



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104903343 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 09

(21) 申请号 201380067602. 2

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 12. 20

C07K 14/02(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 39/29(2006. 01)

1223386. 2 2012. 12. 24 GB

C12N 7/00(2006. 01)

A61K 39/12(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 35/00(2006. 01)

2015. 06. 23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2013/053410 2013. 12. 20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/102540 EN 2014. 07. 03

(71) 申请人 瓦克辛英国有限公司

地址 英国伦敦

(72) 发明人 伯特兰·维克托·吉尔伯特·乔治斯

卡尔顿·布兰得利·布朗

(74) 专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理

事务所(普通合伙) 11371

代理人 李丙林 王玉桂

权利要求书3页 说明书33页

序列表68页 附图12页

(54) 发明名称

抗乙型肝炎病毒的疫苗

(57) 摘要

一种药物组合物,包含长度为15至60个氨基酸的至少两种肽,所述至少两种肽选自包含SEQ ID NOs :1到4中所示的序列之一或与SEQ ID NOs :1到4中所示的序列之一具有至少80%同一性的序列的至少15个连续氨基酸的序列的肽,其中,每种肽包含至少一个CD8+T细胞表位和/或至少一个CD4+T细胞表位,并且其中,每种肽在体外测定中在来自至少一个慢性感染HBV个体的外周血单核细胞(PBMC)中引发应答。

1. 一种药物组合物, 包含长度为 15 至 60 个氨基酸的至少两种肽, 所述至少两种肽选自包含 SEQ ID NOs :1 到 4 中所示的序列之一或与 SEQ ID NOs :1 到 4 中所示的序列之一具有至少 80% 同一性的序列的至少 15 个连续氨基酸的序列的肽, 其中, 每种肽包含至少一个 CD8+T 细胞表位和 / 或至少一个 CD4+T 细胞表位, 并且其中, 每种肽在体外测定中在来自至少一个慢性感染 HBV 个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引发应答。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中, 所述肽选自包含 SEQ ID NOs :1 到 4 中所示的序列之一的至少 15 个连续氨基酸的肽。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的组合物, 所述组合物包含至少一种包含 SEQ ID NOs :1 到 3 中所示的序列之一的至少 15 个氨基酸的肽以及至少一种包含 SEQ ID NO :4 中所示的序列的至少 15 个氨基酸的肽。

4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的组合物, 其中, 所述肽中的至少一种包含 SEQ ID NOs :24 至 33 之一中所示的序列, 或与 SEQ ID NOs :24 至 33 中所示的序列之一具有至少 80% 同一性的序列。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中, 至少一种肽还包括位于 N- 末端和 / 或 C- 末端的一个或多个额外的氨基酸, 以增加净正电荷和 / 或减少肽的疏水性。

6. 根据权利要求 5 所述的组合物, 所述组合物包含含有 SEQ ID NOs :34 至 38 之一中所示的序列的肽。

7. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中, 所述组合物能够在来自不同种族的至少两个个体和来自感染不同 HBV 基因型的两个个体的 PBMC 中引发免疫应答。

8. 根据权利要求 7 所述的组合物, 其中, 所述组合物能够在来自感染 HBV 基因型 A 的个体、感染 HBV 基因型 B 的个体、感染 HBV 基因型 C 的个体和感染 HBV 基因型 D 的个体中的两个、三个或所有的 PBMC 中引发免疫应答。

9. 根据权利要求 8 所述的组合物, 所述组合物包含选自以下组中的至少两个的至少一种肽:

- (i) 包含 SEQ ID NO :14、15、20、21、67、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽;
- (ii) 包含 SEQ ID NO :14、17、18、21 或 67 的至少 15 个连续氨基酸的肽;
- (iii) 包含 SEQ ID NO :14、16、60、19、20 或 22 的至少 15 个连续氨基酸的肽; 以及
- (iv) 包含 SEQ ID NO :14、20、21、67、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽。

10. 根据权利要求 7 至 9 中任一项所述的组合物, 其中, 所述组合物能够在来自感染 HBV 的东方或印度个体、感染 HBV 的高加索人个体和感染 HBV 的非洲或阿拉伯个体的两个、三个或所有的 PBMC 中引发免疫应答。

11. 根据权利要求 10 所述的组合物, 所述组合物包含选自以下组的至少两个中的至少一种肽:

- (i) 包含 SEQ ID NO :14、16、60、17、18、20、21、67 或 22 的至少 15 个连续氨基酸的肽;
- (ii) 包含 SEQ ID NO :14、15、19、20、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽; 以及
- (iii) 包含 SEQ ID NO :14、15、20、21、67、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 包含长度为 15 至 60 个氨基酸的一种或多种肽, 所述一种或多种肽包含 SEQ ID NO :1 中所示的序列的至少 15 个连续氨基酸的片段。

13. 根据权利要求 12 所述的组合物,包含含有 SEQ ID NO :5、6、14 或 15 中所示序列的至少 15 个连续氨基酸的肽。

14. 根据权利要求 12 或 13 所述的组合物,包含含有 SEQ ID NOs :80、81、82、83、86、87、88 或 89 之一中所示序列的肽。

15. 根据权利要求 12 至 14 中任一项所述的组合物,包含含有 SEQ ID NO :24 或 25 中所示序列的肽。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物包含 2 至 10 种所述肽。

17. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物包含含有 SEQ ID NOs :24、25、27、28、33、34、35、36、37 和 38 中所示的序列的 10 种肽中的至少两种。

18. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,所述组合物还包含长度为 15 至 60 个氨基酸的至少一种肽,所述至少一种肽包含 SEQ ID NO :55 中所示序列的至少 15 个连续氨基酸的序列或与 SEQ ID NO :55 中所示序列的至少 15 个连续氨基酸具有至少 80% 同一性的序列,其中,所述肽包含至少一个 CD8+T 细胞表位和 / 或至少一个 CD4+T 细胞表位,并且在体外测定中在来自至少一个慢性感染 HBV 个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引发应答。

19. 根据权利要求 18 所述的组合物,其中,所述肽包含 SEQ ID NO :221 或 SEQ ID NO :222 中所示的序列。

20. 根据权利要求 19 所述的组合物,其中,所述组合物包含含有 SEQ ID NOs :24、25、28、33、34、36、37、38 和 222 中所示的序列的肽。

21. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述肽连接至碳氟化合物载体。

22. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物还包含 HBc、HBe、或 HBs 抗原。

23. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物还包含佐剂。

24. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,用于治疗或预防 HBV 感染。

25. 根据权利要求 21 所述的组合物,用于治疗 HBeAg 阴性患者。

26. 根据权利要求 21 所述的组合物,用于治疗 HBeAg 阳性患者。

27. 根据权利要求 21 至 23 中任一项所述的组合物,与下列结合供根据权利要求 20 至 22 中任一项使用 : (i) α -干扰素和 / 或核苷 / 核苷酸类似物 (NUC) ; 和 / 或 (ii) 抗 PD1 阻断抗体、抗 PD1L 阻断抗体、抗 LAG3 阻断抗体、抗 TIM3 阻断抗体、抗 CTLA4 阻断抗体和 / 或环磷酰胺。

28. 根据权利要求 21 至 24 中任一项所述的组合物,其中,所述治疗导致 HBsAg 消失或 HBsAg 血清转换。

29. 根据权利要求 1 至 20 中任一项所述的组合物,用于治疗或预防终末期肝病或肝癌。

30. 根据权利要求 1 至 20 中任一项所述的组合物,用于治疗或预防丁型肝炎病毒 (HDV) 感染。

31. 一种长度为 15 到 60 个氨基酸的肽,包含 SEQ ID NOs :1 到 4 的任一个中所示的序列或与 SEQ ID NOs :1 到 4 中所示的序列之一具有至少 80% 同一性的序列的至少 15 个连续氨基酸,所述肽包含至少一个 CD8+T 细胞表位和 / 或至少一个 CD4+T 细胞表位,并且能够在体外测定中在来自至少一个慢性感染 HBV 个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引发应答。

32. 根据权利要求 28 所述的肽,所述肽包含 SEQ ID NO :5、6、14 或 15 中所示序列的至

少 15 个连续氨基酸。

33. 一种肽, 包含 SEQ ID NOs :24 至 38 中所示的序列之一, 或与 SEQ IDNOs :24 至 38 中所示的序列之一具有至少 80% 同一性的序列。

34. 根据权利要求 28 至 30 中任一项所述的肽, 所述肽共价连接至碳氟化合物载体。

35. 一种治疗或预防 HBV 感染的方法, 所述方法包括给予需要其的受试者治疗有效量的根据权利要求 1 至 20 中任一项所述的组合物。

36. 根据权利要求 1 至 20 中任一项所述的组合物在制备用于治疗或预防 HBV 的药物中的应用。

抗乙型肝炎病毒的疫苗

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫原性 HBV 肽组合物以及使用该组合物来治疗 HBV。

背景技术

[0002] 乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是欧洲和全世界的肝脏相关的发病率和死亡率的一个主因。估计每年有 650000 个个体死于肝功能衰竭或肝细胞癌。尽管疫苗接种计划已经在许多国家使得 HBV 感染开始减少,但是由于来自流行地区的 HBV 携带者的移民,慢性乙型肝炎 (CHB) 在欧洲是一个迅速增长的问题。

[0003] 从概念的观点来看,慢性 HBV 感染可分为三个阶段(或免疫应答类型):免疫耐受、免疫活性和非活性慢性携带者。这些不同的慢性感染的阶段对应于特性血清学图案并且与患者对 HBV 的免疫应答相关。通常,患有持续免疫活性慢性 HBV 感染的患者接受 HBV 治疗。

[0004] 有限的治疗方案可用于慢性乙型肝炎 (CHB)。利用抗病毒药物(诸如, α -干扰素和核苷/核苷酸类似物(NUC))来抑制病毒复制是降低慢性 HBV 感染的发病率和死亡率的唯一途径,其终极目标是改善生存。然而,血清 HBsAg 的损失和抗 HBs 抗体的发展(血清转化)是对 HBV 感染的成功免疫应答的标志和临床治愈的最接近结果。仅 α -干扰素已经能够诱导显著的 HBsAg 损失,但只对于相对较低比例(<10%)的患者是这样的。干扰素具有高成本、低耐受性,并且一些 HBV 基因型仍然很差地应答治疗。

[0005] 因此,NUC 仍然是主要的治疗策略,其中在欧洲五个 NUC 被批准治疗 CHB。最有效的和优选的药物(替诺福韦和恩替卡韦)具有非常有利的副作用分布并且能够在几乎所有的患者中诱导 HBV DNA 抑制。然而,在大多数国家和国际准则下,对于大多数患者需要终生治疗。即使在 NUC 治疗的几年之后,只有极少数的 HBeAg 阳性患者,并且没有 HBeAg 阴性患者,能够清除 HBsAg。NUC 治疗的长期安全性目前是未知的。因此,迫切需要能够及时停止 NUC 疗法的概念。

[0006] 治疗性疫苗接种是对于乙肝的一种有前途的干预,以此来诱导对于疾病的免疫控制。T 细胞应答已被证明对于急性 HBV 感染的清除是至关重要的。然而,即使是在有效的抗病毒治疗下,基于 HBsAg 的治疗性 HBV 疫苗尚未能示出益处,这是因为来自高水平的循环 HBsAg 的被诱导的免疫耐受性。

发明内容

[0007] 本发明人已经识别出 HBV 蛋白质组的一些区域,这些区域在不同的 HBV 基因型之间具有高度保守性,并且与 HBV 蛋白的其它类似保守区域相比,具有预料不到的更好的免疫原性性质。特别地,发明人使用体外测定出乎意料地表明,HBV 聚合酶和 HBV 核心蛋白的特定结构域内的肽序列能够在来自感染了不同 HBV 基因型的慢性感染 HBV 的患者和/或来自不同种族的慢性感染 HBV 患者的 PBMC 中引发应答。特别地,本发明人已经令人惊讶地识别了 HBV 聚合酶的末端结构域中的免疫显性区。

[0008] 因此,本发明提供了一种包含长度为 15 至 60 个氨基酸的至少两种肽的药物组合物,所述肽选自包括 SEQ ID NOs. 1-4 中所示的序列之一或与 SEQ ID NOs. 1-4 中所示的序列之一具有至少 80% 同一性的序列的至少 15 个连续氨基酸的序列的肽 (或者所述肽选自包括 SEQ ID NOs. 1-4 中所示的序列之一的至少 15 个连续氨基酸的序列或与 SEQ ID NOs. 1-4 中所示的序列之一具有至少 80% 同一性的序列的肽),其中,每个肽包含至少一个 CD8+T 细胞表位和 / 或至少一个 CD4+T 细胞表位,并且其中,每个肽在体外测定中在来自至少一种慢性感染 HBV 个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引发应答。

[0009] 所述组合物可以包括包含 SEQ ID NOs. 1-3 中所示的序列之一的至少 15 个氨基酸的至少一个肽以及包含在 SEQ ID NO :4 中所示序列的至少 15 个氨基酸的至少一个肽。

[0010] 所述肽中的至少一个可以包括 SEQ ID NOs. 24-33 之一中所示的序列,或与 SEQ ID NOs. 24-33 中所示序列之一具有至少 80% 同一性的序列。所述肽中的一个或多个可以包括位于 N- 末端和 / 或 C- 末端的一个或多个氨基酸以增加净正电荷和 / 或减少肽的疏水性。因此,该组合物可以包括包含 SEQ ID NOs :34 至 38 之一中所示的序列的肽。

[0011] 该组合物可以进一步包含衍生自 HBV 表面蛋白的至少一个肽。衍生自 HBV 表面蛋白的肽的长度可以是 15 至 60 个氨基酸,并且包括 SEQ ID NO :55 中所示的序列的至少 15 个连续氨基酸的序列或与 SEQ ID NO :55 中所示序列的至少 15 个连续氨基酸具有至少 80% 同一性的序列,其中,所述肽包含至少一个 CD8+T 细胞表位和 / 或至少一个 CD4+T 细胞表位,并且在体外测定中在来自至少一个慢性感染 HBV 的个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引起应答。

[0012] 组合物,其中所述组合物能够在来自不同种族的至少两个个体以及来自感染有不同 HBV 基因型的两个个体的 PBMC 中引发免疫应答。

[0013] 该组合物能够在以下中引发免疫应答:(a) 在来自感染 HBV 基因型 A 的个体、感染 HBV 基因型 B 的个体、感染 HBV 基因型 C 的个体、和感染 HBV 基因型 D 的个体中的两个、三个或全部的 PBMC 中;和 / 或在来自感染 HBV 的东方或印度个体、感染 HBV 的高加索人 (白人) 个体、和感染 HBV 的非洲或阿拉伯个体中的两个、三个或全部的 PBMC 中。

