca gatctgcatc ggctaccacg 2100

ccaacaacag caccgagcag gtggacacca tcatggagaa gaacgtcacg gtgacccacg 2160

cgcaggacat cctggagaag acccacaacg ggaagctctg cgacctggac ggcgtgaagc 2220

[0031]

ccctgatcct ccgggactgc tccgtcgccg ggtggctgct gggcaacccg atgtgcgacg 2280

agttcatcaa cgtgcccgag tggagctaca tcgtggagaa ggccaacccc gtcaacgacc 2340

tctgctaccc cggggacttc aacgactacg aggagctgaa gcacctgctc tcccgcatca 2400

accacttcga gaagatccag atcatcccga agagctcctg gagctcccac gaggccagcc 2460

tgggcgtgtc cagcgcctgc ccctaccagg gcaagtccag cttcttccgg aacgtggtct 2520

ggctgatcaa gaagaactcc acctacccca cgatcaagcg cagctacaac aacaccaacc 2580

aggaggacct cctggtgctg tgggggatcc accaccccaa cgacgcggcc gagcagacca 2640

agctctacca gaacccgacc acgtacatct ccgtgggcac cagcaccctg aaccagcggc 2700

tggtcccccg catcgccacc cggtccaagg tgaacgggca gagcggccgc atggagttct 2760

tctggacgat cctcaagccc aacgacgcca tcaacttcga gagcaacggg aacttcatcg 2820

cgcccgagta cgcctacaag atcgtgaaga agggcgactc caccatcatg aagagcgagc 2880

tggagtacgg caactgcaac accaagtgcc agaccccgat gggggccatc aactccagca 2940

tgcccttcca caacatccac cccctgacga tcggcgagtg ccccaagtac gtcaagtcca 3000

accggctcgt gctggccacc gggctgcgca acagcccgca gcgggagcgg cgccggaaga 3060

agcgcggcct cttcggcgcc atcgcggggt tcatcgaggg cgggtggcag ggcatggtgg 3120

acgggtggta cggctaccac cactccaacg agcagggcag cgggtacgcc gccgacaagg 3180

agtccaccca gaaggccatc gacggcgtca cgaacaaggt gaacagcatc atcgacaaga 3240

tgaacaccca gttcgaggcc gtggggcggg agttcaacaa cctggagcgc cggatcgaga 3300

acctgaacaa gaagatggag gacggcttcc tcgacgtctg gacctacaac gcggagctgc 3360

tggtgctcat ggagaacgag cgcaccctgg acttccacga ctccaacgtc aagaacctgt 3420

acgacaaggt gcggctccag ctgcgcgaca acgccaagga gctggggaac ggctgcttcg 3480

agttctacca caagtgcgac aacgagtgca tggagagcgt gcggaacggc acgtacgact 3540

acccccagta ctccgaggag gcccgcctca agcgggagga gatcagcggg gtcaagctgg 3600

agtccatcgg catctaccag atcctgagca tctactccac cgtggccagc tccctcgccc 3660

tggcgatcat ggtggccggg ctgagcctct ggatgtgcag caacggctcc ctgcagtgcc 3720

gcatctgcat ctgaggacta gttataagac tgactagccc gatgggcctc ccaacgggcc 3780

ctcctccccc ccttgcaccg agattaataa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aatgcatccc cccccccccc cccccccccc 3900

[0032]

ccccccccaa aggctctttt cagagccacc agaattcgga tactctagac atatgcttaa 3960

g 3961

<210> 20
<211> 3961
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 20
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

[0033]

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg gagaagatca 2040

tgctgctcct ggccatcgtg agcctggtca agtccgacca gatctgcatc ggctaccacg 2100

ccaacaacag caccgagcag gtggacacca tcatggagaa gaacgtgacg gtcacccacg 2160

cgcaggacat cctcgagaag acccacaacg ggaagctgtg cgacctggac ggcgtgaagc 2220

ccctcatcct gcgggactgc tccgtggccg ggtggctgct cggcaacccg atgtgcgacg 2280

agttcctgaa cgtccccgag tggagctaca tcgtggagaa gatcaacccc gccaacgacc 2340

tgtgctaccc cgggaacttc aacgactacg aggagctcaa gcacctgctg tcccgcatca 2400

accacttcga gaagatccag atcatcccga agagctcctg gagcgaccac gaggcctcca 2460

gcggcgtgtc cagcgcctgc ccctaccagg gccggtccag cttcttccgc aacgtcgtgt 2520

ggctcatcaa gaaggacaac gcgtacccca ccatcaagcg gtcctacaac aacacgaacc 2580

aggaggacct gctggtgctc tgggggatcc accaccccaa cgacgccgcc gagcagaccc 2640

gcctgtacca gaacccgacc acctacatca gcgtcggcac gtccaccctg aaccagcggc 2700

tcgtgcccaa gatcgccacc cgcagcaagg tgaacgggca gtccggccgg atggagttct 2760

tctggaccat cctgaagccc aacgacgcga tcaacttcga gagcaacggg aacttcatcg 2820

cccccgagaa cgcctacaag atcgtcaaga agggcgacag cacgatcatg aagtccgagc 2880

tggagtacgg caactgcaac accaagtgcc agaccccgat cggggccatc aacagctcca 2940

tgcccttcca caacatccac cccctcacca tcggcgagtg ccccaagtac gtgaagagca 3000

[0034]

accgcctggt gctggccacg gggctccgga actccccgca gggcgagcgc cggcgcaaga 3060

agcggggcct gttcggggcg atcgccggct tcatcgaggg cgggtggcag gggatggtcg 3120

acggctggta cggctaccac cacagcaacg agcaggggtc cggctacgcc gccgacaagg 3180

agagcaccca gaaggccatc gacggggtga ccaacaaggt gaactccatc atcgacaaga 3240

tgaacaccca gttcgaggcg gtcggccgcg agttcaacaa cctggagcgg cgcatcgaga 3300

acctcaacaa gaagatggag gacgggttcc tggacgtgtg gacgtacaac gccgagctgc 3360

tcgtgctgat ggagaacgag cggaccctgg acttccacga cagcaacgtc aagaacctct 3420

acgacaaggt gcgcctgcag ctgcgggaca acgccaagga gctcggcaac ggctgcttcg 3480

agttctacca ccgctgcgac aacgagtgca tggagtccgt ccggaacggg acctacgact 3540

acccccagta cagcgaggag gcccggctga agcgcgagga gatctccggc gtgaagctgg 3600

agagcatcgg gacctaccag atcctctcca tctacagcac ggtggcctcc agcctggcgc 3660

tggccatcat ggtcgccggc ctctccctgt ggatgtgcag caacgggagc ctgcagtgcc 3720

ggatctgcat ctgaccacta gttataagac tgactagccc gatgggcctc ccaacgggcc 3780

ctcctccect ccttgcaccg agattaataa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aatgcatccc cccccccccc cccccccccc 3900

ccccccccaa aggctctttt cagagccacc agaattcgga tactctagac atatgcttaa 3960

g 3961

<210> 21
<211> 3952
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 21
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

[0035]

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aaggtgaagc 2040

tgctcgtcct gctgtgcacc ttcaccgcca cgtacgccga caccatctgc atcggctacc 2100

[0036]

acgcgaacaa cagcaccgac accgtggaca cggtgctcga gaagaacgtc accgtgaccc 2160

actccgtgaa cctgctggag aacagccaca acgggaagct ctgcctgctg aagggcatcg 2220

ccccctcca gctggggaac tgctccgtcg ccggctggat cctggggaac ccggagtgcg 2280

agctcctgat cagcaaggag tcctggagct acatcgtgga gaagcccaac cccgagaacg 2340

gcacctgcta ccccggccac ttcgccgact acgaggagct gcgggagcag ctctccagcg 2400

tgtccagctt cgagcgcttc gagatcttcc cgaaggagtc cagctggccc aaccacacgg 2460

tcaccggggt gtccgccagc tgctcccaca acggcgagag ctccttctac cggaacctgc 2520

tgtggctcac cgggaagaac ggcctgtacc ccaacctgag caagtcctac gcgaacaaca 2580

aggagaagga ggtgctcgtc ctgtggggcg tgcaccaccc gccgaacatc gggaaccaga 2640

aggccctgta ccacaccgag aacgcctacg tgagcgtcgt gagctcccac tacagccgca 2700

agttcacgcc cgagatcgcc aagcggccca aggtgcgcga ccaggagggc cggatcaact 2760

actactggac cctcctggag cccggggaca ccatcatctt cgaggcgaac ggcaacctga 2820

tcgccccgcg ctacgccttc gccctctccc gggggttcgg cagcggcatc atcaactcca 2880

acgccccgat ggacaagtgc gacgcgaagt gccagacccc ccaggggcc atcaacagct 2940

ccctgccctt ccagaacgtc cacccggtga cgatcggcga gtgccccaag tacgtgcgca 3000

gcgccaagct gcggatggtc accgggctcc gcaacatccc ctccatccag agccggggcc 3060

tgttcggggc catcgccggc ttcatcgagg gcgggtggac cggcatggtg gacgggtggt 3120

acggctacca ccaccagaac gagcaggggt ccggctacgc ggccgaccag aagagcaccc 3180

agaacgccat caacggcatc acgaacaagg tgaactccgt catcgagaag atgaacaccc 3240

agttcaccgc cgtggggaag gagttcaaca agctggagcg ccggatggag aacctcaaca 3300

agaaggtcga cgacggcttc atcgacatct ggacctacaa cgccgagctg ctggtgctcc 3360

tggagaacga gcgcacgctg gacttccacg acagcaacgt gaagaacctc tacgagaagg 3420

tcaagtccca gctgaagaac aacgcgaagg agatcgggaa cggctgcttc gagttctacc 3480

acaagtgcaa cgacgagtgc atggagagcg tgaagaacgg gacctacgac taccccaagt 3540

actccgagga gagcaagctg aaccgggaga agatcgacgg cgtgaagctc gagtccatgg 3600

gcgtctacca gatcctggcc atctacagca ccgtggccag ctccctggtg ctcctggtca 3660

gcctgggggc catctccttc tggatgtgca gcaacggctc cctgcagtgc cgcatctgca 3720

tctgaggact agttataaga ctgactagcc cgatgggcct cccaacgggc cctcctcccc 3780

tccttgcacc gagattaata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

[0037]

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaatgcatcc cccccccccc cccccccccc ccccccccca 3900

aaggctcttt tcagagccac cagaattcgg atactctaga catatgctta ag 3952

<210> 22
<211> 3955
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 22
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

[0038]

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aagaccatca 2040

tcgccctgag ctacatcctc tgcctggtgt tcgcccagaa gctgcccggc aacgacaact 2100

ccaccgcgac gctctgcctg gggcaccacg ccgtcccgaa cggcaccatc gtgaagacca 2160

tcaccaacga ccagatcgag gtgacgaacg ccaccgagct ggtccagagc tccagcaccg 2220

gggagatctg cgactccccc caccagatcc tcgacggcga gaactgcacc ctgatcgacg 2280

ccctgctcgg ggacccccag tgcgacggct tccagaacaa gaagtgggac ctgttcgtgg 2340

agcggagcaa ggcctactcc aactgctacc cctacgacgt gccggactac gcgagcctgc 2400

gctccctcgt cgccagctcc ggcacgctgg agttcaacaa cgagagcttc aactggaccg 2460

gggtgaccca gaacggcacc tccagctcct gcatccgggg gagcaacaac tccttcttca 2520

gccgcctgaa ctggctcacg cacctgaagt tcaagtaccc cgccctgaac gtgaccatgc 2580

ccaacaacga gaagttcgac aagctctaca tctggggcgt ccaccacccc gggaccgaca 2640

acgaccagat cttcccgtac gcccaggcgt ccggccggat caccgtgagc acgaagcgca 2700

gccagcagac cgtgatcccc aacatcggct cccggccccg cgtccggaac atccccagcc 2760

gcatctccat ctactggacc atcgtgaagc cgggggacat cctgctgatc aacagcaccg 2820

gcaacctcat cgccccgcgg gggtacttca agatccgctc cggcaagagc tccatcatgc 2880

ggagcgacgc ccccatcggc aagtgcaact ccgagtgcat cacgcccaac gggagcatcc 2940

cgaacgacaa gcccttccag aacgtgaacc gcatcaccta cggcgcctgc ccccggtacg 3000

[0039]

tcaagcagaa caccctgaag ctggccaccg ggatgcgcaa cgtgcccgag aagcagacgc 3060

ggggcatctt cggggcgatc gccggcttca tcgagaacgg ctgggagggg atggtggacg 3120

gctggtacgg gttccgccac cagaactccg agggcatcgg gcaggccgcc gacctcaaga 3180

gcacccaggc cgcgatcgac cagatcaacg gcaagctgaa ccggctgatc ggcaagacca 3240

acgagaagtt ccaccagatc gagaaggagt tctccgaggt cgaggggcgc atccaggacc 3300

tcgagaagta cgtggaggac accaagatcg acctgtggag ctacaacgcc gagctgctcg 3360

tggccctgga gaaccagcac acgatcgacc tgaccgactc cgagatgaac aagctcttcg 3420

agaagaccaa gaagcagctg cgggagaacg ccgaggacat gggcaacggg tgcttcaaga 3480

tctaccacaa gtgcgacaac gcctgcatcg gcagcatccg caacgggacc tacgaccacg 3540

acgtctaccg ggacgaggcg ctgaacaacc ggttccagat caagggcgtg gagctcaagt 3600

ccggctacaa ggactggatc ctgtggatca gcttcgccat ctcctgcttc ctgctctgcg 3660

tggccctgct ggggttcatc atgtgggcct gccagaaggg caacatccgc tgcaacatct 3720

gcatctgagg actagttata agactgacta gcccgatggg cctcccaacg ggccctcctc 3780

ccctccttgc accgagatta ataaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatgca tccccccccc cccccccccc cccccccccc 3900

ccaaaggctc ttttcagagc caccagaatt cggatactct agacatatgc ttaag 3955

<210> 23
<211> 3955
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 23
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

[0040]

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aagaccatca 2040

tcgccctgag ctacatcttc tgcctcgccc tgggccagga cctgcccggg aacgacaact 2100

ccaccgcgac gctctgcctg ggccaccacg ccgtgccgaa cgggaccctg gtcaagacca 2160

[0041]

tcaccgacga ccagatcgag gtgacgaacg ccaccgagct cgtgcagagc tccagcaccg 2220

gcaagatctg caacaacccc caccggatcc tggacgggat cgactgcacc ctgatcgacg 2280

ccctcctggg cgacccccac tgcgacgtct tccagaacga gacgtgggac ctgttcgtgg 2340

agcgctccaa ggccttcagc aactgctacc cctacgacgt gccggactac gcgtccctcc 2400

ggagcctggt cgcctccagc ggcaccctgg agttcatcac cgaggggttc acctggacgg 2460

gcgtgaccca gaacgggggc tccaacgcct gcaagcgcgg gcccggcagc ggcttcttct 2520

cccggctcaa ctggctgacc aagagcgggt ccacctaccc cgtgctgaac gtcacgatgc 2580

ccaacaacga caacttcgac aagctctaca tctggggcgt gcaccacccg agcaccaacc 2640

aggagcagac ctccctgtac gtgcaggcca gcgggcgcgt caccgtgtcc acgcggcgca 2700

gccagcagac catcatcccc aacatcgaga gccggccctg ggtgcgcggc cagtccagcc 2760

ggatctccat ctactggacc atcgtcaagc ccggcgacgt gctggtgatc aacagcaacg 2820

ggaacctcat cgcgccgcgc ggctacttca agatgcggac cgggaagtcc agcatcatgc 2880

gctccgacgc ccccatcgac acgtgcatca gcgagtgcat caccccccaac ggctccatcc 2940

ccaacgacaa gccgttccag aacgtcaaca agatcaccta cggggcctgc cccaagtacg 3000

tgaagcagaa caccctgaag ctggccacgg gcatgcggaa cgtgcccgag aagcagaccc 3060

gcggcctctt cggggccatc gcgggcttca tcgagaacgg gtgggagggc atgatcgacg 3120

ggtggtacgg cttccggcac cagaacagcg agggcaccgg gcaggccgcc gacctgaagt 3180

ccacccaggc cgccatcgac cagatcaacg gcaaggtcaa ccgcatcatc gagaagacga 3240

acgagaagtt ccaccagatc gagaaggagt tcagcgaggt ggaggggcgg atccaggacc 3300

tggagaagta cgtggaggac accaagatcg acctctggtc ctacaacgcg gagctgctgg 3360

tcgccctcga gaaccagcac accatcgacc tgaccgacag cgagatgaac aagctgttcg 3420

agaagacgcg ccggcagctc cgcgagaacg ccgaggacat gggcaacggg tgcttcaaga 3480

tctaccacaa gtgcgacaac gcctgcatcg agtccatccg gagcggcacc tacgaccacg 3540

acgtgtaccg ggacgaggcc ctgaacaacc gcttccagat caagggcgtc gagctgaagt 3600

ccgggtacaa ggactggatc ctctggatca gcttcgcgat ctcctgcttc ctgctgtgcg 3660

tggtgctcct gggcttcatc atgtgggcct gccagcgggg gaacatccgc tgcaacatct 3720

gcatctgagg actagttata gactgacta gcccgatggg cctcccaacg ggccctcctc 3780

ccctccttgc accgagatta ataaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

[0042]

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatgca tccccccccc ccccccccccc ccccccccccc 3900

ccaaaggctc ttttcagagc caccagaatt cggatactct agacatatgc ttaag 3955

<210> 24
<211> 3943
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 24
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

[0043]

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg gccatcatct 2040

acctgatcct cctgttcacc gccgtgcggg gcgaccagat ctgcatcggg taccacgcga 2100

acaacagcac cgagaaggtc gacacgatcc tggagcgcaa cgtgaccgtg acccacgcca 2160

aggacatcct cgagaagacc cacaacggca agctgtgcaa gctgaacggg atcccgccgc 2220

tcgagctggg cgactgctcc atcgccgggt ggctgctcgg caaccccgag tgcgaccggc 2280

tgctgagcgt ccccgagtgg tcctacatca tggagaagga gaaccccccgc gacggcctct 2340

gctacccggg gagcttcaac gactacgagg agctgaagca cctgctctcc agcgtgaagc 2400

acttcgagaa ggtgaagatc ctgcccaagg accggtggac gcagcacacc accaccggcg 2460

ggtcccgcgc ctgcgccgtc agcggcaacc cctccttctt ccggaacatg gtgtggctga 2520

cggagaaggg gagcaactac cccgtggcga agggctccta caacaacacc agcggcgagc 2580

agatgctcat catctggggc gtccaccacc cgaacgacga gaccgagcag cgcaccctgt 2640

accagaacgt ggggacgtac gtgtccgtcg ggaccagcac cctgaacaag cggtccaccc 2700

ccgagatcgc cacgcgcccc aaggtgaacg gccagggcgg gcggatggag ttcagctgga 2760

ccctcctgga catgtgggac accatcaact tcgagtccac cggcaacctg atcgcccccg 2820

agtacgggtt caagatcagc aagcgcggct ccagcgggat catgaagacg gagggcaccc 2880

tcgagaactg cgagaccaag tgccagaccc cgctgggcgc catcaacacg accctgccct 2940

tccacaacgt gcacccccctc accatcgggg agtgccccaa gtacgtcaag agcgagaagc 3000

[0044]

tggtgctggc gaccggcctc cggaacgtgc cgcagatcga gtcccgcggg ctgttcggcg 3060

ccatcgccgg gttcatcgag ggcggctggc aggggatggt cgacggctgg tacgggtacc 3120

accacagcaa cgaccagggc tccgggtacg ccgccgacaa ggagagcacg cagaaggcgt 3180

tcgacggcat caccaacaag gtgaactccg tgatcgagaa gatgaacacc cagttcgagg 3240

ccgtcggcaa ggagttcagc aacctggagc ggcgcctcga gaacctgaac aagaagatgg 3300

aggacgggtt cctggacgtg tggacctaca acgccgagct cctggtgctg atggagaacg 3360

agcggacgct cgacttccac gactccaacg tcaagaacct gtacgacaag gtgcgcatgc 3420

agctgcggga caacgtcaag gagctcggca acgggtgctt cgagttctac cacaagtgcg 3480

acgacgagtg catgaacagc gtgaagaacg gcacctacga ctaccccaag tacgaggagg 3540

agtccaagct gaaccgcaac gagatcaagg gcgtgaagct gagctccatg ggggtctacc 3600

agatcctcgc catctacgcc accgtggcgg gcagcctgtc cctggccatc atgatggccg 3660

ggatcagctt ctggatgtgc tccaacggca gcctgcagtg ccggatctgc atctgaggac 3720

tagttataag actgactagc ccgatgggcc tcccaacggg ccctcctccc ctccttgcac 3780

cgagattaat aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaatgcatc cccccccccc cccccccccc cccccccccc aaaggctctt 3900

ttcagagcca ccagaattcg gatactctag acatatgctt aag 3943

<210> 25
<211> 3946
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 25
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