[0014] 在本发明的组合物中的肽可以连接至碳氟化合物载体。该组合物可以进一步包括 HBc、HBe 或 HBs 抗原和 / 或佐剂。

[0015] 本发明提供了本发明的用于 HBV 感染的治疗或预防的组合物,特别是用于 HBeAg 阴性患者或 HBeAg 阳性患者的治疗。本发明的组合物可与以下组合使用:(i) α 干扰素和 / 或核苷 / 核苷酸类似物 (NUC);和 / 或 (ii) 抗 PD1 阻断抗体、抗 CTLA4 阻断抗体、抗 PD1L 阻断抗体、抗 LAG3 阻断抗体、抗 TIM3 阻断抗体和 / 或环磷酰胺。利用该组合物的治疗可导致 HBsAg 损失或 HBsAg 血清转换。

[0016] 本发明还提供了本发明的用于终末期肝病或肝细胞癌的治疗或预防或用于丁型肝炎病毒 (HDV) 感染的治疗或预防的组合物。

[0017] 一种治疗或预防 HBV 感染的方法,该方法包括给予需要其的受试者治疗有效量的根据本发明的组合物,并且还提供了根据本发明的组合物在制备用于治疗或预防 HBV 的药物中的应用。

[0018] 此外,本发明提供了长度为 15 到 60 个氨基酸的肽,包含 SEQ ID NOs :1-4 中任一一个中所示的序列,或与在 SEQ ID NOs :1-4 中所示序列之一具有至少 80% 同一性的序列的

至少 15 个连续氨基酸,所述肽包含至少一个 CD8+T 细胞表位和 / 或至少一个 CD4+T 细胞表位,并且能够在体外测定中在来自至少一个慢性感染 HBV 的个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引发应答。该肽可以包含 SEQ ID NO :5、6、14 或 15 所示的序列的至少 15 个连续氨基酸。

[0019] 本发明还提供了包含 SEQ ID NOs :24 至 38 中所示的序列之一或与 SEQ ID NOs :24 至 38 所示的序列之一具有至少 80% 同一性的序列。

[0020] 本发明的肽可以被共价连接至碳氟化合物载体。

附图说明

[0021] 图 1 是处于免疫控制阶段或正在进行积极治疗的慢性 HBV 感染的受试者的 IFN γ 应答的比较。在利用 HBV 衍生的重叠短肽池库 (0.1 μ g/ 肽 /mL) 进行 10 天培养之后,在 18h 的 IFN γ ELISpot (酶联免疫斑点) 测定法中,对 PBMC 进行再刺激 (5 μ g/ 肽 / 毫升),其中重叠肽的池 1 至 23 之一代表 HBV 蛋白质组的特异性区域。

[0022] 图 2 示出了对于在通过感染 HBV 基因型分组的 HBV 感染受试者中的 HBV 衍生的短肽池的 IFN γ 应答的特异性。在利用 HBV 衍生的重叠短肽池库 (0.1 μ g/ 肽 /mL) 的 10 天培养之后,在 18h 的 IFN γ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激 (5 μ g/ 肽 / 毫升),其中重叠肽的池 1 至 23 之一代表 HBV 蛋白质组的特异性区域。

[0023] 图 3 示出了对于在通过种族背景分组的慢性 HBV 感染受试者中的 HBV 衍生短肽池的 IFN γ 应答。在利用 HBV 衍生的重叠短肽池库 (0.1 μ g/ 肽 /mL) 的 10 天培养之后,在 18h 的 IFN γ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激 (5 μ g/ 肽 / 毫升),其中重叠肽的池 1 至 23 之一代表 HBV 蛋白质组的特异性区域。

[0024] 图 4 示出了在利用 HBV 聚合酶 - 和核心衍生的短肽池进行刺激之后,在来自慢性 HBV 和健康对照受试者的 PBMC 中的 CD4 和 CD8 T 细胞的 IFN γ 生产的代表性点图。利用短肽池库 (0.1 μ g/ 肽 /mL) 对来自受试者的 PBMC 刺激 10 天,随后利用 HBV 衍生的短肽池 2 或 14 进行过夜刺激 (5 μ g/ 肽 /mL),分别代表 HBV 聚合酶和核心的区域。结果表示为 IFN γ 产生细胞,作为亲本 CD3/CD4 或 CD3/CD8 T 细胞群的百分比。培养基或 PMA/ 伊屋诺霉素中的刺激分别被用作阴性和阳性对照,并且门控策略是基于阴性对照 IFN γ 生产。

[0025] 图 5 是在来自健康受试者和免疫控制期或经受积极治疗的慢性 HBV 感染的 HBeAg 阴性患者的 PBMC 中对于 HBV 衍生的短肽池的 IFN γ 应答的比较,该短肽池代表 35-40mer 肽。在利用 HBV 衍生的重叠短肽池库 (0.1 μ g/ 肽 /mL) 的 10 天培养之后,在 18h 的 IFN γ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激 (5 μ g/ 肽 / 毫升),其中重叠肽的池 24 至 46 之一各自代表 HBV 蛋白质组的 35-40mer 区域。

[0026] 图 6 示出了对于在通过感染 HBV 基因型分组的 HBV 感染受试者中的表示 35-40mer 肽的 HBV 衍生的短肽池的 IFN γ 应答的特异性。在利用 HBV 衍生的重叠短肽池库 (0.1 μ g/ 肽 /mL) 的 10 天培养之后,在 18h 的 IFN γ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激,其中重叠肽的池 24 至 46 之一各自代表 HBV 蛋白质组的特定区域。

[0027] 图 7 示出了对于在通过种族背景分组的慢性 HBeAg 阴性 HBV 感染的受试者中的表示 35-40mer 肽的 HBV 衍生的短肽池的 IFN γ 应答。在利用 HBV 衍生的重叠短肽池库 (0.1 μ g/ 肽 /mL) 的 10 天培养之后,在 18h 的 IFN γ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激 (5 μ g/ 肽 /mL),其中重叠肽的池 24 至 46 之一各自代表 HBV 蛋白质组的 35-40mer 区域。

[0028] 图 8 是由来自 HBV 感染的受试者的 PBMC 进行的对于代表 35-40mer 肽的各个短肽池的细胞因子应答的总结。在利用 HBV 衍生的短肽池库进行 10 天短期培养之后,来自慢性 eAg 阴性 HBV 感染的受试者 ($n = 7-14$) 的 PBMC 被进行培养过夜,其中利用最终浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{mL}$ 的 HBV 肽池 25、38、26、39、42、43、28 和 31 (代表肽 P113、P753、P151、P797、P856、P877、P277 和 P376) 之一。细胞被染色,用于 CD3、CD4 和 CD8 的细胞外表达,接着是 $\text{IFN}\gamma$ 、IL-2 和 $\text{TNF}\alpha$ 的细胞内表达。通过流式细胞仪对细胞进行评估。细胞因子的表达针对每个受试者被标准化为媒介阴性对照。数据表示针对每个被评价因子的平均表达。应答的广度示出为在每个堆叠柱状图上。

[0029] 图 9 示出了 $\text{IFN}\gamma$ 斑点形成细胞的数量 (平均值),其在来自慢性 HBV 感染 (HBeAg 阴性无活性携带者 (无活性载体) 或 HBeAg 阴性治疗患者) 的 PBMC 中测量。在利用九个未共轭 (未耦合) 的 HBV 肽 (NP113、NP151、NP277 (K)、NP376、NP753 (K)、NP797 (K)、NP856 (K)、NP877 和 NP1266 (K)) ($0.1 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{毫升}$) 进行 10 天培养之后,在 18h 的 $\text{IFN}\gamma$ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激,其中各个肽的浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0030] 图 10 示出了响应于在来自慢性 HBV 感染 (HBeAg 阴性无活性携带者或 HBeAg 阴性治疗受试者) 的 PBMC 中测量的 HBV 肽的对于 $\text{IFN}\gamma$ ELISpot 测定法的应答的频率。在利用九个未共轭的 HBV 肽 (NP113、NP151、NP277 (K)、NP376、NP753 (K)、NP797 (K)、NP856 (K)、NP877 和 NP1266 (K)) ($0.1 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{毫升}$) 进行 10 天培养之后,在 18h 的 $\text{IFN}\gamma$ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激,其中各个肽的浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0031] 图 11 示出了 $\text{IFN}\gamma$ 斑点形成细胞的数量 (平均值),其是在来自通过感染 HBV 基因型分组的慢性 HBV 感染受试者的 PBMC 中测量的。在利用九个未共轭的 HBV 肽 (NP113、NP151、NP277 (K)、NP376、NP753 (K)、NP797 (K)、NP856 (K)、NP877 和 NP1266 (K)) ($0.1 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{毫升}$) 进行 10 天培养之后,在 18h 的 $\text{IFN}\gamma$ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激,其中各个肽的浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0032] 图 12 示出了 $\text{IFN}\gamma$ 斑点形成细胞的数量 (平均值),其是在来自通过种族背景分组的慢性 HBV 感染受试者的 PBMC 中测量的。在利用九个未共轭的 HBV 肽 (NP113、NP151、NP277 (K)、NP376、NP753 (K)、NP797 (K)、NP856 (K)、NP877 和 NP1266 (K)) ($0.1 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{毫升}$) 进行 10 天培养之后,在 18h 的 $\text{IFN}\gamma$ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激,其中各个肽的浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0033] 图 13 示出了在利用 HBV 衍生的肽进行刺激之后在来自慢性 HBV 的 PBMC 中的产生细胞因子的 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞的频率。图 13A、13B、13C、13D 和 13E 对应于针对通过 HBV 基因型 A、B、C、D 和非 A/B/C/D 感染的个体的群获得的结果。在利用九个未共轭的 HBV 肽 (NP113、NP151、NP277 (K)、NP376、NP753 (K)、NP797 (K)、NP856 (K)、NP877 和 NP1266 (K)) ($0.1 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{毫升}$) 进行 10 天培养之后,在 18h 的 $\text{IFN}\gamma$ ELISpot 测定法中,对 PBMC 进行再刺激,其中各个肽的浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。结果表示为产生细胞因子的细胞,作为亲本 CD3/CD4 或 CD3/CD8⁺T 细胞群的百分比。在培养基或 PMA/伊屋诺霉素中的刺激分别被用作阴性和阳性对照,并且门控策略是基于阴性对照 $\text{IFN}\gamma$ 生产。

[0034] 图 14 示出了通过来自利用 FP-02.1 或 NP02.1 免疫的 BALB/c 小鼠 ($n = 7$) 的脾细胞进行的 $\text{IFN}\gamma$ 生产。视图表示了每 10^6 个脾细胞 $\text{IFN}\gamma$ 斑点形成细胞的数量,其是在疫苗的 9 个肽组分的应答中测量的。采用配对 t 检验 ($ns =$ 不显著) 来进行统计分析。

[0035] 图 15 示出了通过来自利用 FP-02.1 或 NP02.1 免疫的 BALB/c 小鼠 ($n = 7$) 的脾细胞进行的 IFN γ 生产。视图表示了每 10^6 个脾细胞 IFN γ 斑点形成细胞的数量,其是在疫苗的 9 个肽组分的应答中测量的。柱代表每个单独的肽的累积中位应答。

[0036] 图 16 示出,FP02.1 在单次免疫后促进了对于由 MHC I 类分子限制的 CTL 表位的 T 细胞应答。

[0037] 图 17 示出了通过利用 FP-02.1 或 NP02.1 免疫的 BALB/c 小鼠进行的 IFN γ 生产。在对于九个肽的混合物的应答中产生 IFN γ SFC/ 10^6 脾细胞的数量,针对每个脾细胞种群。

[0038] 序列表的简要描述

[0039] SEQ ID NOs :1 至 38 和 40 至 72 是 HBV 聚合酶的 SEQ ID NO :39 中所示的参考 HBV 序列的区域的氨基酸序列,如下面的表 1 中所示。

[0040]

SEQ ID NO:	样品中的参考	虚拟 HBV 蛋白质组序列的区域	HBV 蛋白
1	池 2/3	93-186	聚合酶
2	池 4 至 7	211-426	聚合酶
3	池 12 和 13	592-700	聚合酶
4	池 14 至 17	703-912	核心 (核)
5	池 2	93-145	聚合酶
6	池 3	133-186	聚合酶
7	池 5+ 附加的 N-末端残基	260-326	聚合酶
8	池 6	332-384	聚合酶
9	池 6/7	332-426	聚合酶
10	池 14/15	703-812	核心
11	池 15/16	749-871	核心
12	池 16/17	811-912	核心
13	池 17	859-912	核心
14	池 25	93-132	聚合酶
15	池 26	133-171	聚合酶
16	池 28 + 附加的 N-末端残基	260-301	聚合酶
17	池 30	332-378	聚合酶
18	池 31	359-398	聚合酶

[0041]

19	池 35	626-663	聚合酶
20	池 38	738-775	核心
21	池 39/40	778-837	核心
22	池 42	838-878	核心
23	池 43	859-891	核心
24	P113	96-130	聚合酶
25	P151	134-168	聚合酶
26	P277	260-295	聚合酶
27	P360	342-378	聚合酶
28	P376	359-398 (在 393 处的 C 至 S 取代)	聚合酶
29	P645	627-662	聚合酶
30	P753	738-770 (在 743 处的 S 至 T 取代)	核心
31	P797	780-814 (在 793 处的 C 至 S 取代)	核心
32	P856	839-873	核心
33	P877	860-890	核心
34	P277(K)	260-293 + KKK	核心
35	P645(K)	KKK + 627-662	核心
36	P753(K)	KK + 738-770 (在 743 处的 S 至 T) + KKK	核心
37	P797(K)	780-814 (在 792 处的 C 至 S) + KKK	核心
38	P856(K)	839-873 + KKK	核心
40	池 1	25-79	聚合酶
41	池 4	211-261	聚合酶
42	池 7	372-426	聚合酶
43	池 8	414-465	聚合酶
44	池 9	473-531	聚合酶
45	池 10	520-569	聚合酶
46	池 11	557-604	聚合酶
47	池 12	592-650	聚合酶
48	池 13	638-700	聚合酶
49	池 14	703-762	核心
50	池 15	749-812	核心
51	池 16	811-871	核心

[0042]