[0045]

aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aacacccaga 2040

tcctggtgtt cgccctcgtc gccgtgatcc acaccaacgc ggacaagatc tgcctgggcc 2100

accacgccgt gagcaacggg acgaaggtca acaccctgac cgagcggggc gtggaggtgg 2160

[0046]

tcaacgccac cgagacggtg gagcgcacca acatccccaa gatctgctcc aaggggaagc 2220

ggaccgtgga cctcggccag tgcgggctgc tgggcaccat cacgggccag ccgcagtgcg 2280

accagttcct cgagttcagc gccgacctga tcatcgagcg ccgggacggg aacgacgtct 2340

gctaccccgg caagttcgtg aacggggagg ccctgcgcca gatcctccgg aagtccggcg 2400

ggatcaacaa ggagaccatg ggcttcacct acagcggcat ccgcaccaac gggacgacct 2460

ccgcgtgccg gcgcagcggc tccagcttct acgccgagat gaagtggctg ctgtccgaca 2520

ccgacaacgc cgccttcccc cagatgacca agagctacaa gaacacgcgg cgcgagcccg 2580

cgctcatcgt gtgggggatc caccactccg gcagcaccac cgagcagacc aagctgtacg 2640

gctccgggaa caagctggtc acggtgggca gctccaagta ccagcagagc ttcgtgccgt 2700

cccccgagac ccggccccag gtcaacgggc agagcggccg catcgacttc cactggctca 2760

tcctggactc caacgacacc gtgaccttca gcttcaacgg ggccttcatc gcccccgacc 2820

gggccagctt cctgaagggc aagtccatgg gcatccagag cgacgtgcag gtcgacgcca 2880

actgcgaggg ggagtgctac cactccggcg ggacgatcac cagctccctc ccgttccaga 2940

acatcaacag ccgcgcggtg ggcaagtgcc cccggtacgt gaagcaggag tccctgctgc 3000

tcgccaccgg gatgaagaac gtccccgagc tgagcaagaa gcgccggaag cgcggcctgt 3060

tcggcgccat cgccgggttc atcgagaacg gctgggaggg gctcgtggac ggctggtacg 3120

ggttccggca ccagaacgcc cagggcgagg gcaccgcggc cgactacaag tccacgcaga 3180

gcgccatcga ccagatcacc gggaagctga accgcctgat cgagaagacc aaccagcagt 3240

tcgagctcat cgacaacgag ttcaccgagg tggagaagca gatcggcaac gtcatcaact 3300

ggacgcggga ctccatcacc gaggtgtgga gctacaacgc cgagctgctg gtcgccatgg 3360

agaaccagca caccatcgac ctcgcggact ccgagatgaa caagctgtac gagcgggtgc 3420

gcaagcagct gcgggagaac gccgaggagg acgggaccgg ctgcttcgag atcttccaca 3480

agtgcgacga cgactgcatg gccagcatcc gcaacaacac gtacgaccac tccaagtacc 3540

gggaggaggc catgcagaac cgcatccaga tcgaccccgt gaagctcagc ggcgggtaca 3600

aggacgtcat cctgtggttc tccttcggcg ccagctgctt cctgctcctg gcgatcgcca 3660

tggggctggt gttcatctgc gtgaagaacg gcaacatgcg gtgcaccatc tgcatctgac 3720

cactagttat aagactgact agcccgatgg gcctcccaac gggccctcct cccctccttg 3780

caccgagatt aataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaatgc atcccccccc cccccccccc cccccccccc cccaaaggct 3900

[0047]

cttttcagag ccaccagaat tcggatactc tagacatatg cttaag 3946

<210> 26
<211> 3955
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 26
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

[0048]

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aaggccatcc 2040

tggtggtcct cctgtacacc ttcgccaccg cgaacgccga cacgctgtgc atcggctacc 2100

acgccaacaa cagcaccgac accgtggaca ccgtgctcga gaagaacgtc acggtgaccc 2160

actccgtgaa cctgctggag gacaagcaca acgggaagct ctgcaagctg cggggcgtcg 2220

ccccgctgca cctcgggaag tgcaacatcg ccggctggat cctggggaac ccggagtgcg 2280

agagcctgtc caccgcgagc tcctggagct acatcgtgga gacctcctcc agcgacaacg 2340

gcacgtgcta ccccggcgac ttcatcgact acgaggagct ccgcgagcag ctgtccagcg 2400

tgtccagctt cgagcggttc gagatcttcc ccaagacctc cagctggccg aaccacgact 2460

ccaacaaggg ggtcaccgcc gcctgccccc acgccggcgc gaagagcttc tacaagaacc 2520

tgatctggct cgtgaagaag gggaactcct accccaagct gagcaagtcc tacatcaacg 2580

acaagggcaa ggaggtgctg gtcctctggg ggatccacca ccccagcacc agcgccgacc 2640

agcagtccct gtaccagaac gccgacgcct acgtgttcgt gggcagctcc cgctacagca 2700

agaagttcaa gccggagatc gccatccggc ccaaggtccg cgaccaggag ggccgcatga 2760

actactactg gaccctggtg gagcccgggg acaagatcac cttcgaggcg accggcaacc 2820

tcgtggtccc ccggtacgcc ttcgccatgg agcgcaacgc cgggtccggc atcatcatca 2880

gcgacacgcc ggtgcacgac tgcaacacca cctgccagac ccccaagggc gccatcaaca 2940

cgtccctgcc cttccagaac atccacccca tcaccatcgg gaagtgcccg aagtacgtga 3000

agagcaccaa gctgcggctc gcgaccggcc tgcgcaacgt cccctccatc cagagccggg 3060

[0049]

ggctgttcgg cgccatcgcc gggttcatcg agggcggctg gacggggatg gtcgacggct 3120

ggtacgggta ccaccaccag aacgagcagg gcagcgggta cgccgccgac ctcaagtcca 3180

cgcagaacgc gatcgacgag atcaccaaca aggtgaacag cgtcatcgag aagatgaaca 3240

cccagttcac cgccgtgggc aaggagttca accacctgga gaagcggatc gagaacctga 3300

acaagaaggt cgacgacggc ttcctcgaca tctggacgta caacgccgag ctgctggtgc 3360

tcctggagaa cgagcgcacc ctggactacc acgactccaa cgtgaagaac ctctacgaga 3420

aggtccggag ccagctgaag aacaacgcca aggagatcgg gaacggctgc ttcgagttct 3480

accacaagtg cgacaacacc tgcatggagt ccgtgaagaa cgggacctac gactacccca 3540

agtacagcga ggaggccaag ctgaaccgcg aggagatcga cggcgtgaag ctcgagtcca 3600

cgcggatcta ccagatcctg gcgatctaca gcaccgtcgc cagctccctg gtgctcgtgg 3660

tcagcctggg ggccatctcc ttctggatgt gcagcaacgg ctccctgcag tgccgcatct 3720

gcatctgacc actagttata gactgacta gcccgatggg cctcccaacg ggccctcctc 3780

ccctccttgc accgagatta ataaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatgca tccccccccc ccccccccccc ccccccccccc 3900

ccaaaggctc ttttcagagc caccagaatt cggatactct agacatatgc ttaag 3955

<210> 27
<211> 4012
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 27
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

[0050]

aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aaggccatca 2040

tcgtgctgct catggtcgtg accagcaacg ccgaccggat ctgcaccggc atcacgtcca 2100

gcaactcccc gcacgtggtc aagaccgcga cccaggggga ggtgaacgtg accggcgtca 2160

tcccgctgac gaccaccccc accaagagcc acttcgccaa cctgaagggg acggagaccc 2220

[0051]

gcggcaagct ctgccccaag tgcctgaact gcaccgacct ggacgtggcc ctcgggcggc 2280

ccaagtgcac cggcaagatc ccgtccgccc gcgtgagcat cctgcacgag gtccggcccg 2340

tgacgtccgg ctgcttcccc atcatgcacg accgcaccaa gatccggcag ctgcccaacc 2400

tcctgcgcgg gtacgagcac atccggctga gcacccacaa cgtgatcaac gccgagaacg 2460

cgccgggcgg gccctacaag atcggcacct ccgggagctg ccccaacatc acgaacggca 2520

acggcttctt cgccaccatg gcctgggccg tccccaagaa cgacaagaac aagaccgcga 2580

ccaacccgct cacgatcgag gtgccctaca tctgcaccga gggggaggac cagatcaccg 2640

tgtggggctt ccactccgac aacgagaccc agatggccaa gctgtacggg gacagcaagc 2700

cccagaagtt cacgtccagc gccaacggcg tcaccaccca ctacgtgtcc cagatcggcg 2760

ggttccccaa ccagaccgag gacggcgggc tgccgcagag cggccgcatc gtggtcgact 2820

acatggtgca gaagtccggg aagacgggca ccatcaccta ccagcggggc atcctcctgc 2880

cccagaaggt gtggtgcgcc agcgggcgct ccaaggtcat caagggcagc ctgcccctca 2940

tcggggaggc cgactgcctg cacgagaagt acggcgggct gaacaagagc aagccctact 3000

acaccggcga gcacgcgaag gccatcggca actgcccgat ctgggtgaag acgcccctca 3060

agctggccaa cgggaccaag taccggcccc ccgccaagct gctcaaggag cgcggcttct 3120

tcggggccat cgcgggcttc ctggagggcg ggtgggaggg catgatcgcc gggtggcacg 3180

gctacacctc ccacggggcc cacggcgtgg ccgtcgccgc ggacctgaag agcacccagg 3240

aggccatcaa caagatcacg aagaacctca actccctgag cgagctggag gtgaagaacc 3300

tccagcggct gtccggcgcc atggacgagc tgcacaacga gatcctcgag ctggacgaga 3360

aggtcgacga cctgcgcgcc gacaccatca gctcccagat cgagctcgcc gtgctgctga 3420

gcaacgaggg gatcatcaac tccgaggacg agcacctcct ggcgctggag cggaagctca 3480

agaagatgct gggcccgagc gccgtggaga tcgggaacgg ctgcttcgag accaagcaca 3540

agtgcaacca gacctgcctg gaccgcatcg ccgccgggac cttcgacgcg ggcgagttct 3600

ccctccccac gttcgacagc ctgaacatca ccgccgcctc cctgaacgac gacggcctgg 3660

acaaccacac catcctcctg tactacagca ccgccgcctc cagcctggcg gtcacgctca 3720

tgatcgccat cttcgtggtg tacatggtct cccgggacaa cgtgagctgc tccatctgcc 3780

tgtgaggact agttataaga ctgactagcc cgatgggcct cccaacgggc cctcctcccc 3840

tccttgcacc gagattaata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3900

[0052]

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaatgcatcc cccccccccc cccccccccc cccccccccca 3960

aaggctcttt tcagagccac cagaattcgg atactctaga catatgctta ag 4012

<210> 28
<211> 3955
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> GC优化的HA构建体

<400> 28
cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct 60

tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca 120

gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac 180

atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt 240

ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg 300

cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc 360

tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc 420

gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc 480

aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac 540

tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt 600

aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct 660

aactacggct acactagaag aacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc 720

ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt 780

ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg 840

atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc 900

atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa 960

tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag 1020

gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg 1080

tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga 1140

gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag 1200

cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa 1260

gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc 1320

[0053]

atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca 1380

aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg 1440

atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat 1500

aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc 1560

aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg 1620

gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg 1680

gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt 1740

gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca 1800

ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata 1860

ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac 1920

atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa 1980

gtgccacctg acgtctaata cgactcacta tagggagaaa gcttaccatg aaggccatcc 2040

tggtggtcct cctgtacacc ttcgccaccg cgaacgccga cacgctgtgc atcggctacc 2100

acgccaacaa cagcaccgac accgtggaca ccgtgctcga gaagaacgtc acggtgaccc 2160

actccgtgaa cctgctggag gacaagcaca acgggaagct ctgcaagctg cggggcgtcg 2220

ccccgctgca cctcgggaag tgcaacatcg ccggctggat cctggggaac ccggagtgcg 2280

agagcctgtc caccgcgagc tcctggagct acatcgtgga gacccccagc tccgacaacg 2340

gcacgtgcta ccccggcgac ttcatcgact acgaggagct ccgcgagcag ctgagctccg 2400

tgagctcctt cgagcggttc gagatcttcc ccaagaccag ctcctggccc aaccacgaca 2460

gcgacaaggg ggtcaccgcc gcctgcccgc acgccggcgc gaagtccttc tacaagaacc 2520

tgatctggct cgtgaagaag gggaacagct accccaagct gtccaagagc tacatcaacg 2580

acaagggcaa ggaggtgctg gtcctctggg ggatccacca ccccagcacc tccgccgacc 2640

agcagagcct gtaccagaac gccgacgcct acgtgttcgt gggctccagc cgctactcca 2700

agacgttcaa gcccgagatc gccatccggc cgaaggtccg cgaccgggag ggccggatga 2760

actactactg gacgctggtg gagcccgggg acaagatcac cttcgaggcg accggcaacc 2820

tcgtggtccc ccgctacgcc ttcgccatgg agcggaacgc cgggagcggc atcatcatct 2880

ccgacacccc cgtgcacgac tgcaacacga cctgccagac cccgaagggc gccatcaaca 2940

ccagcctgcc cttccagaac atccacccca tcacgatcgg gaagtgcccc aagtacgtga 3000

[0054]

agtccaccaa gctgcgcctc gcgaccggcc tgcggaacat cccgagcatc cagtcccgcg 3060

ggctgttcgg cgccatcgcc gggttcatcg agggcggctg gaccgggatg gtggacggct 3120

ggtacgggta ccaccaccag aacgagcagg gcagcgggta cgccgccgac ctcaagtcca 3180

cgcagaacgc gatcgacgag atcaccaaca aggtgaacag cgtcatcgag aagatgaaca 3240

cccagttcac cgccgtgggc aaggagttca accacctgga gaagcggatc gagaacctga 3300

acaagaaggt cgacgacggc ttcctcgaca tctggacgta caacgccgag ctgctggtgc 3360

tcctggagaa cgagcgcacc ctggactacc acgactccaa cgtgaagaac ctctacgaga 3420

aggtccggag ccagctgaag aacaacgcca aggagatcgg gaacggctgc ttcgagttct 3480

accacaagtg cgacaacacc tgcatggagt ccgtgaagaa cgggacctac gactacccca 3540

agtacagcga ggaggccaag ctgaaccgcg aggagatcga cggcgtgaag ctcgagtcca 3600

cgcggatcta ccagatcctg gcgatctaca gcaccgtcgc cagctccctg gtgctcgtgg 3660

tcagcctggg ggccatctcc ttctggatgt gcagcaacgg ctccctgcag tgccgcatct 3720

gcatctgacc actagttata agactgacta gcccgatggg cctcccaacg ggccctcctc 3780

ccctccttgc accgagatta ataaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3840

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaatgca tccccccccc cccccccccc cccccccccc 3900

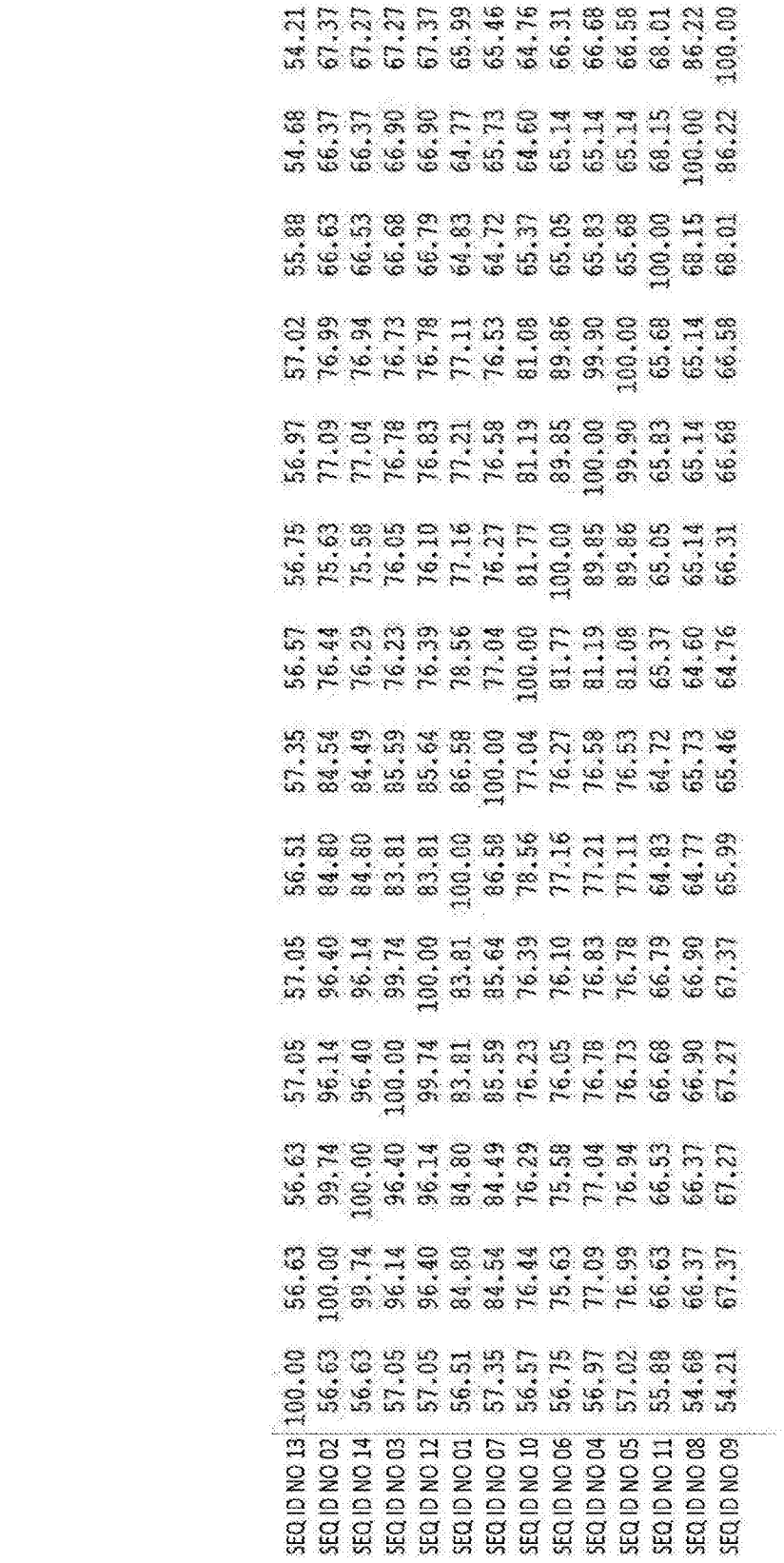
ccaaaggctc ttttcagagc caccagaatt cggatactct agacatatgc ttaag 3955