52	池 18	966-1017	X
53	池 19	1005-1062	X
54	池 20	1171-1224	表面
55	池 21	1241-1296	表面
56	池 22	1312-1346	表面
57	池 23	1392-1447	表面
58	池 24	31-79	聚合酶
59	池 27	223-261	聚合酶
60	池 28	265-301	聚合酶
61	池 29	289-326	聚合酶
62	池 32	404-440	聚合酶
63	池 33	428-465	聚合酶
64	池 34	557-597	聚合酶
65	池 36	645-685	聚合酶
66	池 37	659-700	聚合酶
67	池 39	778-812	核心
68	池 40	811-837	核心
69	池 41	811-850	核心
70	池 44	979-1024	X
71	池 45	1247-1289	表面
72	池 46	1399-1439	表面
220	池 5	265-326	聚合酶
221	P1266	1252-1284 (在 1266 处的 K 至 R)	表面
222	P1266(K)	KKK+1252-1284 (在 1266 处的 K 至 R)+KKK	表面

[0043] SEQ ID NO:39 是通过聚合酶的末端结构域(位置 1 至 181)、聚合酶的逆转录酶结构域(位置 182 至 549)、聚合酶的 RNA 酶结构域 H(位置 550 至 702)、核心蛋白(位置 703 至 914)、X 蛋白(位置 915 至 1068)和表面蛋白(位置 1069 至 1468)的线性共组装建立的虚拟 HBV 蛋白质序列。从由基因型 A、B、C 和 D 共有序列生成的共有序列的共有获得蛋白质组序列。

[0044] SEQ ID NOs:73 至 219 是池 1 至 46 中的每一个内的短肽的氨基酸序列。SEQ ID NO:220 是池 5 的氨基酸序列。

具体实施方式

[0045] 肽组合物

[0046] 本发明提供了广泛包含免疫原性肽序列的组合物,该免疫原性肽序列能够引发多表位 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞免疫应答,在人口覆盖和 HBV 基因型覆盖方面具有广泛应用。本发明提供了一种药物组合物,包括:来自长度为 15 到 60 个氨基酸的至少一种肽,其中,所述肽包含 HBV 聚合酶的末端结构域的至少 15 个连续氨基酸的片段、HBV 聚合酶的逆转录酶结构域、HBV 聚合酶或 HBV 核心蛋白的 RNA 酶 H 结构域序列。所述肽的长度为 15 至 60 个氨基酸,并选自包含在 SEQ ID NOs:1 至 4 中所示的序列之一的至少 15 个连续氨基酸的序列的肽。该肽包含至少一个 CD8⁺T 细胞表位和 / 或至少一个 CD4⁺T 细胞表位。该肽在体外测定方法中在来自至少一个慢性感染的 HBV 个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引发应答。

[0047] 该组合物可包含具有上文定义的性质多个肽。该组合物能够在来自不同种族的至少两个个体和 / 或来自感染了不同 HBV 基因型的至少两个个体的外周血单核细胞 (PBMC) 中引发免疫应答。

[0048] 肽序列

[0049] 本发明的组合物可以包含一种或多种肽,其包含至少 15 个连续氨基酸,诸如,至少 20、25、29、30、31、32、33、34 或 35 个来自 SEQ ID NOs:1 到 4 之一的氨基酸。SEQ ID NOs:1、2 和 3 是 HBV 聚合酶序列。SEQ ID NO:4 是 HBV 核心蛋白序列。

[0050] 这些区域可被进一步细分,使得存在于本发明的组合物中的肽可包含来自 SEQ ID NOs:5 至 13 之一的至少 15、20、25、30、32、33、34 或 35 个氨基酸。优选地,来自这些子区域内的肽包含 SEQ ID NOs:14 至 23 之一中的序列。

[0051] SEQ ID NOs:1 至 4 中的示例性短肽示出在 SEQ ID NOs:80 至 117 和 142 至 184 中。优选的示例性短肽示出在 SEQ ID NOs:80 至 83、86 至 89、98 至 101、105 到 112、146 至 150、163 至 166、169 至 181 中。本发明的组合物可以包含肽,所述肽含有这些短序列中的一个或多个。

[0052] 来自这些 HBV 聚合酶序列的特别优选的肽包括在 SEQ ID NOs:24 至 29 中所示的序列中的一个。SEQ ID NO:24 是 SEQ ID NOs:1、5 和 14 的优选区域。SEQ ID NO:25 是 SEQ ID NOs:1、6 和 15 的优选区域。SEQ ID NO:26 是 SEQ ID NOs:2、7 和 16 的优选区域。SEQ ID NO:27 是 SEQ ID NOs:2、8 和 17 的优选区域。SEQ ID NO:28 是 SEQ ID NOs:2、9 和 18 的优选区域。SEQ ID NO:29 是 SEQ ID NOs:3 和 19 的优选区域。

[0053] 来自上面的 HBV 核心蛋白序列 (SEQ ID NO:4) 的特别优选的肽包含在 SEQ ID NOs:30-33 中所示的序列中的一个。SEQ ID NO:30 是 SEQ ID NOs:10 和 20 的优选区域。SEQ ID NO:31 是 SEQ ID NOs:11 和 22 的优选区域。SEQ ID NO:32 是 SEQ ID NOs:12 和 22 的优选区域。SEQ ID NO:33 是 SEQ ID NOs:13 和 23 的优选区域。

[0054] 其它优选的肽包括在 SEQ ID NOs:24 至 33 中所示的序列内,并且包括这样的肽,该肽包含来自这些序列之一中的至少 20 个 (诸如 25、29、30、31、32、33 或 34 个) 连续氨基酸。

[0055] 该组合物可以进一步包括长度为 15 至 60 个氨基酸的至少一个肽,其中,所述肽包含 HBV 表面蛋白的至少 15 个连续氨基酸的片段。HBV 表面蛋白肽典型地是 15 到 60 个氨基酸的长度,并且选自包含 SEQ ID NO:55 中所示序列的至少 15 个连续氨基酸的序列的肽。

[0056] HBV 表面蛋白肽可以包含来自 SEQ ID NO:55 之一,优选来自 SEQ ID NO:71 的至少 15、20、25、30、32、33、34 或 35 个氨基酸。

[0057] SEQ ID NOs :55 和 71 中的示例性短肽分别示出在 SEQ ID NOs :204 至 210 以及 205 至 209 中。本发明的组合物可以包含肽,该肽含有这些短序列中的一个或多个。

[0058] 来自这些 HBV 表面蛋白序列的特别优选的肽包括在 SEQ ID NO :221 中所示的序列中的一个。SEQ ID NO :221 是 SEQ ID NOs :55 和 71 的优选区域。

[0059] 可以包括在本发明的组合物中的更进一步的肽是包含这样的序列的肽,该序列含有一个或多个(诸如两个、三个或四个)氨基酸取代、添加或缺失(优选取代)(在 SEQ ID NOs :1 至 33、55、71 和 221 之一中所示的序列中的一个中)。连续序列中的一个、两个、三个或更多个氨基酸可以被取代。指定序列中的取代包括突变以去除半胱氨酸残基。例如,半胱氨酸残基可被丝氨酸残基取代。

[0060] 典型地,这样的肽将与 SEQ ID NOs :1 至 33、55、71 和 221 之一中的至少 15 或 20,诸如,25、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 或 40 个连续氨基酸或与 SEQ ID NOs :24 至 33 和 221 中所示的序列之一的整个长度具有至少 80%,诸如,至少 85%、90%、95% 或 98% 的序列同一性(例如,如使用可在国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)(blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)上获得的 BLAST 所确定的)。这样的肽包括匹配 HBV 聚合酶或核心蛋白的等效区域中的 HBV 基因型 A、B、C、D、E 或 F 的氨基酸序列的序列。

[0061] 所述肽可以包括另外的序列,条件是它们的总长度不超过 60 个氨基酸。例如,所述肽可以包含至少 20,诸如,25、29、30、31、32、33、34 或 35 个连续氨基酸,其来自 SEQ ID NOs :1 至 33、55、71 和 221 之一所示的序列中的一个,优选 SEQ ID NOs :24 至 33 和 221,并且可以具有的长度为 15、20 或 25 个氨基酸至可达 30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55 或 60 个氨基酸。

[0062] 因此,所述肽通常具有的长度为 15 或 20 至 60 个氨基酸,诸如,25 至 50 个氨基酸,优选 30 至 40 个氨基酸,例如 31,32,33,34,35,36,37,38 或 39 个氨基酸。

[0063] 所述肽可以包括额外的序列。所述额外的序列可有利于肽的制造或配制或增强肽的稳定性。例如,所述肽可以包括一个或多个额外的氨基酸,通常在 N 末端和 / 或 C- 末端,以增强肽的净正电荷和 / 或减少该肽的疏水性。净正电荷可以被增加,使得该肽具有大于或等于 7 的等电点。

[0064] 在本发明的一个方面,将一个或多个(诸如,两个或三个)带正电荷的氨基酸(精氨酸和 / 或赖氨酸)加入到组合物中的所述肽中的一个或多个的 N 末端和 / 或 C 末端。例如,三个赖氨酸残基可被加入到肽中的一个或多个的 N 末端和 / 或 C 末端。阳性氨基酸通常在肽的一个或多个末端处加入,其具有超过 65% 的总疏水性、小于零的净电荷和 / 或包括疏水性氨基酸簇。

[0065] SEQ ID NOs :34 至 38 和 222 中示出了包括 N- 和 / 或 C- 末端赖氨酸残基的肽的具体实例。

[0066] 所述肽可以包括一个或多个表位,其不存在于共有 HBV 序列中。一个这样的实例是融合肽的使用,其中,混杂的 T 辅助表位被共价地连接(可选地,通过多肽接头或间隔物)至共有序列。作为一个实例,混杂的 T 辅助表位可以是 PADRE 肽、破伤风类毒素肽(830-843)、或流感血细胞凝集素,HA(307-319)。

[0067] 在所述肽被连接至碳氟化合物的情况下,肽的末端(诸如,未共轭至或通过其它

附接方式附接至碳氟化合物的末端)可以被改变,例如,以通过形成胶束而促进碳氟化合物肽构建物的溶解度。为了便于大规模合成构建物,所述肽的 N- 或 C- 末端氨基酸残基可以被改性。当期望的肽对于肽酶裂解特别敏感时,正常肽键可被不可切割的肽模拟物所代替。这样的键以及合成方法在现有技术中是众所周知的。

[0068] 所述肽可以是天然肽。该肽可被修饰以增加寿命,诸如,体内的肽的半衰期或在给药部位的存留,或将肽引导至抗原呈递细胞。例如,所述免疫原性肽可以包含一个或多个非天然存在的氨基酸和 / 或非天然存在的共价键,以便共价地连接相邻的氨基酸。在某些实施方式中,非标准的、非天然存在的氨基酸也可掺入到免疫原性肽中,条件是它们并不干扰肽与 MHC 分子相互作用并保持与识别天然序列的 T 细胞的交叉反应的能力。非天然氨基酸可被用于改进针对蛋白酶或化学稳定性的肽抗性。非天然氨基酸的实例包括 D- 氨基酸和半胱氨酸修饰。

[0069] 所述肽可以结合至载体,诸如,蛋白质载体或递送载体。合适的递送载体包括脂肽,例如,脂肪酰基链,诸如单棕榈链、病毒颗粒、脂质体和细胞穿透肽,诸如穿膜和转录的反式激活物 (TAT)。

[0070] 在本发明的组合物中的 HBV 肽中的一个或多个 (优选全部) 优选共价连接至碳氟化合物载体。

[0071] 肽的组合

[0072] 本发明的组合物可以包含多种肽。因此,该组合物可包含至少两个,诸如,至少三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个肽,每一个包含如上所述的 SEQ ID NOs :1 至 4 之一的至少 15 个连续氨基酸的序列。该组合物可另外包含这样的肽,该肽包括如上所述的 SEQ ID NO :55 的至少 15 个连续氨基酸的序列。

[0073] 在一个方面,所述组合物可以包含至少一种肽,其包含在 SEQ ID NOs :1 至 3 所示的序列之一的至少 15 个氨基酸和在 SEQ ID NO :4 所示的序列的至少 15 个氨基酸,以及可选地包含在 SEQ ID NO :55 中所示的序列之一的至少 15 个氨基酸的至少一种肽。例如,该组合物可以包含至少一种肽,所述至少一种肽包含在 SEQ ID NOs :24,25,26,27,28,29 和 34 中所示的序列之一的至少 15 个氨基酸以及在 SEQ ID NOs :30 至 33 和 35 至 38 中所示的序列之一的至少 15 个氨基酸。

[0074] 在另一个方面,所述组合物可以包括如上所述的包含 SEQ ID NOs :1 和 / 或 2 的至少 15 个连续氨基酸的序列的至少一种肽以及如上所述的包含 SEQ ID NO :3 或 4 的至少 15 个连续氨基酸的序列的至少一种肽。例如,所述组合物可以包括如上所述的包含 SEQ ID NO :1 或 2 的至少 15 个连续氨基酸的序列的肽 (或包含 SEQ ID NOs :5 和 6 两者的序列的肽) 以及如上所述的包含 SEQ ID NOs :10-13 中的任一个的至少 15 个连续氨基酸的肽。本发明可以包括如上所述的包含 SEQ ID NOs :5、6、7、8 和 9 中的任何两个、三个、四个、五个、或全部的至少 15 个连续氨基酸的序列的肽,和 / 或可以包括如上所述的包含 SEQ ID NOs :10 至 13 中的任何两个、三个、或全部的至少 15 个连续氨基酸的序列的肽。

[0075] 存在于本发明的组合物中的肽可以由或基本上由 SEQ ID NOs :24 至 38 中所示的序列之一组成。存在于本发明的组合物中的 HBV 表面蛋白肽可以由或者基本上由在 SEQ ID NOs :221 和 222 中所示的序列中的一个组成。因此,本发明提供了一种药物组合物,所述药物组合物包含至少一种肽,诸如,两种或更多种肽,其由或基本上由 SEQ ID NOs :24 至 38 之

一中所示的氨基酸序列组成,或者包括所述氨基酸序列;以及可选地至少一种肽,其由或基本上由 SEQ ID NOs:221 或 222 中所示的氨基酸序列组成,或者包括所述氨基酸序列。所述组合物可以包含至少两种,诸如,三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种肽,其包含 SEQ ID NOs:24 至 33 和 221 中所示的序列。在一个实施方式中,包含 SEQ ID NOs:24 至 33 和 221 之一的肽中的一种或多种可以包括 N- 或 C- 末端赖氨酸残基。更具体地,包含 SEQ ID NOs:26、29、30、31、32 和 221 的肽可以分别具有在 SEQ ID NOs:34 到 38 和 222 中所示的序列。

[0076] 例如,组合物可以包括至少两种,诸如三种,四种,五种,六种,七种,八种,九种或十种肽,其包含 SEQ ID NOs:24、25、27、28、33、34、35、36、37 和 38 中所示的序列,由所述序列组成或者基本上由所述序列组成,或者至少两个,诸如三个、四个、五个、六个、七个或八个肽,其包含 SEQ ID NOs:24、25、28、33、34、36、37 和 38,由其组成或基本上由其组成。这些肽的任何可能的组合可以存在于本发明的组合物。优选的组合包括 SEQ ID NOs:24、25、28、33 和 31/37 中的一个或多个,诸如,任意两个、任意三个、任何四个或所有,优选地 SEQ ID NO:24 和 / 或 25。例如,SEQ ID NO:24 和 33 的组合产生了包含结合至 7 个 I 类等位基因和 7 个 II 类等位基因的表位的组合物。该组合物可进一步包括这样的肽,其包含 SEQ ID NO:221 或 222,由其组成或者基本上由其组成。

[0077] 例如,所述组合物可以包含 8 个肽,其包含以下序列:SEQ ID NOs:24、25、26、28、30、31、32 和 33,以及可选的第九个肽,其包含 SEQ ID NO:222。

[0078] 这些肽中的一个,诸如,包含 SEQ ID NO:28 的肽,可以由包含 SEQ ID NO:27 的肽所取代;和 / 或一种肽可以由包含 SEQ ID NO:29 的肽所取代。如上所述,可以用较短的肽(例如,一种具有取代肽的至少 20 个连续氨基酸的肽),或者用与取代肽的氨基酸序列在其整个长度上具有至少 80% 同一性的肽来取代这些肽中的一个或多个。

[0079] 优选地,如上所述,该组合物包含来自 HBV 聚合酶,更优选地来自 HBV 聚合酶的末端结构域的至少一种肽。在一个特别优选的实施方式中,HBV 聚合酶肽包含 SEQ ID NO:1 内的至少一个氨基酸序列,诸如,SEQ ID NO:5、6、14、15、24 或 25 中的至少一个序列。例如,这样的肽可以包含在 SEQ ID NOs:80、81、82、83、86、87、88、89、24 或 25 之一中所示的氨基酸序列。

[0080] HBV 基因型

[0081] 组合物中的肽序列的组合提供了表位,优选 CD8+ 和 CD4+ 表位两者,其存在于多种 HBV 基因型中。HBV 基因型包括基因型 A、B、C、D、E 和 F。例如,长肽可以包含来自至少两个 HBV 基因型的表位,该 HBV 基因型诸如 A 和 D(在欧洲最流行的基因型)或 B 和 C(在亚洲最流行的基因型)。更优选地,所述组合物包含来自至少三个 HBV 基因型的表位,诸如,例如, A、B 和 C, A、B 和 D, A、C 和 D 或 B、C 和 D。最优选地,该组合物包含来自至少 HBV 基因型 A, B, C 和 D 的表位。除了包括来自基因型 A、B、C 和 D 中的一个或多个的任意组合的表位的任何组合,该组合物还可以包含基因型 E、F 和 / 或 G 的表位。例如,这可以通过任何合适的手段,通过使用体外 PBMC 测定法来确定,如本文描述的。

[0082] 因此,本发明提供了一种组合物,其能够在来自感染 HBV 基因型 A 的个体、感染 HBV 基因型 B 的个体、感染 HBV 基因型 C 的个体、感染 HBV 基因型 D 的个体和感染另外的 HBV 基因型的个体中的两个、三个、四个或所有的 PBMC 中引发免疫应答。

[0083] 能够在感染 HBV 基因型 A 的个体、感染 HBV 基因型 B 的个体、感染 HBV 基因型 C 的个体和感染 HBV 基因型 D 的个体中的两个、三个或所有中引发免疫应答的本发明的组合物可以包括选自下列组中的至少两个, 优选三个或所有的至少一种肽:

[0084] (i) 包含 SEQ ID NO:14、15、20、21、67、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0085] (ii) 包含 SEQ ID NO:14、17、18、21 或 67 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0086] (iii) 包含 SEQ ID NO:14、16、60、19、20 或 22 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0087] (iv) 包含 SEQ ID NO:14、15、20、21、67、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0088] 该组合物可进一步包括这样的肽, 其包含 SEQ ID NO:55 或 SEQ ID NO:71 的至少 15 个连续氨基酸。

[0089] 例如, 这样的组合物可以包含选自下列组中的至少两个, 优选三个或所有的肽:

[0090] (i) 包含 SEQ ID NO:20、21、67、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0091] (ii) 包含 SEQ ID NO:17 或 18 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0092] (iii) 包含 SEQ ID NO:16、60 或 19 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0093] (iv) 包含 SEQ ID NO:14 或 15 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0094] 该组合物可以进一步包括包含 SEQ ID NO:55 或 SEQ ID NO:71 的至少 15 个连续氨基酸的肽。

[0095] 包括指定序列的至少 15 个氨基酸的合适的肽在本文中更详细地描述, 并且特别是包括表 4 中提到的 SEQ ID NOs:24 至 38 的肽以及 SEQ ID NOs:221 和 222 的肽。

[0096] 在一个方面, 本发明的组合物在来自慢性感染 HBV 基因型的至少一个个体、慢性感染 HBV 基因型 B 的一个个体、慢性感染 HBV 基因型 C 的一个个体和慢性感染 HBV 基因型 D 的一个个体的外周血液单核细胞 (PBMC) 中引起体外应答。这可以通过任何合适的方法来确定, 如在本文实施例中所描述的方法。所述个体可以是相同或不同种族的, 优选地来自至少两个不同的种族。所述个体可以是相同或不同的 HLA 亚型, 优选地至少两个不同的 HLA 亚型。

[0097] 种族

[0098] 本发明提供了一种能够引发至少两种, 诸如三种或更多种不同种族的个体中的免疫应答的组合物。这可以使用如在实施例中所描述的体外 PBMC 测定进行评估。本发明的组合物能够在来自以下的两种、三种或所有的 PBMC 中引发免疫应答: 感染 HBV 的东方或印度人个体、感染 HBV 的高加索人个体、以及感染 HBV 的非洲或阿拉伯人个体。

[0099] 能够在感染 HBV 的东方或印度人个体、感染 HBV 的高加索人个体以及感染 HBV 的非洲或阿拉伯人个体中的两种、三种或所有中引发免疫应答的本发明的组合物可以包含选自以下组中的至少两个, 优选三个或所有中的至少一个肽:

[0100] (i) 包括 SEQ ID NO:14、16、60、17、18、20、21、67 或 22 的至少 15 个连续氨基酸的肽;

[0101] (ii) 包括 SEQ ID NO:14、15、19、20、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽; 以及

[0102] (iii) 包括 SEQ ID NO:14、15、20、21、67、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽。

[0103] 该组合物可以进一步包含包括 SEQ ID NO:55 或 SEQ ID NO:71 的至少 15 个连续氨基酸的肽。

[0104] 例如, 这样的组合物可以包含选自以下组中的至少两个, 优选三个或所有的肽:

[0105] (i) 包括 SEQ ID NO:16、60、17、18 的至少 15 个连续氨基酸的肽；

[0106] (ii) 包括 SEQ ID NO:14、15 或 19 的至少 15 个连续氨基酸的肽；以及

[0107] (iii) 包括 SEQ ID NO:14、15、20、21、22 或 23 的至少 15 个连续氨基酸的肽。

[0108] 该组合物可以进一步包含包括 SEQ ID NO:55 或 SEQ ID NO:71 的至少 15 个连续氨基酸的肽。

[0109] 在本文中更详细地描述了包括指定序列的至少 15 个氨基酸的合适的肽，并且特别是包括在表 4 中提到的 SEQ ID NOs:24 至 38 的肽和 SEQ ID NOs:221 和 222 的肽。

[0110] 表位

[0111] HLA I 类和 II 类分子是多态性的且它们的频率在族群之间变化。大多数多态性位于肽结合区，并且作为结果，每个变异体被认为结合于肽配体的唯一库 (repertoire)。HLA 多态性为疫苗设计师提出了一大挑战，因为 HLA 多态性是差异肽结合的基础。此外，特异性 HLA 等位基因在不同种族中以显著不同的频率表达。

[0112] 尽管这样的多态性，但是 HLA 分子结合重叠组的肽，因此，可以相应地分组为超类型 (Lund 等人 (2004) Immunogenetics 55(12):797-810, Sette 等人 (1999) Immunogenetics 50(3-4):201-212)。超类型被定义为具有相似的肽结合库从而分享重叠组的肽的不同 HLA 分子的家族。换句话说，与属于给定超类型的 HLA 等位基因结合的肽很可能对其他超类型成员呈现结合活性。

[0113] 对于不同 HLA II 类等位基因的肽的结合能力可以利用用于每个 HLA II 类等位基因的特定生物素化示踪肽使用异源竞争试验来确定，如在 Texier 等人的 (2000) J Immunol 164:3177-3184, Texier 等人的 (2001) Eur J Immunol 31:1837-1846 和 Castelli 等人的 (2002) J Immunol 169:6928-6934 中所描述的。

[0114] 以下 9 个 HLA II 类等位基因代表主要超类型或基于序列分析和结合基序特异性的 HLA 集群，如在 Lund 等人的 (2004) Immunogenetics 55(12):797-810 和 Greenbaum 等人的 (2011) Immunogenetics 63(6):325-35 中所描述的：HLA-DR1(α 1*01:01 ; β 1*01:01)、HLA-DR3(α 1*01:01 ; β 1*01:01)、HLA-DR4(α 1*01:01 ; β 1*04:01)、HLA-DR7(α 1*01:01 ; β 1*07:01)、HLA-DR11(α 1*01:01 ; β 1*11:01)、HLA-DR13(α 1*01:01 ; β 1*13:01)、HLA-DR15(α 1*01:01 ; β 1*15:01)、HLA-DR51(α 1*01:01 ; β 5*01:01) 和 HLA-DP4(α 1*01:03 ; β 1*04:01)。这些等位基因在不同的种族具有较高的发病率 (参见 Wilson 等人的 (2001) J Virol. 75(9):4195-4207)。

[0115] 存在于本发明的组合物中的肽典型地结合至所述九个主要 HLA II 类等位基因中的至少两个，优选至少三个，如结合至在实施例 10 中所描述的七个 HLA II 类等位基因中的至少两个，优选至少三个。存在于该组合物中的一个或多个肽可以结合至所述九个主要 HLA II 类等位基因中的至少四个、五个、六个、七个、八个或所有或者结合至在实施例 10 中所描述的七个 HLA II 类等位基因中的至少四个、五个、六个或所有。本发明的组合物优选包含可以结合至上述主要 HLA II 类等位基因中的至少七个、至少八个或所有九个的肽，如结合至在实施例 10 中所描述的七个 HLA II 类等位基因中的所有。

[0116] 包含在每个肽中的 HLA I 类结合记录 (binding register) 的数量可以通过确定肽结合至一系列频繁出现的 HLA I 类分子的能力来确定。HLA I 类结合可以利用 ProImmune REVEAL®IMHC-肽结合试验 (英国牛津 ProImmune 有限公司) 来测定。对于代

表主要 HLA I 类超类型的 HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0301、HLA-A*2402、HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*3501, REVEAL™ MHC 肽-结合试验测定每个肽稳定三元 MHC-肽复合物的能力。给出每个测试肽相对于通过/未通过对照肽的分数,并且还与阳性对照肽进行比较。

[0117] HLA I 类分子结合具有从 8 至 11 个氨基酸变化的长度的短肽。理论上,102 个短肽(27×8-聚体、26×9-聚体、25×10-聚体和 24×11-聚体),可以衍生自 35-聚体肽序列。为了限制待测试肽的数量,可以基于公开的可用算法仅使用具有良好预测分数的九聚肽(对于 HLA I 类结合肽的最频繁长度)进行结合试验。

[0118] 以下 HLA I 类等位基因在人群中被高度表示且 (2) 它们属于良好定义的 HLA 超类型 (<http://bioinformatics.nmdp.org/>):HLA-A*0101、HLA-A*0201、HLA-A*0301、HLA-A*2402、HLA-B*0702、HLA-B*0801、HLA-B*3501 和 HLA-A*1101。

[0119] 存在于本发明的组合物中的肽典型地包括与这些 HLA I 类等位基因中的至少一个,优选至少两个或至少三个结合的短肽,如与以上所列出的前七个 I 类等位基因结合,且优选地与实施例 9 中提到的 7 个 HLA I 类等位基因结合。存在于该组合物中的一个或多个肽可以包括与 7 个 HLA I 类等位基因中的至少四个、五个、六个或所有结合的短肽。本发明的组合物优选地包含包括可以与上述 HLA I 类等位基因中的至少五个、至少六个或所有七个结合的短肽的肽。

[0120] 本发明的药物组合物典型地包含一个或多个肽,所述肽包括与不同的 MHC 等位基因结合以得到广泛群体覆盖率的一种或多种 T 细胞表位。所述组合物可以包含已知或预测到包含与特定族群中或跨多个族群的高频率 MHC 等位基因相关的一个或多个 MHC 结合基序的肽。该组合物可包含与多于一个的等位基因变异体结合的一种或多种混杂的 CD4+ 和 CD8+T 细胞表位。组合物中的肽序列的结合提供了与不同 HLA 亚型结合的 T 细胞表位。

[0121] 在一个方面,本发明的组合物在来自具有不同 HLA 亚型的至少两个个体的外周血单核细胞(PBMC)中引发体外应答。该组合物可以在各自具有不同 HLA 基因型的至少三个、四个、五个、六个或七个个体中引发免疫应答,这些个体可以是不同种族的个体。

[0122] 碳氟化合物

[0123] 碳氟化合物可以包括从全氟烃或混合的碳氟化合物/碳氢化合物基衍生的一个或多个链,并且可以是饱和的或不饱和的,每个链具有 3 至 30 个碳原子。因此,碳氟化合物连接(结合物,连接物,attachment)中的链通常是饱和的或不饱和的,优选是饱和的。碳氟化合物连接中的链可以是直链或支链,但优选是直链。每个链通常具有 3 至 30 个碳原子,5 至 25 个碳原子,或 8 至 20 个碳原子。为了将碳氟化合物载体共价连接至肽,在载体中包括反应性基团,或配体(例如 -CO-、-NH-、S、O),或任何其它合适的基团。用于实现共价连接(连接物,键合,linkage)的这种配体的使用在本领域中是公知的。反应性基团可以位于碳氟化合物载体上的任何位置。