A

SEQ ID NO 27	100.00	82.31	82.36	82.00	81.95	81.81	82.01	81.37	81.97	82.13	82.09	81.41	80.78	80.76										
SEQ ID NO 17	82.31	100.00	99.87	98.13	98.26	92.16	93.02	88.51	88.43	88.73	88.71	84.41	84.49	84.59										
SEQ ID NO 26	82.36	99.87	100.00	98.26	98.13	92.16	93.04	88.59	88.45	88.76	88.73	84.46	84.49	84.64										
SEQ ID NO 16	82.00	98.13	98.26	100.00	99.87	92.64	92.51	88.61	88.20	88.86	88.81	84.31	84.23	84.62										
SEQ ID NO 28	81.95	98.26	98.13	99.87	100.00	92.64	92.48	88.54	88.17	88.83	88.78	84.26	84.23	84.56										
SEQ ID NO 15	81.81	92.16	92.16	92.64	92.64	100.00	93.50	89.64	88.93	88.95	88.90	83.38	83.30	84.02										
SEQ ID NO 21	82.01	93.02	93.04	92.51	92.48	93.50	100.00	88.91	88.47	88.62	88.60	83.30	83.71	83.55										
SEQ ID NO 24	81.37	88.51	88.59	88.61	88.54	89.64	88.91	100.00	91.24	90.91	90.86	83.49	83.21	83.13										
SEQ ID NO 10	81.97	88.43	88.45	88.20	88.17	88.93	88.47	91.24	100.00	95.09	95.08	83.75	83.39	84.08										
SEQ ID NO 18	82.13	88.73	88.76	88.86	88.83	88.95	88.62	90.91	95.09	100.00	99.95	84.21	83.31	84.31										
SEQ ID NO 19	82.09	88.71	88.73	88.81	88.78	88.90	88.60	90.86	95.08	99.95	100.00	84.08	83.31	84.26										
SEQ ID NO 25	81.41	84.41	84.46	84.31	84.26	83.38	83.30	83.49	83.75	84.21	84.08	100.00	85.81	85.49										
SEQ ID NO 22	80.78	84.49	84.49	84.23	84.23	83.30	83.71	83.21	83.39	83.31	83.31	85.81	100.00	93.53										
SEQ ID NO 23	80.76	84.59	84.64	84.62	84.56	84.02	83.55	83.13	84.08	84.31	84.26	85.49	93.53	100.00										

图1

B



SEQ ID NO 13	100.00	56.63	56.63	57.05	57.05	56.51	57.35	56.57	56.75	57.02	56.97	55.88	54.68	54.21											
SEQ ID NO 02	56.63	100.00	99.74	96.14	96.40	84.80	84.54	76.44	75.63	76.99	77.09	66.63	66.37	67.37											
SEQ ID NO 14	56.63	99.74	100.00	96.40	96.14	84.80	84.49	76.29	75.58	76.94	77.04	66.53	66.37	67.27											
SEQ ID NO 03	57.05	96.14	96.40	100.00	99.74	83.81	85.59	76.23	76.05	76.73	76.78	66.68	66.90	67.27											
SEQ ID NO 12	57.05	96.40	96.14	99.74	100.00	83.81	85.64	76.39	76.10	76.78	76.83	66.79	66.90	67.37											
SEQ ID NO 01	56.51	84.80	84.80	83.81	83.81	100.00	86.58	78.56	77.16	77.11	77.21	64.83	64.77	65.99											
SEQ ID NO 07	57.35	84.54	84.49	85.59	85.64	86.58	100.00	77.04	76.27	76.53	76.58	64.72	65.73	65.46											
SEQ ID NO 10	56.57	76.44	76.29	76.23	76.39	78.56	77.04	100.00	81.77	81.08	81.19	65.37	64.60	64.76											
SEQ ID NO 06	56.75	75.63	75.58	76.05	76.10	77.16	76.27	81.77	100.00	89.86	89.85	65.05	65.14	66.31											
SEQ ID NO 04	56.97	77.09	77.04	76.78	76.83	77.21	76.58	81.19	89.85	99.90	100.00	65.83	65.14	66.68											
SEQ ID NO 05	57.02	76.99	76.94	76.73	76.78	77.11	76.53	81.08	89.86	100.00	99.90	65.68	65.14	66.58											
SEQ ID NO 11	55.88	66.63	66.53	66.68	66.79	64.83	64.72	65.37	65.05	65.68	65.83	100.00	68.15	68.01											
SEQ ID NO 08	54.68	66.37	66.37	66.90	66.90	64.77	65.73	64.60	65.14	65.14	65.14	68.15	100.00	86.22											
SEQ ID NO 09	54.21	67.37	67.27	67.27	67.37	65.99	65.46	64.76	66.31	66.58	66.68	68.01	86.22	100.00											

图1(续)

A

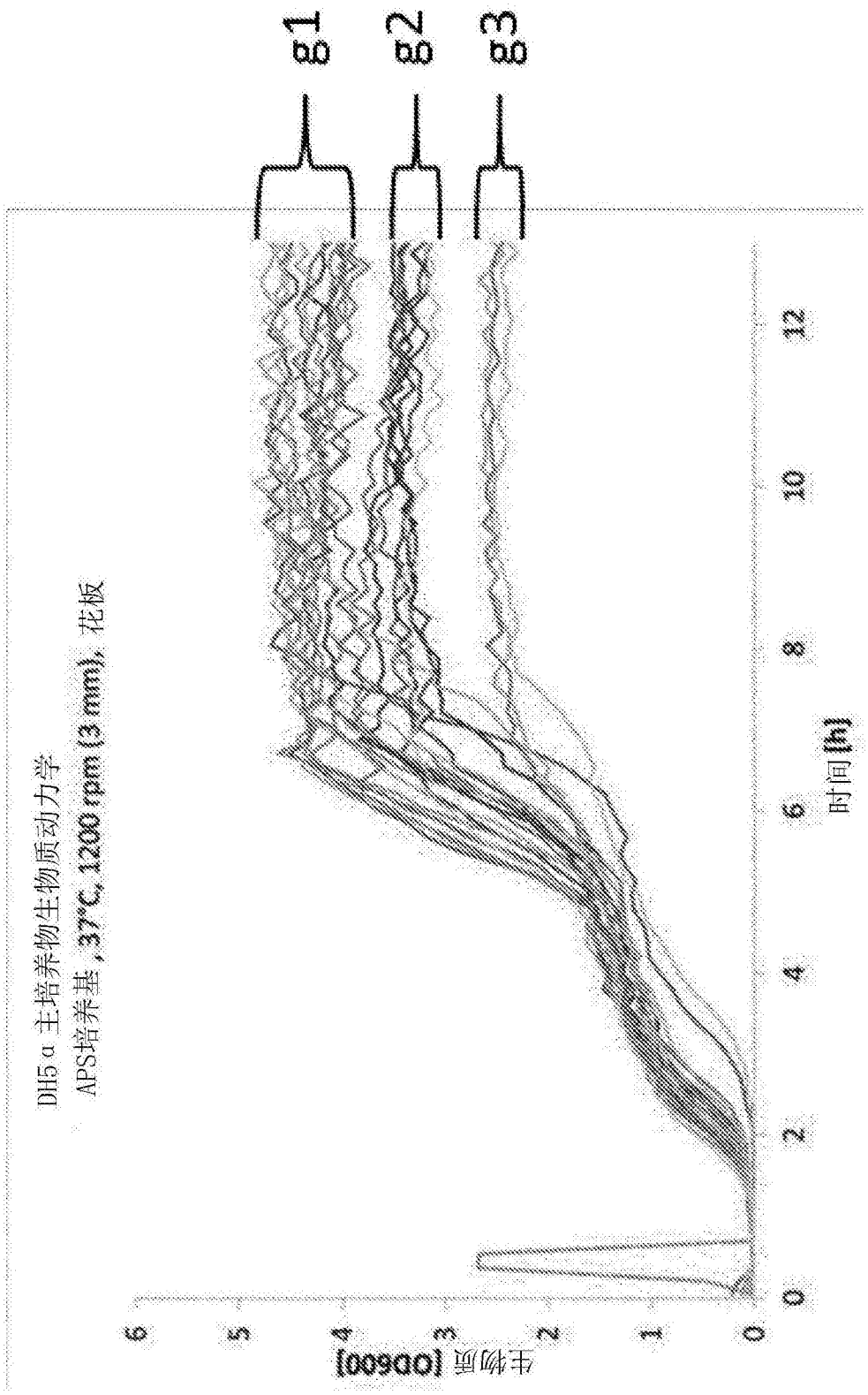

B1
B2
B3
DH5α主培养物生物质动力学
APS培养基, 37°C, 1200 rpm (3 mm), 花板
生物质 [OD600]
时间 [h]
0
1
2
3
4
5
6
0
2
4
6
8
10
12

图2

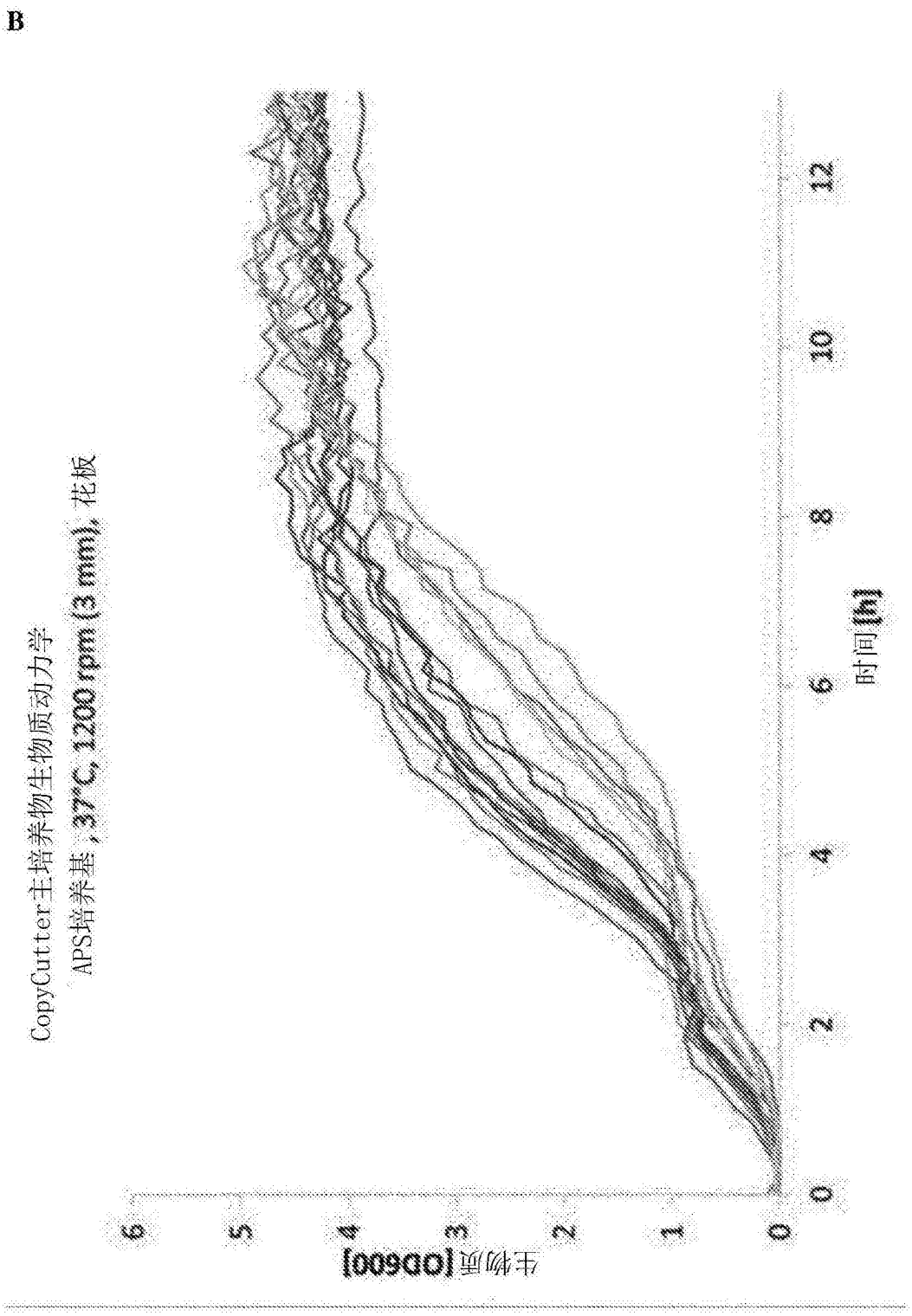

B
CopyCutter主培养物生物质动力学
APS培养基，37°C, 1200 rpm (3 mm)，花板
生物质 [OD600]
时间 [h]
0
1
2
3
4
5
6
0
2
4
6
8
10
12

图2(续)

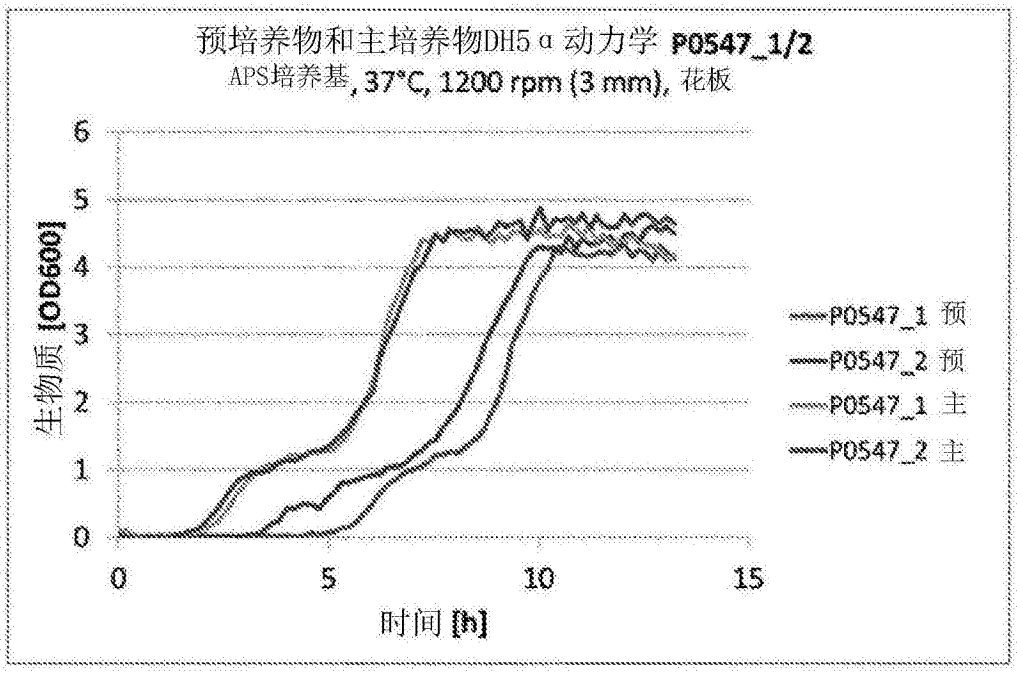

预培养物和主培养物DH5α动力学 P0547_1/2
APS培养基, 37°C, 1200 rpm (3 mm), 花板
生物质 [OD600]
时间 [h]
P0547_1 预
P0547_2 预
P0547_1 主
P0547_2 主

图3A

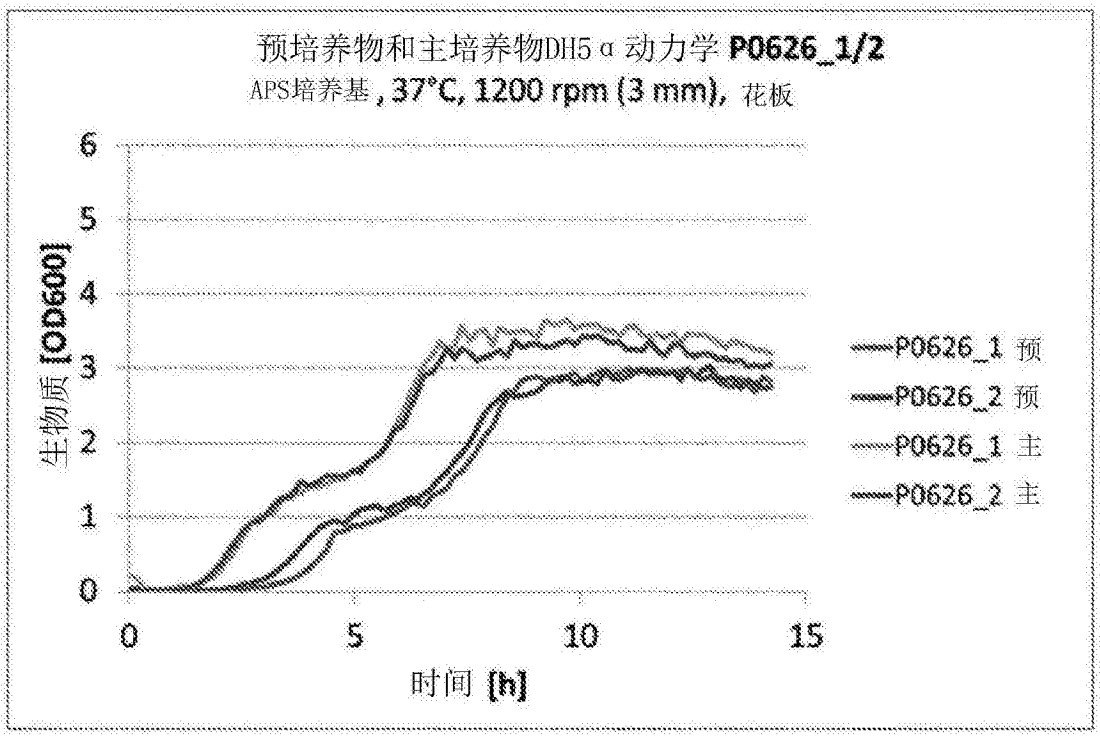

预培养物和主培养物DH5α动力学 P0626_1/2
APS培养基, 37°C, 1200 rpm (3 mm), 花板
生物质 [OD600]
时间 [h]
P0626_1 预
P0626_2 预
P0626_1 主
P0626_2 主

图3A(续)