[0124] 碳氟化合物载体与肽的偶联可以通过天然存在的或引入到肽的任何位点的官能团(如 -OH、-SH、-COOH 和 -NH₂)实现。这种连接的实例包括酰胺、胺、二硫化物、硫醚和脲键合。

[0125] 可选地,可以包含间隔物元素(间隔物元件,spacer element)(肽或非肽),以允许从用于在抗原呈递细胞内进行处理碳氟化合物元素裂解肽,并优化肽的立体呈现。可

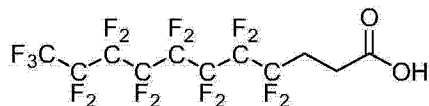
以包含间隔物,以协助分子的合成并改善其稳定性和/或溶解性。间隔物的实例包括聚乙二醇(PEG)或氨基酸,如可被蛋白水解酶裂解的赖氨酸或精氨酸。

[0126] 在一个实施方式中,碳氟化合物连接的肽可以具有化学结构 $C_mF_n-C_yH_x-(Sp)-R$ 或其衍生物,其中, $m = 3$ 至 30 , $n \leq 2m+1$, $y = 0$ 至 15 , $x \leq 2y$, $(m+y) = 3$ 至 30 , 并且 Sp 为可选的化学间隔物部分,且 R 是免疫原性肽。通常, m 和 n 满足关系 $2m-1 \leq n \leq 2m+1$, 且优选地 $n = 2m+1$ 。通常, x 和 y 满足关系 $2y-2 \leq x \leq 2y$, 且优选地 $x = 2y$ 。优选地, $C_mF_n-C_yH_x$ 部分是直链。

[0127] 优选的是, m 为 5 至 15 , 更优选地为 8 至 12 。还优选的是, y 为 0 至 8 , 更优选地为 0 至 6 或 0 至 4 。优选的是, $C_mF_n-C_yH_x$ 部分是饱和的(即 $n = 2m+1$ 且 $x = 2y$) 和直链的, 且 $m = 8$ 至 12 和 $y = 0$ 至 6 或 0 至 4 。

[0128] 在一个具体实施例中,碳氟化合物载体衍生自具有下式的 $2H, 2H, 3H, 3H$ -全氟十一烷酸:

[0129]

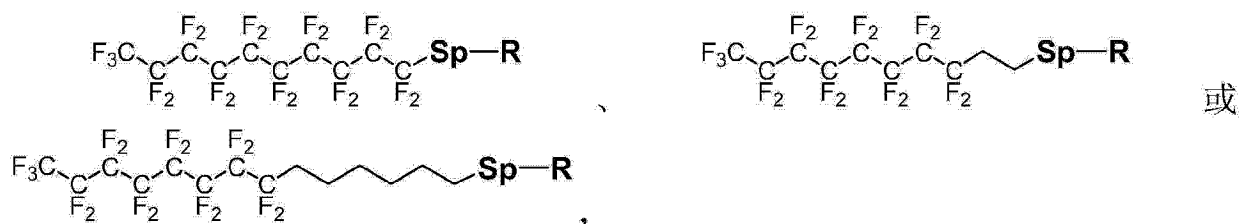


[0130] 因此,优选的碳氟化合物连接是衍生自 $C_8F_{17}(CH_2)_2COOH$ 的直链饱和部分 $C_8F_{17}(CH_2)_2$ 。

[0131] 碳氟化合物连接的其他实例具有下式:分别衍生自 $C_6F_{13}(CH_2)_2COOH$ 、 $C_7F_{15}(CH_2)_2COOH$ 、 $C_9F_{19}(CH_2)_2COOH$ 、 $C_{10}F_{21}(CH_2)_2COOH$ 、 $C_5F_{11}(CH_2)_3COOH$ 、 $C_6F_{13}(CH_2)_3COOH$ 、 $C_7F_{15}(CH_2)_3COOH$ 、 $C_8F_{17}(CH_2)_3COOH$ 和 $C_9F_{19}(CH_2)_3COOH$ 的 $C_6F_{13}(CH_2)_2-$ 、 $C_7F_{15}(CH_2)_2-$ 、 $C_9F_{19}(CH_2)_2-$ 、 $C_{10}F_{21}(CH_2)_2-$ 、 $C_5F_{11}(CH_2)_3-$ 、 $C_6F_{13}(CH_2)_3-$ 、 $C_7F_{15}(CH_2)_3-$ 、 $C_8F_{17}(CH_2)_3$ 和 $C_9F_{19}(CH_2)_3$ 。

[0132] 对于碳氟化合物载体-抗原构建物的合适结构的优选实例具有下式:

[0133]



[0134] 其中, Sp 和 R 如上所定义。在某些实施方式中, Sp 衍生自赖氨酸残基并且具有式 $-CONH-(CH_2)_4-CH(NH_2)-CO-$ 。优选地, R 是 SEQ ID NOs:1 至 14 中的任一个, 优选地 R 是 SEQ ID NOs:1 至 6 中的任一个。每种肽(例如, SEQ ID NO:1、2、3、4、5 或 6) 的 N 末端氨基酸的氨基形成具有式 $-CONH-(CH_2)_4-CH(NH_2)-CO-$ 的间隔物的 C-末端羧基的酰胺键。

[0135] 在本发明的上下文中,碳氟化合物连接可以被修饰,使得所得化合物仍然能够将所述肽递送至抗原呈递细胞。因此,例如,可以用其他卤族原子,如氯、溴或碘来替换多个氟原子。另外,也可以用甲基代替多个氟原子,并且仍保留本文所描述的分子的性质。

[0136] 所述肽可以经由间隔物部分连接至碳氟化合物载体。间隔物部分优选是赖氨酸残基。除了如上所述的任何末端赖氨酸残基,还可以存在这种间隔物残基,使得所述肽可以例如具有总共四个 N-末端赖氨酸残基。因此,本发明的优选制剂可以包含碳氟化合物连接的

肽,其中所述肽具有 C- 末端或 N- 末端赖氨酸残基,优选 N- 末端赖氨酸残基。肽中的末端赖氨酸优选连接至具有式 $C_8F_{17}(CH_2)_2COOH$ 的碳氟化合物。碳氟化合物优选地耦联到 N- 末端赖氨酸残基的 ϵ 链。

[0137] 可以设想,本文所描述的药物组合物包含至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个或更多个免疫原性肽,可选地每个肽共价连接至其自身的碳氟化合物载体。

[0138] 肽

[0139] 本发明还提供了一种在本发明的组合物中有用的肽。所述肽可以是上述肽中的任何一个。特别地,本发明提供了一种长度可达 40、50 或 60 个氨基酸且包含在 SEQ ID NOs:24 至 33 和 221 中所示序列中的一个或与 SEQ ID NOs:24 至 33 和 221 中所示序列中的一个至少 80% 相同,如至少 85%、90%、95% 或 98% 相同的肽。所述肽可以包括如上所述的附加的氨基酸。在一个具体的实施方式中,本发明提供了具有在 SEQ ID NOs:34 至 38 和 222 之一中所示的序列的肽。本发明的特别优选的肽包括在 SEQ ID NOs:24、25、28、30、31、32、33、34、36、37 和 38 中所示的序列,基本上由或由以上序列构成。

[0140] 本发明还提供了来自 HBV 聚合酶的末端结构域的高度保守的免疫原性肽。这些肽可以是以上参考本发明的组合物所描述的任何 HBV 聚合酶肽。这种肽的长度通常为 15 到 60 个氨基酸,包括 SEQ ID NO:1 或 2 的至少 15 个连续氨基酸,并且在来自慢性感染 HBV 的至少一个个体的 PBMC 中引发体外免疫应答。

[0141] 所述肽可以耦联到载体,如上所述。在一个优选的方面,本发明的肽共价键连接至碳氟化合物载体。碳氟化合物载体可以是如上所描述的。

[0142] 其他组分

[0143] 本发明的组合物可以包含附加的免疫原。免疫原可以是 B 细胞抗原。B 细胞抗原可以用来刺激对 HBV 的抗体应答。本发明的药物组合物可以例如包括一个或多个碳氟化合物连接的肽,其可以刺激 T 细胞应答,和 B 细胞抗原。

[0144] 充当 B 细胞抗原的合适的免疫原包括蛋白抗原,诸如 B 型肝炎表面抗原 (HBsAg) 或 B 型肝炎核心抗原 (HBcAg 或 HBeAg)。

[0145] 在一个方面,本发明提供了一种包含两种或更多种肽(例如碳氟化合物连接的肽)的组合物,还包含佐剂和 / 或可选的药学上可接受的载体或赋形剂。所述赋形剂可以是高效冷冻干燥所必需的稳定剂或填充剂 (bulking agent)。实例包括山梨糖醇、甘露糖醇、聚乙烯吡咯烷酮和它们的混合物,优选甘露糖醇。可能存在的其他赋形剂包括本领域中公知的防腐剂(如抗氧化剂)、润滑剂、冷冻保护剂 (cryopreservatives) 和粘合剂。

[0146] 佐剂是一种能够调节针对共同给药的抗原的免疫应答同时在单独给药时几乎没有直接影响的药剂。这样的佐剂能够增强在大小和 / 或细胞因子分布方面的免疫应答。佐剂的实例包括:细菌的天然组分的天然或合成的衍生精炼剂(改良剂, refinement),诸如弗氏佐剂及其衍生物、胞壁酰二肽 (MDP) 衍生物、CpG、单磷酸脂质 A;其他已知的佐剂或增强剂,诸如皂苷、铝盐和细胞因子;水包油佐剂、油包水佐剂、免疫刺激复合物 (ISCOM)、脂质体、配制的纳米和微米颗粒;细菌毒素和类毒素;菊粉,尤其是 γ 菊粉;以及 TLR 激动剂。

[0147] 优选地,所述佐剂可以选自由以下组成的组:肽聚糖(诸如 TDM、MDP、胞壁酰二肽、莫拉丁酯);明矾溶液(诸如氢氧化铝、ADJUMER™(聚磷腈)或磷酸铝凝胶);葡聚糖;阿尔加穆林 (algammulin);表面活性剂(诸如角鲨烷、吐温 80、普朗尼克或角鲨烯);磷酸钙凝

胶；细菌毒素或类毒素（诸如霍乱全毒素、霍乱-毒素-A1-蛋白-A-D 片段融合蛋白、霍乱毒素的亚单位 B 或嵌段共聚物）；含细胞因子的脂质体；油包水佐剂（诸如弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂或 Montanide（如 ISA 51 或 ISA 720））；水包油佐剂（诸如 MF-59）；菊粉类佐剂；细胞因子（诸如干扰素- γ ；白细胞介素-1 β ；白细胞介素-2；白细胞介素-7 或白细胞介素-12）；ISCOM（诸如，细胞和体液免疫应答的有效诱导剂 ISCOMATRIX）；任何组合物的微球体和微粒；以及 Toll 样受体激动剂（诸如 CpG、人 TLR 1-10 的配体、小鼠 TLR 1-13 的配体、ISS-1018、IC31、咪唑喹啉、聚（I:C）、单磷酸脂质 A、Ribi529、霍乱毒素、不耐热毒素、Pam3Cys 或鞭毛蛋白）。

[0148] 药物组合物的制备

[0149] 本发明的药物组合物可以通过在乙酸或其它溶剂中溶解至少一种肽（诸如碳氟化合物连接的肽）作为配制药物产品中的第一步骤来制备。可以用来将一种或多种碳氟化合物连接的肽分散在共混物中的其他溶剂的实例包括磷酸盐缓冲盐水（PBS）、丙-2-醇、叔丁醇、丙酮和其他有机溶剂。在 WO2012/090002 中描述了用于溶解碳氟化合物载体-肽偶联物（结合物，conjugate）的方法。

[0150] 用作起始材料的肽或碳氟化合物连接的肽通常被脱水。肽和包含短于 20 个氨基酸和 / 或具有少于 50% 的疏水性残基的肽的碳氟化合物连接的肽可溶解在除乙酸以外的溶剂中。通常使用乙酸，其中所述肽具有多于 20 个氨基酸和 / 或具有大于 50% 的疏水性残基。

[0151] 碳氟化合物连接的肽在溶液中的浓度通常为约 0.1mM 至约 10mM，例如约 0.5mM，1mM，2mM，2.5mM 或 5mM。合适的浓度的实例为约 10mg/mL。

[0152] 输入组分（引入组分）可以与任何聚集体一起均匀混合成所希望的比例，分散，使其无菌，并以用于给药的合适的形式呈现。这样的实例可以包括引入涡旋和 / 或超声后混合或后稀释阶段，以促进溶解。制造工艺流的其他排列可以包括在工艺的早期阶段进行的无菌过滤或省去冻干，以允许液体最终呈现。

[0153] 在不同的肽或碳氟化合物连接的肽分别溶解在例如不同的溶剂或不同浓度的乙酸中的情况下，使溶解的肽或碳氟化合物连接的肽混合，以形成肽或碳氟化合物连接肽的混合物。

[0154] 可选的佐剂和 / 或一种或多种药学上可接受的赋形剂也可以被添加到溶解的肽 / 碳氟化合物连接的肽或肽 / 碳氟化合物连接的肽的混合物中。通常，使溶解的碳氟化合物连接的肽与赋形剂和 / 或佐剂混合。

[0155] 在溶解和混合之后，一种或多种碳氟化合物连接的肽的溶液可以被稀释。例如，混合物可稀释于水中。

[0156] 含有肽或碳氟化合物连接的肽的溶液优选是灭菌的。当制剂用于全身使用时，灭菌是特别优选的。可以使用灭菌的任何合适的方式（装置），诸如 UV 灭菌或过滤灭菌。优选地，使用过滤灭菌。无菌过滤可以包括 0.45 μm 的过滤器，接着是 0.22 μm 的除菌级过滤车。

[0157] 可以在加入任何赋形剂和 / 或佐剂之前或之后进行灭菌。

[0158] 本发明的组合物可以是干燥形式的，如冷冻干燥。本发明的组合物可以是水性溶液，例如通过在水性介质中溶解冻干产物或其它干燥制剂而形成的水性溶液。该水性溶液