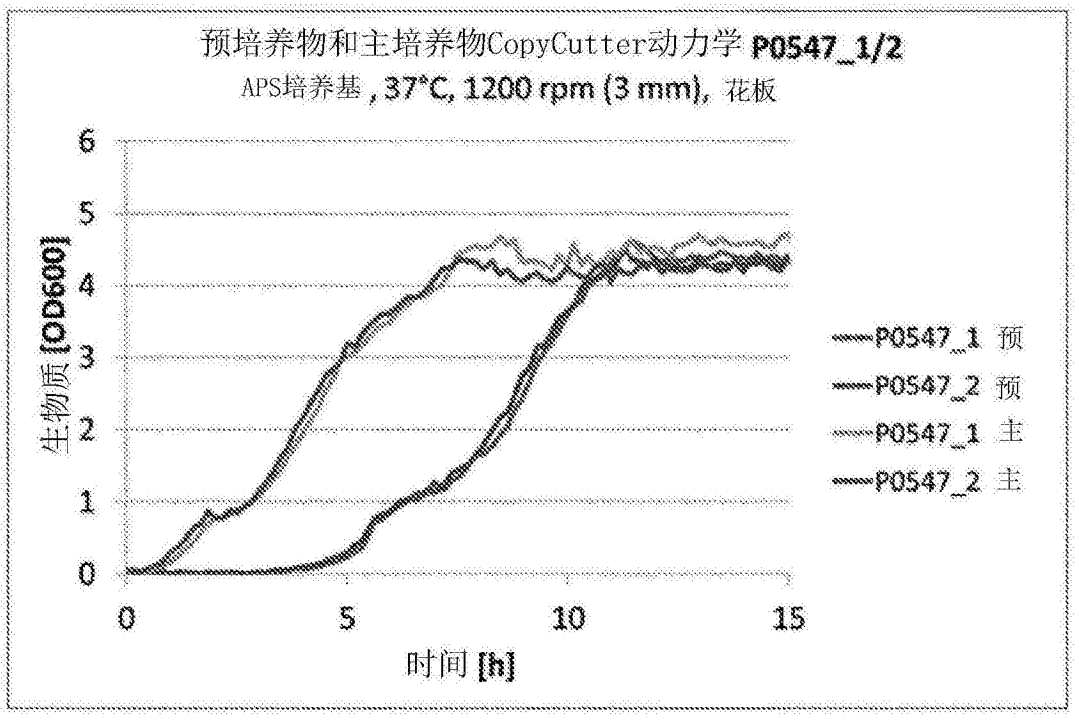

预培养物和主培养物CopyCutter动力学 P0547_1/2
APS培养基，37°C, 1200 rpm (3 mm), 花板
生物质 [OD600]
时间 [h]
0
1
2
3
4
5
6
0
5
10
15
P0547_1 预
P0547_2 预
P0547_1 主
P0547_2 主

图3B

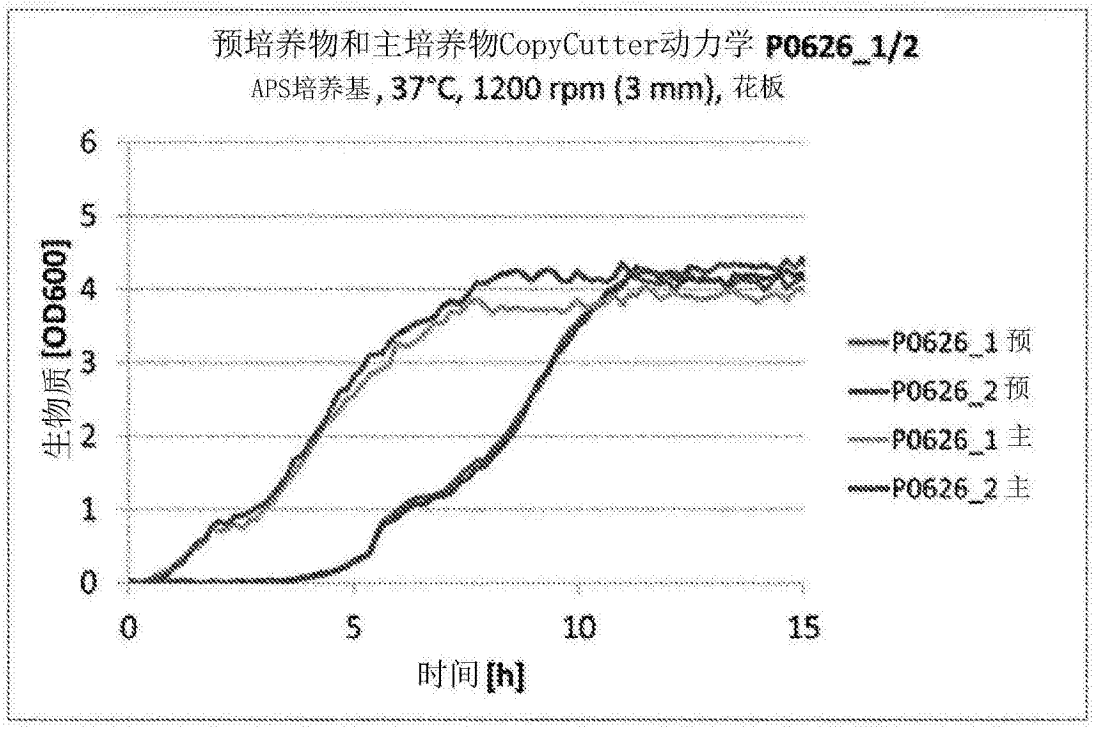
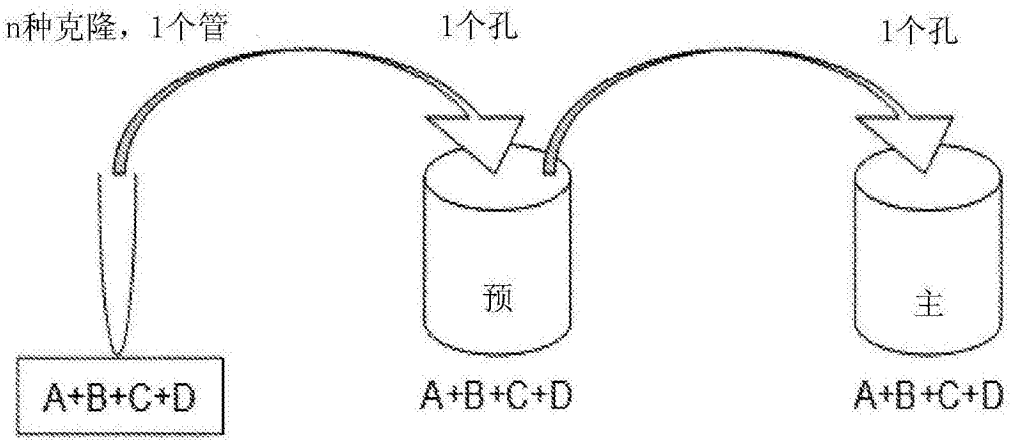

预培养物和主培养物CopyCutter动力学 P0626_1/2
APS培养基，37°C, 1200 rpm (3 mm), 花板
生物质 [OD600]
时间 [h]
0
1
2
3
4
5
6
0
5
10
15
P0626_1 预
P0626_2 预
P0626_1 主
P0626_2 主

图3B(续)