通常是 pH 中性的。

[0159] 干燥所述制剂有助于长期储存。可以使用任何合适的干燥方法。冻干是优选的,但也可使用其它合适的干燥方法,诸如真空干燥、喷雾干燥、喷雾冷冻干燥或流化床干燥。干燥过程可导致其内结合有肽或碳氟化合物连接的肽的非晶形块状物的形成。

[0160] 对于长期储存,无菌组合物可被冻干。冻干可以通过冷冻干燥来实现。冷冻干燥通常包括冷冻,然后干燥。例如,碳氟化合物连接的肽混合物可以在 -80°C 下冷冻 2 小时,并在冷冻干燥机中冷冻干燥 24 小时。

[0161] 本发明的药学上可接受的组合物可以是固体组合物。碳氟化合物连接的肽组合物可以以干粉形式获得。从冻干产生的块状物可被碾磨成粉末形式。根据本发明的固体组合物因此可以采取自由流动颗粒的形式。固体组合物通常在密封的小瓶、安瓿或注射器中以粉末提供。如果是吸入剂,则可以在干燥粉末吸入器中提供粉末。固体基质可替换地可以作为贴剂(小块, patch) 提供。粉末可被压缩成片剂形式。

[0162] 干燥(例如,冻干)的肽或碳氟化合物连接的肽组合物可以在给药之前重组。如本文中所使用的,术语“重组”被理解是指干燥疫苗产品在使用前的溶解。在干燥(如冻干)后,免疫原性肽(例如,碳氟化合物连接的肽产品)优选地被重组以形成等渗、pH 值中性的均匀悬浮液。该制剂通常例如通过添加注射用水、组氨酸缓冲溶液(如 28mM 的 L-组氨酸缓冲液)、碳酸氢钠、Tris-HCl 或磷酸缓冲盐水(PBS)而以水相重组。重组的制剂通常被分散到无菌容器中,例如小瓶、注射器或用于储存或给药的任何其他合适的形式。

[0163] 该组合物在使用前可以储存在容器(诸如无菌小瓶或注射器)中。

[0164] 医疗用途

[0165] 本发明提供了本发明的组合物用于人或动物体疗法的治疗中。具体地,本发明的组合物被提供在治疗或预防 HBV 感染的方法中使用。本发明的组合物引发免疫应答,这在 HBV 的预防中也可能是有用的。本发明的组合物优选地用作治疗性疫苗,以治疗感染 HBV 的个体。本发明的组合物在治疗患有持续性慢性 HBV 感染的患者中是特别有用的,但也可用于治疗免疫耐受患者或无活性的慢性携带者。

[0166] 本发明提供了一种治疗性疫苗,作为一种用于慢性 HBV(CHB) 的治疗的颠覆性技术。本发明的组合物增强了抗病毒 T 细胞应答,导致 HBV 感染的自发免疫控制。这使得抗病毒 NUC 治疗的停止,并且有可能还导致 HBV 感染的血清学治愈。HBsAg 的下降被用作长期改善临床结果的预测。HBsAg 水平可以与 HBV 感染的肝细胞的数量关联,并且通过由各种细胞因子控制的肝内 cccDNA 的转录活性来确定。使用本发明的组合物的治疗会导致 HBsAg 消失或 HBsAg 血清转换。

[0167] 本发明的肽和组合物在治疗 NUC 治疗的 CHB 患者中是特别有用的。所述肽也代表了发展中国家中可能无法负担长期 NUC 治疗的 HBeAg 阳性患者能够负担得起治疗。特别是用本发明的肽组合物对 NUC 治疗的、HBV-DNA 抑制的、HBeAg 阴性患者的接种促进和加速了 HBsAg 清除。也可治疗 HBeAg 阳性患者。本发明的组合物也可以用来治疗 HBV 的无活性携带者(载体)。

[0168] 乙型肝炎病毒(HBV)感染是肝脏相关发病率和死亡率的主要原因。提供本发明的组合物,用于肝功能衰竭、终末期肝病和肝细胞癌的治疗。

[0169] 本发明的组合物在患有丁型肝炎(HDV)的患者接种中是有用的,HDV 是病毒性肝

炎的最严重形式,对他们来说,没有批准的疗法可用,并且在 HBsAg 阳性个体中只作为共感染而发生。

[0170] 本发明还提供了本发明的药物组合物在制备用于治疗或预防 HBV 感染,特别是 CHB,用于治疗或预防肝功能衰竭、终末期肝病或肝细胞癌,或用于治疗或预防 HDV 的药物中的应用。

[0171] 类似地,本发明提供了一种在需要其的受试者中治疗或预防 HBV 感染的方法,所述方法包括给予所述受试者预防或治疗量的本发明的组合物。

[0172] 本发明的组合物可以与第二治疗剂或预防剂结合给予。例如,该第二药剂可以包含另外的免疫原(如球状抗原或者重组或天然存在的抗原),以进一步刺激免疫应答,例如刺激对 HBV 的体液免疫应答,其中碳氟化合物连接的肽刺激细胞免疫应答。可以理解的是,该第二药剂可以是 B 细胞抗原。合适的 B 细胞抗原包括 HbsAg、HBcAg 和 HBeAg。

[0173] 在一个优选的实施方式中,所述第二药剂是在现有的 HBV 治疗性治疗中使用的已知试剂。现有的 HBV 治疗剂可以是干扰素(如干扰素- α)或 NUC(如恩替卡韦和替诺福韦)。HBV 治疗性治疗可以是阻断抑制性细胞类型的治疗。可用于这样的阻断治疗中的试剂包括抗 PD1 阻断抗体、抗 PD1L 阻断抗体、抗 LAG3 阻断抗体、抗 TIM3 阻断抗体、抗 CTLA4 阻断抗体和环磷酰胺。

[0174] 在第二治疗剂或预防剂与本发明的组合物结合使用的情况下,给药可以是同时的或按时间分开的。本发明的组合物可以在第二治疗剂之前给药,与其一起给药或在第二治疗剂之后给药。

[0175] 本发明的组合物可以使用多种已知的途径和技术体内给予人或动物受试者。例如,该组合物可以作为可注射溶液、悬浮液或乳液提供,并使用常规针头和注射器或使用液体射流注射系统通过肠胃外、皮下、口服、表皮、皮内、肌肉、宫内(interarterial)、腹膜内、静脉内注射给予。该组合物可以局部给予皮肤或粘膜组织,例如经鼻、经气管(intratracheally)、肠内、舌下、直肠或阴道,或作为适合于呼吸道或肺给药的细分喷雾提供。在一个优选的实施方式中,组合物被肌肉内给药。

[0176] 该组合物可以以与剂量组合物相容且将是预防和/或治疗有效的量给予受试者。本发明的组合物的给药可以用于“预防性”或“治疗性”目的。如本文中所使用的,术语“治疗性”或“治疗”包括下列中的任一种或多种:感染或再感染的预防;症状的减少或消除;以及病原体的减少或完全消除。治疗可以被预防性(感染前)或治疗性(感染后)影响。

[0177] 载体的选择(如果需要的话)常常具有组合物的递送途径的功能。在本发明内,组合物可被配制成用于任何合适的给药途径和方式。药学上可接受的载体或稀释剂包括适于口服、眼部、直肠、鼻、局部(包括口腔和舌下)、阴道或肠胃外(包括皮下、肌肉、静脉内、皮内、经皮)给药的组合物中使用的那些载体或稀释剂。

[0178] 该组合物可以以任何合适的形式给药,例如作为液体、固体或气溶胶。例如,口服制剂可采取乳剂、糖浆或溶液或片剂或胶囊的形式,胶囊可被肠溶衣以保护活性成分免于在胃中的降解。鼻制剂可以为喷雾或溶液。经皮制剂可以适于其特定的递送系统并且可以包括贴剂。用于注射的制剂可以是蒸馏水或另一种药学上可接受的溶剂或悬浮剂中的溶液或悬浮液。

[0179] 待给予患者的预防性或治疗性疫苗的合适剂量将临床确定。但是,作为指导,合适

的人剂量（其可取决于给药的优选途径）可以是 1 至 1000 μg ，例如约 100 μg ，200 μg 或 500 μg 。可能需要多个剂量，以达到免疫学或临床效果，如果需要，其将通常在 2 至 12 周之间分开给药。当需要较长时期的免疫应答助推时，可以应用 1 个月到 5 年相隔的重复剂量。

[0180] 以下实施例描述了本发明。

[0181] 实施例 1：人 PBMC 中的 HBV 衍生的短肽池的体外免疫原性的评估

[0182] 方法和材料

[0183] 人群

[0184] 感染 HBV 的受试者

[0185] 临床上定义为慢性感染 HBV 的 99 个受试者被纳入了帝国医疗保健 NHS 信托 (Imperial Healthcare NHS Trust)、切尔西和威斯敏斯特医院 NHS 信托基金会以及巴兹和在伦敦的伦敦 NHS 信托的 REC- 批准协议。在来自所有受试者的书面知情同意之后，采集新鲜的静脉血，并对 PBMC 和血浆在采血 18 小时内进行分离和冻存。这些受试者符合以下标准：良好的综合健康状况、HBV 特异性治疗：临床指征的抗病毒核苷（酸）类似物抑制剂和/或干扰素治疗、临床状态（慢性 HBV 感染、HBsAg 阴性、以及 ALT 正常、持续或间歇性升高）、HIV 阴性、HCV 阴性和 HDV 阴性。

[0186] 健康对照受试者

[0187] 由 CTL 技术获得来自 17 个受试者的冻存 PBMC。这些受试者符合以下标准：良好的综合健康状况、未接种于 HBV、HBV 表面抗原阴性、HBV 核心抗体阴性、HIV 阴性和 HCV 阴性。

[0188] PBMC 的短期培养

[0189] 来自每个受试者的一个小瓶的 PBMC（含 1×10^7 个细胞）被解冻，并用 Scepter™ 自动手持细胞计数仪来确定淋巴细胞数量。在 2mL 的培养基（CM：补充有 5% 人 AB 血清的 RPMI-1640 Glutamax）中在 24 孔细胞培养板中以 1×10^6 个细胞/mL 的浓度培养 PBMC 共 11 天。用含 144 个重叠的 HBV 衍生短肽（SEQ ID NOs:73 至 210 和 SEQ ID NOs:214 至 219）的肽池以 0.1 μg /肽/mL 的最终浓度来刺激细胞，所述衍生短肽的长度范围为 15-20 个氨基酸，10 至 13 个氨基酸重叠。在第 4 天，分别将 IL-2 和 IL-15 加入到培养基至最终浓度为 10IU/mL 和 10ng/mL。在第 10 天，将细胞在 CM 中洗涤两次，并用 10IU/mL 的 IL-2 额外培养一天。在第 11 天，将细胞在 CM 中洗涤两次，计数，并且在人 IFN γ ELISpot 测定法或细胞内细胞因子染色法中结合。

[0190] 人 IFN γ ELISpot 测定法

[0191] 96 孔多屏 PVDF 过滤板（微孔过滤器 (Millipore)）用 100 μL (1:80) 的抗人 IFN γ 捕获 mAb (R&D 系统) 在 4°C 下包覆过夜。然后将板在 4°C 下用补充有 1% 的 BSA 和 5% 的蔗糖的 PBS 阻断 2 小时。细胞以 5×10^4 PBMC/孔被铺在三份孔（三个复孔）中。所使用的最终抗原浓度为：22HBV 衍生的短肽池（参见下文；注：不能制备池 22，因为具有 SEQ ID NOs:212 和 213 的肽由于不溶性而不能分散），以及 HIV-3 35-mer 阴性肽对照：5 μg /肽/mL；PHA 阳性对照：1 μg /mL。在 37°C 下，在湿润的环境中在 5% 的 CO₂ 下孵育 ELISpot 板 18 小时。然后将板洗涤并用 100 μL (1:80) 的生物素化的抗人 IFN γ 检测 mAb (R&D 系统) 在室温下孵育 2 小时。在洗涤之后，根据制造商的说明 (R&D 系统)，用链霉抗共轭的碱性磷酸酶 (1:80) 孵育所述板 1 小时，随后是底物 (30 分钟)。使用自动板计数系统 (CTL 欧洲) 计数显影斑点。

[0192] 表 2 :池 1 至 23 中肽的识别

[0193]

池	池中短肽的 SEQ ID NOs
1	73、74、75、76、77、78、79
2	80、81、82、83、84、85
3	86、87、88、89、90、91
4	92、93、94、95、96、97

[0194]

5	98、99、100、101、102、103、104
6	105、106、107、108、109、110
7	111、112、113、114、115、116、117
8	118、119、120、121、122、123
9	124、125、126、127、128、129、130
10	131、132、133、134、135、136
11	137、138、139、140、141
12	142、143、144、145、146、147、148
13	149、150、151、152、153、154、155、156
14	157、158、159、160、161、162、163、164
15	165、166、167、168、169、170、171
16	172、173、174、175、176、177、178
17	179、180、181、182、183、184
18	185、186、187、188、189、190
19	191、192、193、194、195、196、197
20	198、199、200、201、202、203
21	204、205、206、207、208、209、210

22	211、212、213
23	214、215、216、217、218、219

[0195] 细胞内细胞因子染色测定法

[0196] 将细胞以 5×10^5 PBMC/孔铺在 96 孔圆底板中, 用 HBV 衍生的肽池刺激, 最终浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{mL}$ 。将板在 37°C 下在 $5\% \text{CO}_2$ 的培养箱中孵育 20 小时。对于最终 3 小时的测定, 将 PMA/离子霉素加入到各孔中, 并将高尔基插头加入到所有孔中。收获细胞, 并在 4°C 下用 PBS+0.1% BSA (洗涤缓冲液) 洗涤并用抗 CD3、抗 CD4 和抗 CD8 (BD Biosciences 公司) 染色 30 分钟。在再次洗涤之后, 将细胞在 4°C 下用 $100 \mu\text{L}$ 的 BD Cytofix/Cytoperm 溶液固定并透化 20 分钟, 接着用 1x BD Perm/Wash 溶液洗涤两次。最后, 将细胞在 4°C 下用抗 IL-2-FITC、抗 $\text{IFN} \gamma$ -PE 和抗 $\text{TNF} \alpha$ PerCP-Cy5.5 (BD Biosciences) 染色 30 分钟。在 FACSCanto II 流式细胞仪 (BD Biosciences) 上获得样品。对于每个受试者, 门控是基于媒介刺激的样本。

[0197] 感染 HBV 基因型检测

[0198] 直接核苷酸测序之前的巢式 PCR 方法最初是用于 HBV 基因型。然而, 由于来自大多数样品的血浆中的低病毒载量, 不能使用这种方法来确定 HBV 基因型。随后采用 IMMUNIS[®] HBV 基因型酶免疫测定 (EIA) 试剂盒。这种测定在 HBsAg 的 PreS2 区中使用四种基因型依赖性表位, 其中基因型是由对于每个表位都特异性的四个 EIA 的阳性/阴性组合在血清学上确定的。

[0199] 结果

[0200] 识别 HBV 蛋白质组中的感兴趣区域的初始步骤是将来自未感染 HBV 的未接种疫苗的健康受试者的 PBMC 的 $\text{IFN} \gamma$ ELISpot 应答与来自慢性感染 HBV、HBeAg 阴性 - 在疾病和慢性感染 HBV 的持续控制阶段的非活性载体受试者、接受治疗的感染 HBeAg 阴性受试者的应答进行比较。在用代表约 70% HBV 蛋白质组的重叠短肽 (由 10-13 个氨基酸的 15-20mers 重叠) 的库的短期培养之后, 用代表分别在 HBV 聚合酶、核心、X 和表面抗原内的特定感兴趣区域的这些短肽的池再刺激 PBMC 过夜。然后利用人 $\text{IFN} \gamma$ ELISpot 测定法评估对这些肽池的 $\text{IFN} \gamma$ 应答。

[0201] 代表多个抗原区域的池被发现, 以刺激对于慢性 HBV 受试者特异性的 $\text{IFN} \gamma$ 应答。具体地, 用代表 HBV 聚合酶的末端区域 (池 2 和池 3) 和 HBV 核心的区域 (池 14-17) 的刺激导致了感染 HBV 的受试者中的 $\text{IFN} \gamma$ 应答的最大幅度和人群覆盖率 (图 1)。在较小程度上, 池 4 至 9 和池 11 至 13 也倾向于促进 HBV 特异性 T 细胞应答。

[0202] 为了建立感染 HBV 基因型关于对短肽池的 HBV 特异性应答的性质的作用, 为每个受试者确定感染 HBV 基因型。这通过血浆样品中的 HBV 表面抗原的表位评估来确定。随后根据 HBV 基因型 A、B、C 和 D, 对来自免疫对照 (控制) 和治疗的感染 HBV 的受试者的 PBMC 的 $\text{IFN} \gamma$ 应答分组。一些受试者由于测定的灵敏度限制和正在评估的可能的稀有血清而没有被分类为这些基因型。因此这些受试者不包括在该评估中。表明在示出 $\text{IFN} \gamma$ 应答的最大幅度的区域中的相似性的四个基因型之间的应答分布通常位于 HBV 蛋白质组的末端聚合酶和核心区域中 (图 2)。池 2、3、10、12、14、15、16 和 17 示出为提供针对多种基因型的应答。

[0203] 为了建立主体受试者关于对短肽池的 HBV 特异性应答的性质的遗传背景作用, 该研究中的受试者根据他们的种族被分组。PBMC 的 IFN γ 对来自免疫对照 (控制) 和治疗的感染 HBV 的受试者的 PBMC 的 IFN γ 应答在三大族群 (即, 非洲 / 阿拉伯人, 高加索人和东方 / 印度人) 中进行比较。通过 IFN γ 应答的最大幅度、与之相关的高人群覆盖率再次表明相似性的各族群之间的应答分布被发现是针对来自 HBV 蛋白质组的末端聚合酶和核心区域的肽 (图 3)。白种人群示出与其他两个族群稍微不同之处在于: 当与免疫对照下的那些相比, 对多个肽的平均应答幅度在治疗的受试者组中被认为是最高的。肽 2、3、10、14、15、16、17 和 21 趋向于促进在多个族群中的应答。

[0204] 最后, 为了通过 PBMC 进一步描述对短肽库的 IFN γ 应答的类型, 再刺激短期培养细胞过夜, 用于细胞内细胞因子染色。然后通过流式细胞仪评估细胞的 CD3、CD4、CD8 和 IFN γ 表达。在来自健康和慢性感染 HBV 的受试者的 PBMC 中, 对短肽池 2 和 14 的 IFN γ 应答进行比较 (图 4)。它们是 IFN γ ELISpot 测定法中引发最强的 HBV 特异性应答的两个肽池。与 IFN γ ELISpot 测定法一致, 在来自慢性感染 HBV 的受试者的 PBMC 中特别发现了增加的 IFN γ 表达。此外, 这被认为是双 CD4 和 CD8 T 细胞应答。

[0205] 实施例 2: 人 PBMC 中 HBV 衍生的 Densigen 相关的短肽池的体外免疫原性的评估

[0206] 方法和材料

[0207] 人群

[0208] 感染 HBV 的受试者

[0209] 临床上定义为慢性 HBV 感染的 104 个受试者被纳入了在伦敦的帝国保健 NHS 信托、切尔西和威斯敏斯特医院 NHS 信托基金会以及巴兹和伦敦 NHS 信托中的 REC- 批准的协议。在来自所有受试者的书面知情同意后, 采集新鲜的静脉血, 并且对 PBMC 和血浆进行分离并在采血的 18 小时内冻存。这些受试者符合以下标准: 良好的一般健康状况, HBV 特异性治疗: 在临床指征情况下抗病毒核苷 (酸) 类似物抑制剂和 / 或干扰素治疗, 临床状态 (慢性 HBV 感染, HBeAg 阴性, 以及 ALT 正常、持续或间歇性升高), HIV 阴性, HCV 阴性和 HDV 阴性。

[0210] 健康对照受试者

[0211] 由 CTL 技术获得来自 17 个受试者的冻存 PBMC。这些受试者符合以下条件: 良好的一般健康状况, 未接种 HBV, HBV 表面抗原阴性, HBV 核心抗体阴性, HIV 阴性和 HCV 阴性。

[0212] PBMC 的短期培养

[0213] 将来自每个受试者的一小瓶的 PBMC (含 1×10^7 个细胞) 解冻, 并用 Scepter™ 手持自动细胞计数器测定淋巴细胞数量。PBMC 分别在 2mL 的培养基中 (CM: 补充有 5% 人 AB 血清的 RPMI-1640 Glutamax) 在 24 孔细胞培养板中以 1×10^6 个细胞 / mL 的浓度培养共 11 天。细胞用含 144 重叠的 HBV 衍生短肽的肽池 (SEQ ID NO: 73 至 210 和 SEQ ID NO: 142 至 147), 范围为 15-20 个氨基酸长度且以 10 至 13 个氨基酸重叠, 以 $0.1 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{mL}$ 的最终浓度进行刺激。在第 4 天, 分别将 IL-2 和 IL-15 加入到培养物至 10IU/mL 和 10ng/mL 的最终浓度。在第 10 天, 将细胞在 CM 中洗涤两次并用 10IU/mL 的 IL-2 培养额外的一天。在第 11 天, 将细胞在 CM 中洗涤两次, 计数, 并且加入到人 IFN γ ELISpot 测定或细胞内细胞因子染色中。

[0214] 人 IFN γ ELISpot 测定

[0215] 96孔多屏PVDF过滤板(Millipore)在4℃下用100 μL(1:80)的抗人IFN γ 捕获mAb(R&D系统)包被过夜。然后将板在4℃下用补充有1%的BSA和5%的蔗糖的PBS阻断2小时。细胞以 5×10^4 的PBMC/孔被铺板在三份孔中。使用的最终抗原浓度为:23HBV衍生的Densigen相关的短肽池(见下文):5 μg/肽/mL;CEF肽池阳性对照:1 μg/肽/mL;PHA阳性对照:1 μg/mL。ELISpot板在37℃下、5% CO₂湿润的环境中孵育18小时。然后将板洗涤并用100 μL(1:80)的生物素化的抗人IFN γ 检测mAb(R&D系统)在室温下孵育2小时。洗涤后,根据制造商的说明(R&D系统),板用链霉亲和共轭的碱性磷酸酶(1:80)孵育1小时,随后是底物(30分钟)。显影的(生长的)斑点使用自动板计数系统(CTL Europe)计数。

[0216] 表3:池24至46中的肽的识别

[0217]

池	池中短肽的 SEQ ID NOs
24	74、75、76、77、78、79
25	80、81、82、83
26	86、87、88、89
27	94、95、96、97
28	98、99、100、101
29	102、103、104
30	105、106、107、108、109
31	109、110、111、112
32	116、117、118、119
33	120、121、122、123
34	137、138、139、140
35	146、147、148、149、150
36	150、151、152、153、154
37	152、153、154、155、156
38	163、164、165、166
39	169、170、171

[0218]

40	172、173
41	172、173、174、175
42	176、177、178、179
43	179、180、181
44	187、188、189、190、191
45	204、205、206、207、208、209
46	215、216、217、218

[0219] 细胞内细胞因子染色 (ICS) 测定

[0220] 细胞以 5×10^5 PBMC/孔铺板在 96 孔圆底板中且用来自 HBV 衍生的肽池以 $5 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{mL}$ 的最终浓度进行刺激。将板在 5% CO_2 孵育箱中在 37°C 下孵育 20 小时。在该测定的最终 3 小时, 将 PMA/ 离子霉素加入到各孔中且将高尔基插头加入到所有孔中。收获细胞并用 PBS+0.1% BSA (洗涤缓冲液) 洗涤并且用抗 CD3, 抗 CD4 和抗 CD8 (BD Biosciences) 在 4°C 下染色 30 分钟。在另一次洗涤后, 将细胞固定并用 $100 \mu\text{L}$ 的 BD Cytofix/Cytoperm 溶液在 4°C 下渗透 20 分钟, 接着用 $1 \times$ BD Perm/Wash 溶液洗涤两次。最后, 将细胞用抗 IL-2-FITC, 抗 $\text{IFN } \gamma$ -PE 和抗 $\text{TNF } \alpha$ PerCP-Cy5.5 (BD Biosciences) 在 4°C 下染色 30 分钟。在 FACSCanto II 流式细胞仪 (BD Biosciences) 上获得样本。门控是基于用于每个受试者的媒介刺激样本。

[0221] 感染 HBV 基因型的确定

[0222] 在直接核苷酸排序之前的巢式 PCR 方法最初被用于 HBV 基因分型。然而, 由于来自大多数样本的血浆中的低病毒载量, HBV 基因型不能使用这种方法来确定。随后使用 IMMUNIS® HBV 基因型酶免疫测定 (EIA) 试剂盒。这种测定使用了在 HBsAg 的 PreS2 区中的四种基因型依赖性表位, 其中通过特定于所述表位中的每一个的四个 EIA 的阳性 / 阴性组合而在血清学上确定基因型。

[0223] 结果

[0224] 在对 HBV 衍生的短肽池的应答进行筛选之后, 对感兴趣的 35-40mer 区域进行识别。这些区域被进一步评估, 以便在疫苗中使用 35-40mer 肽。进一步的评估涉及在短期培养之后的先前用于再刺激的短肽池的重新设计。延伸超过感兴趣 35-40mer 区域的终端短肽从池中去除, 以便更准确地反映将在疫苗中使用的肽。在利用肽库进行短期培养之后, 和以前一样, 这些短肽池随后被用于人 $\text{IFN } \gamma$ ELISpot 和 ICS 测定中的再刺激。

[0225] 利用池 24 到 46 的再刺激表明对来自 HBV 蛋白质组的终端聚合酶 (池 25 和池 26) 和核心 (池 38 和 39 以及池 41 至 43) 区域的主导 HBV 特异性 T 细胞应答 (图 5)。在利用表面区域池 45 刺激之后也发现 HBV 特异性应答。对应于池 28, 池 32, 池 33, 池 36 和池 37 的聚合酶区域也给出了显著的 T 细胞应答。

[0226] 对池 24 到 46 的 $\text{IFN } \gamma$ ELISpot 应答根据感染 HBV 基因型进行分组 (图 6)。池 27,

28, 29, 32, 35, 36 每一个给出了针对基因型 C 的占优势的应答。池 25 和 26 给出了针对基因型 D 的占优势的应答。池 30 和 31 给出了针对基因型 B 的占优势的应答。池 38, 42, 43 和 44 给出了针对基因型 A 的占优势的应答。一些池倾向于促进针对多于一个的基因型的应答: 对于池 26, 32, 33, 36 和 43 为两种基因型, 对于池 37, 38, 41 和 42 为三种基因型, 或者对于池 25 为甚至四种基因型。

[0227] 对池 24 到 46 的 IFN γ ELISpot 应答根据感染 HBV 基因型进行分组 (图 7)。池 28, 29 和 30 给出了东方 / 印度种族中占优势的应答。池 25, 33, 34, 35 和 37 给出了高加索人中占优势的应答。池 38, 39, 41, 42 和 43 给出了非洲 / 阿拉伯种族中占优势的应答。一些池倾向于促进在多于一个的族群中的应答: 对于池 26, 39 和 43 中的每一个为两个族群或者对于池 25, 38 和 42 中的每一个为三个族群。

[0228] 结果总结在下面的表 4 中。

[0229]

HBV 蛋白质组区域	聚合酶的末端结构域		聚合酶的逆转录酶结构域			聚合酶的 RNase H 结构域	核心蛋白			
池编号	25	26	28	30	31	35	38	39	42	43
肽	P113	P151	P277	P360	P376	P645	P753	P797	P856	P877
SEQ ID NOs:	14 24	15 25	16 60 26 34	17 27	18 28	19 29 35	20 30 36	21 67 31 37	22 32 38	23 33
基因型	A B C D	A D	C	B	B	C	A C D	A B D	A C D	A D
种族	OI C AA	C AA	OI	OI	OI	C	OI C AA	OI AA	OI C AA	C AA

[0230] 表 4: 来自针对在不同的 HBV 基因型 (A, B, C 和 D) 和不同种族 (OI = 东方 / 印度, C = 高加索人, AA = 非洲 / 阿拉伯人) 的患者中 HBV 蛋白质组的选定区域的肽的占优势应答的总结。在区域引发针对多种 HBV 基因型或多个种族的免疫应答的情况下, 占优势的应答是用粗体表示。