A

共储备


n种克隆，1个管
1个孔
1个孔
预
主
A+B+C+D
A+B+C+D
A+B+C+D

共接种

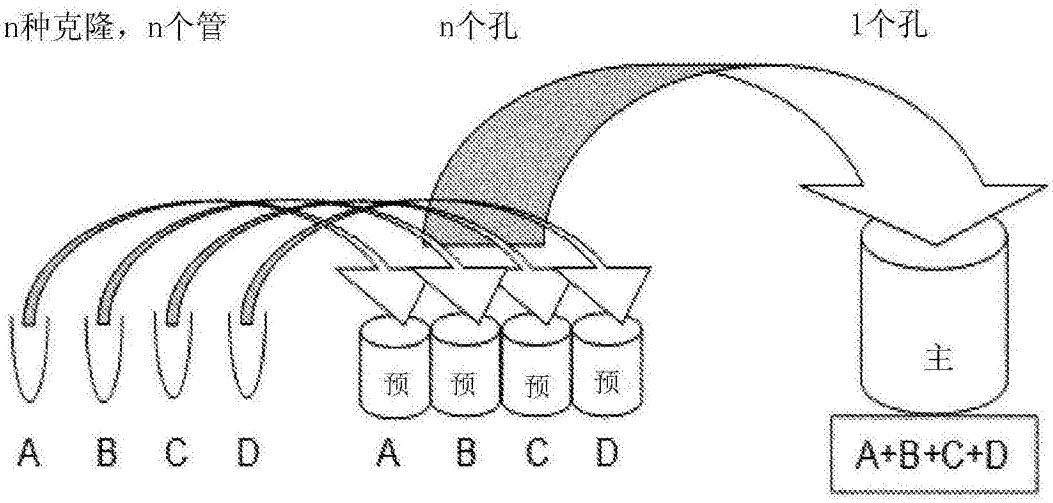

n种克隆，n个管
n个孔
1个孔
预
预
预
预
主
A
B
C
D
A
B
C
D
A+B+C+D

图4

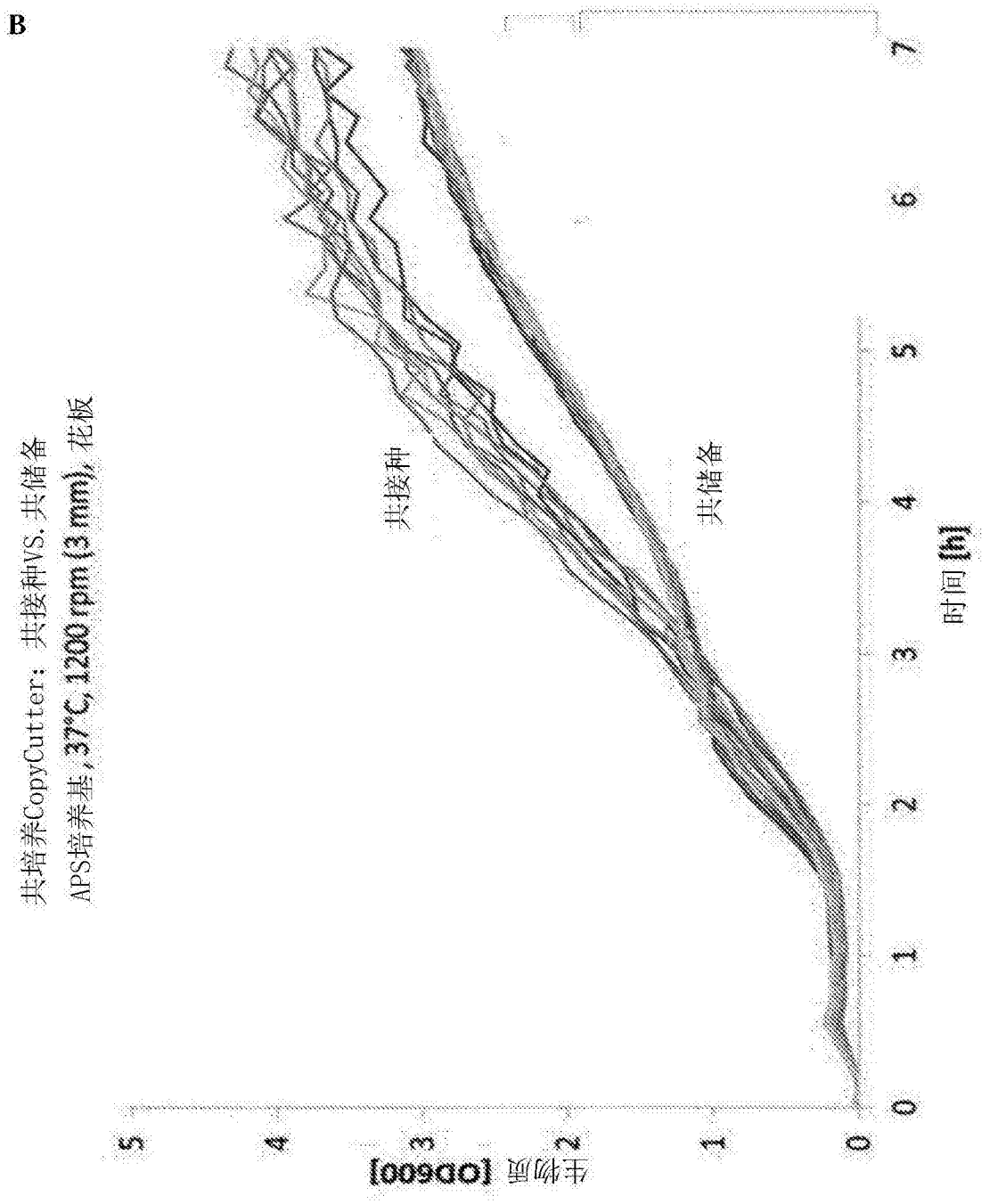

B
共培养CopyCutter: 共接种VS. 共储备
APS培养基, 37°C, 1200 rpm (3 mm), 花板
共接种
共储备
生物质 [OD600]
时间 [h]
0
1
2
3
4
5
6
7

图4(续)

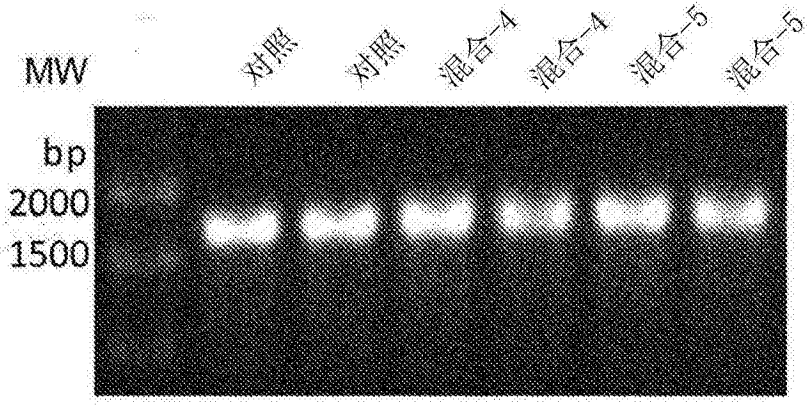

MW
对照
对照
混合-4
混合-4
混合-5
混合-5
bp
2000
1500

图5

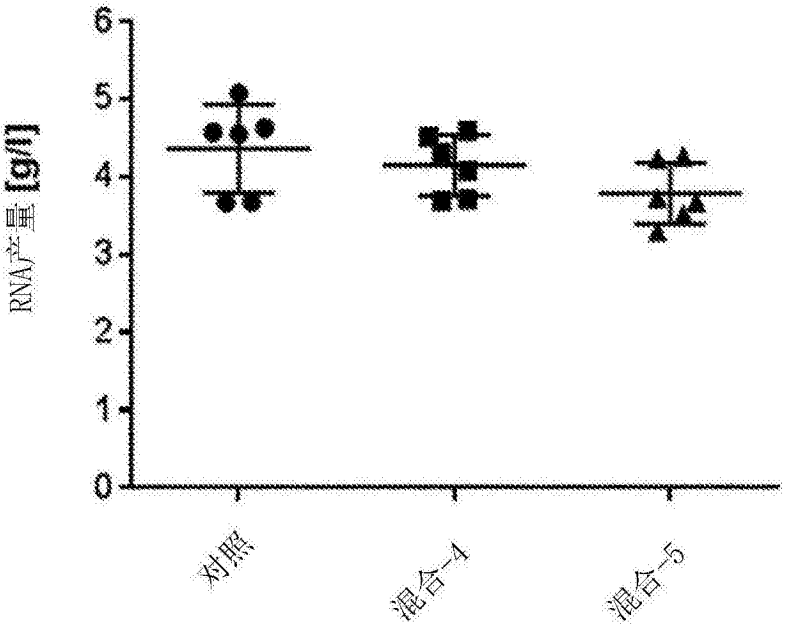

RNA产量 [g/l]
0
1
2
3
4
5
6
对照
混合-4
混合-5

图6

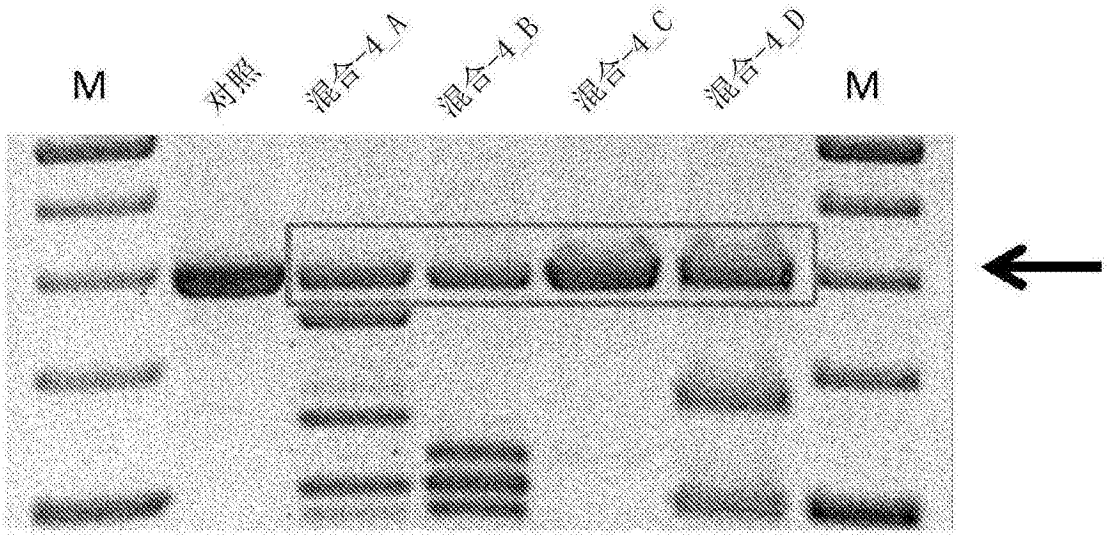


图7

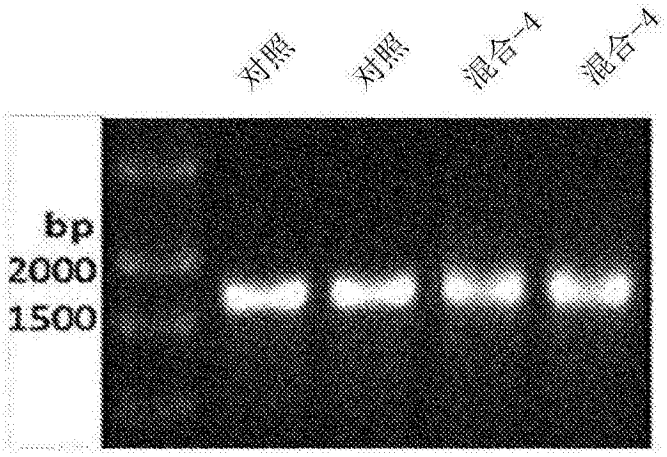


图8

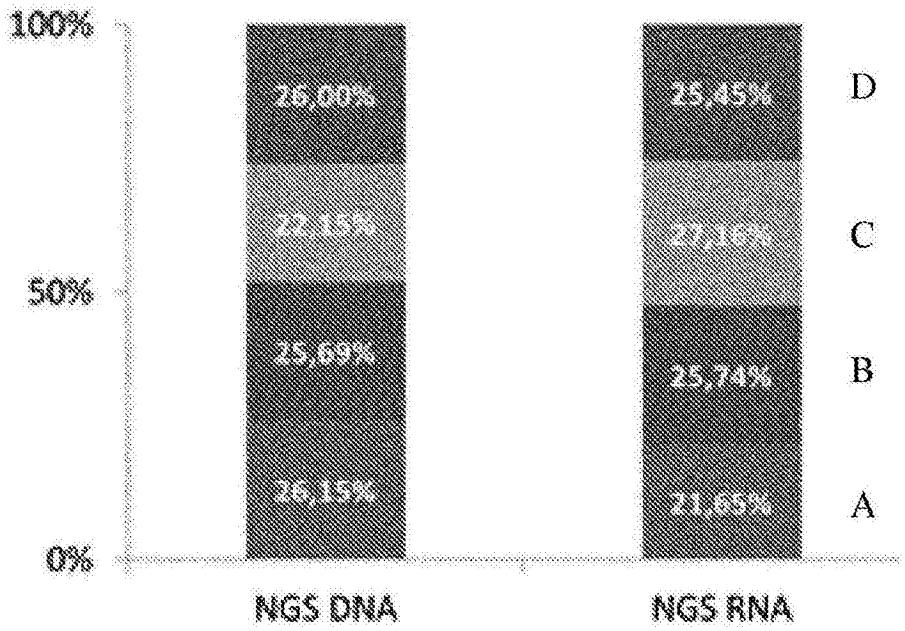

100%
50%
0%
26,00%
22,15%
25,69%
26,15%
25,45%
27,16%
25,74%
21,65%
D
C
B
A
NGS DNA
NGS RNA

图9