[0231] 八个池被选择用于通过细胞内细胞因子染色来进一步分析 T 细胞应答。7 至 14 个受试者之间的 PBMC (取决于在 IFN γ ELISpot 测定之后可用的细胞数) 利用八个池中的一个刺激过夜并且细胞被染色用于表面 CD3, CD4 和 CD8 表达, 连同细胞内 IFN γ , TNF α 和 IL-2 表达 (图 8)。在 CD8 和 CD4 T 细胞群中均发现 IFN γ 表达, 具有对评估的所述肽池的 5/8 和 8/8 的应答的相应广度。类似地, 在 CD8 和 CD4 T 细胞群中均发现 TNF α 表达, 分别具有 3/8 和 6/8 的肽池应答的广度。CD8 T 细胞在肽池刺激之后被发现没有表达 IL-2, 但 CD4 T 细胞在利用 8 个池中的 7 个刺激后表达 IL-2。

[0232] 实施例 3: 碳氟化合物连接的 HBV 肽的组成

[0233] 通过 FMOC (苄基甲氧基碳酰氟) 固相合成来合成具有在 SEQ ID NOs: 24, 25, 28, 33, 34, 36, 37 和 38 和 222 中所示的氨基酸序列的肽。然后, 碳氟化合物链 ($C_8F_{17}(CH_2)_2COOH$) 被引入到每个肽的附加 N-末端赖氨酸的 ϵ 链上以导出碳氟化合物连接的肽。纯化的碳氟

化合物连接的肽或未经修饰的肽通过在三氟乙酸 (TFA) 的存在下切割并经由反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 的最终纯化得到。所有制剂具有 90% 或更高的纯度。

- [0234] FA-P113 :K (FA)-VGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNVTKYLPDKGIK-NH₂ (SEQ ID NO :24) ;
- [0235] FA-P151 :K (FA)-PEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTTRSASF-NH₂ (SEQ ID NO :25) ;
- [0236] FA-P376 :K (FA)-KLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAISSVVRR-NH₂ (SEQ ID NO :28) ;
- [0237] FA-753 (K) :K (FA)-KKKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYRKKK-NH₂ (SEQ ID NO :36) ;
- [0238] FA-P856 (K) :K (FA)-LTFGRETVLEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTKKK-NH₂ (SEQ ID NO :38) ;
- [0239] FA-P877 :K (FA)-PPAYRPPNAPILSTLPETTIVRRRGRSPRRR-NH₂ (SEQ ID NO :33) ;
- [0240] FA-P277 (K) :K (FA)-RVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHKKK-NH₂ (SEQ ID NO :34) ,
- [0241] FA-P797 (K) :K (FA)-SPHHTALRQAILSWGELMTLATWVGSNLEDPASRDKKK-NH₂ (SEQ ID NO :37) ;
- [0242] FA-P1266 (K) :K (FA)-KKKGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSW WTSNLFKKK-NH₂ (SEQ ID NO :222)
- [0243] NP113 :VGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNVTKYLPDKGIK (SEQ ID NO :24) ;
- [0244] NP151 :PEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTTRSASF (SEQ ID NO :25) ;
- [0245] NP376 :KLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAISSVVRR (SEQ ID NO :28) ;
- [0246] NP753 (K) :KKKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYRKKK (SEQ ID NO :36) ;
- [0247] NP856 (K) :LTFGRETVLEYLVSFVWIRTPPAYRPPNAPILSTKKK (SEQ ID NO :38) ;
- [0248] NP877 :PPAYRPPNAPILSTLPETTIVRRRGRSPRRR (SEQ ID NO :33) ;
- [0249] NP277 (K) :RVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHKKK (SEQ ID NO :34) ,
- [0250] NP797 (K) :SPHHTALRQAILSWGELMTLATWVGSNLEDPASRDKKK (SEQ ID NO :37) ;
- [0251] NP1266 (K) :KKKGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSNLFKKK (SEQ ID NO :222).
- [0252] 实施例 4 :长 HBV 肽制剂

[0253] 如下所述,配制疫苗候选物, FP02.1, 其由如实施例 3 中所述制备的九种碳氟化合物共轭的 HBV 衍生肽构成。用于肽溶解的条件描述在表 5 中。简要地说,九种碳氟化合物共轭的肽中的每一种在 5ml 的玻璃小瓶中称量。然后,每一种肽用 2 至 12% 的在水溶液中的乙酸溶解,以达到 10mg 的肽浓度。肽溶液 (对于每种肽为 3.9mL) 在 150mL 的无菌容器中混合,之后加入 3.9mL 的在水中的 10% 乙酸溶液。在用磁力搅拌器搅拌 2 分钟后,加入 39mL 的在水溶液中的 9.0% 甘露醇。在用磁力搅拌器搅拌另外的 2 分钟后,将溶液用 0.22 μm 的 33mm 的 Millex 过滤器进行过滤。1.2mL 的过滤溶液被分送到高压灭菌的 2mL 玻璃小瓶中。通过 RP-HPLC 测量的过滤回收率 > 95%。将小瓶在 -80℃ 下冷冻 1 小时。然后将样本冷冻干燥 36 小时。在氮气氛下进行冷冻干燥通风并且在 400 到 600 毫巴之间的压力下进行小瓶加塞。肽的量为每小瓶 600 μg/肽;在用 1.2mL 复原之后,最终浓度为 500 μg/肽 /ml。

[0254]

肽	总质量 (mg)	肽含量 (%)	净质量 (mg)	目标浓度 (mg/ml)	乙酸 (%)	加入的体 积
FA-P113	46.54	86.8	40.40	20	2	4.040
FA-P151	45.87	88.0	40.37	20	12	4.036
FA-P277(K)	49.76	81.8	40.70	20	4	4.170
FA-P376	47.62	85.3	40.62	20	2	4.062

[0255]

FA-P797(K)	44.69	92.0	41.11	20	2	4.112
FA-P877	49.25	81.9	40.34	20	2	4.034
FA-P753(K)	47.47	85.1	40.40	20	2	4.040
FA-P1266(K)	45.82	86.4	40.45	20	2	4.046
FA-P856(K)	47.02	86.8	40.81	20	2	4.082

[0256] 表 5 :用于制备 FP02.1 的溶解条件

[0257] 实施例 5 :优选的 HBV 肽和混合物在慢性 HBV 携带者中是免疫原性的,而与病情阶段、HBV 病毒的基因型和受试者的种族无关。

[0258] 方法和材料

[0259] 人群

[0260] 临床上定义为慢性 HBV 感染的 40 个受试者被纳入了在伦敦的帝国保健 NHS 信托,切尔西和威斯敏斯特医院 NHS 信托基金会以及巴兹和伦敦 NHS 信托中的 REC- 批准的协议。在来自所有受试者的书面知情同意后,新鲜的静脉血被采集并且 PBMC 和血浆被分离并且在采血的 18 小时内被冻存。这些受试者符合以下标准:良好的一般健康状况,HBV 特异性治疗:在临床指征情况下抗病毒核苷(酸)类似物抑制剂和/或干扰素治疗,临床状态(慢性 HBV 感染,HBsAg 阴性,以及 ALT 正常、持续或间歇性升高),HIV 阴性,HCV 阴性和 HDV 阴性。

[0261] PBMC 的短期培养

[0262] 来自每个受试者的一个小瓶的 PBMC (含 1×10^7 个细胞) 被解冻,并用 Scepter™ 手持自动细胞计数器测定淋巴细胞数量。PBMC 在 2mL 的培养基 (CM: 补充有 5% 人 AB 血清的 RPMI-1640 Glutamax) 中在 24 孔细胞培养板中以 1×10^6 个细胞 /mL 的浓度培养共 11 天。细胞用实施例 3 中所描述的九种 HBV 衍生的长肽的混合物刺激。

[0263] 以 $0.1 \mu\text{g}/\text{肽}/\text{mL}$ 的最终浓度使用每一种肽。在第 4 天,分别将 IL-2 和 IL-15 加入到培养物中至 10IU/mL 和 10ng/mL 的最终浓度。在第 10 天,将细胞在 CM 中洗涤两次并用 10IU/mL 的 IL-2 培养额外的一天。在第 11 天,将细胞在 CM 中洗涤两次,计数,并且加入到人 IFN γ (干扰素 γ) ELISpot 测定或细胞内细胞因子染色中。

[0264] 人 IFN γ ELISpot 测定

[0265] 96 孔多屏 PVDF 过滤板 (Millipore) 在 4℃ 下用 100 μL (1:80) 的抗人 IFN γ 捕获

mAb (R&D 系统) 包被过夜。然后将板在 4℃ 用补充有 1% 的 BSA 和 5% 的蔗糖的 PBS 阻断 2 小时。来自短期培养的细胞以 5×10^4 PBMC/孔被铺板在三份孔中。使用的最终抗原浓度为: 对于每一单独的肽为 5 μ g/mL; PHA 阳性对照: 1 μ g/mL。ELISpot 板在 37℃、5% CO₂ 湿润的环境中孵育 18 小时。然后将板洗涤并用 100 μ L (1:80) 的生物素化的抗人 IFN γ 检测 mAb (R&D 系统) 在室温选孵育 2 小时。洗涤后, 根据制造商的说明 (R&D 系统), 板用链霉亲和共轭的碱性磷酸酶 (1:80) 孵育 1 小时, 随后是底物 (30 分钟)。显影斑点使用自动板计数系统 (CTL Europe) 计数。

[0266] 细胞内细胞因子染色 (ICS) 测定

[0267] 来自短期培养的细胞以 5×10^5 PBMC/孔铺板在 96 孔圆底板中且由 9 种 HBV 衍生的长肽 (NP113, NP151, NP277 (K), NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K), NP877 和 NP1266 (K)) 以 5 μ g/mL 的最终浓度进行刺激。将板在 5% CO₂ 孵育箱中在 37℃ 下孵育 20 小时。在该测定的最终 3 小时, 将 PMA/离子霉素加入到各孔中且将高尔基插头加入到所有孔中。收获细胞并用 PBS+0.1% BSA (洗涤缓冲液) 洗涤以及用抗 CD3, 抗 CD4 和抗 CD8 (BD Biosciences) 在 4℃ 下染色 30 分钟。在另一次洗涤后, 将细胞固定并用 100 μ L 的 BD Cytofix/Cytoperm 溶液在 4℃ 下渗透 20 分钟, 接着用 1 $\times$ BD Perm/Wash 溶液洗涤两次。最后, 将细胞用抗 IL-2-FITC, 抗 IFN γ -PE 和抗 TNF α PerCP-Cy5.5 (BD Biosciences) 在 4℃ 下染色 30 分钟。在 FACSCanto II 流式细胞仪 (BD Biosciences) 上获得样本。门控是基于用于每个受试者的媒介刺激样本。

[0268] 感染 HBV 基因型的确定

[0269] 在直接核苷酸排序之前的巢式 PCR 方法最初被用于 HBV 基因分型。然而, 由于在来自大多数样本的血浆中的低病毒载量, HBV 基因型不能使用这种方法来确定。随后使用 IMMUNIS® HBV 基因型酶免疫测定 (EIA) 试剂盒。这种测定使用了在 HBsAg 的 PreS2 区中的四种基因型依赖性表位, 其中通过特异于所述表位中的每一个的四个 EIA 的阳性/阴性组合来血清学上确定基因型。

[0270] 结果

[0271] 所有肽促进了 HBV 携带者 (HBeAg 阴性无活动携带者或 HBeAg 阴性治疗受试者) 中的可检测的 T 细胞应答 (参见图 9 和图 10)。在测试的不同肽中, NP113, NP151, NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K) 和 NP877 促进两种患者群体和最高比例受试者中应答的最高水平。令人惊讶的是, 与测试的两种肽的任何其它组合相比, 对 NP113 和 NP151 的累积应答在两个群体中更高。此外, 与测试的三种肽的任何其他组合相比, 对 NP113, NP151 和 NP376 的累积应答在两个群体中诱导了最高水平的应答。如图 11 中所示, 所有测试的肽促进了所有四个 HBV 基因型的交叉反应性 T 细胞应答。与肽 NP2777 (K) 和 NP1226 (K) 相比, 肽 NP113, NP151, NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K) 和 NP877 促进了所有四个基因型 A, B, C 和 D 的最高应答。令人惊讶地, 与所有其他肽相比, P113 促进了所有四个基因型的最高 T 细胞应答。

[0272] 图 12 示出了所有的肽促进了测试的所有种族的 T 细胞应答。与 NP277 (K) 和 NP1266 (K) 相比, 肽 NP113, NP151, NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K) 和 NP877 促进了所有三个种族的最高应答。

[0273] 此外, 所有九种肽示出了如通过所有 HBV 基因型的细胞内细胞因子染色测得的促

进 Th1 型细胞因子产生 CD4 和 / 或 CD8 T 细胞应答的能力 (图 13)。

[0274] 实施例 6 :与未共轭的肽相比,碳氟化合物共轭的肽的优势在于其促进体内 T 细胞应答的能力

[0275] 方法和材料

[0276] 将在 FP02.1 (含 9 种碳氟化合物共轭的肽) 的小鼠中的免疫原性与 NP02.1 (含 9 种等价的未共轭肽) 进行比较。雌性 BALB/c 小鼠 ($n = 7$ 只 / 组) 利用 FP02.1 在 50 μ L 的体积中每种肽 50 μ g 的剂量或利用 NP02.1 (含有未共轭的 HBV 肽 (NP113, NP151, NP277 (K), NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K), NP877 和 NP1266 (K)) 在 50 μ L 的体积中每种肽 43.8 μ g (与 FP02.1 相比) 等摩尔的剂量进行肌肉免疫。小鼠在第 0 天进行免疫并且在第 14 天被处死。在 ELISpot 测定中,脾细胞利用实施例 3 中所述的九种 HBV 肽中的每一种的混合物以 5 μ g/mL/ 肽体外刺激 18 小时。

[0277] 可替代地,在 ELISpot 测定中,脾细胞利用九种单独的肽以 5 μ g/mL/ 肽体外刺激 18 小时。IFN γ ⁺ 斑点形成细胞 (SFC) 的数量被计数。平板然后用 PBS 洗涤,用 IFN γ 检测过氧化物酶标记的抗体孵育,接着是底物 (根据制造商的说明)。显影的斑点使用自动板计数系统 (CTL Europe) 来计数以量化 IFN γ ⁺ SFC 的数量。

[0278] 结果

[0279] 在利用碳氟化合物共轭的肽 (FP02.1) 的混合物进行免疫的小鼠中观察到比未共轭的肽 (NP02.1) 的相当的混合物显著更高幅度的 T 细胞应答 (参见图 14)。在同基因 BALB/C 模型中由于 MHC 限制,免疫应答由包含在疫苗中的所述九种肽中的四种 (肽 NP113, NP151, NP376 和 NP1266 (K) ;参见图 15) 主导。

[0280] 由 FP02.1 诱导的应答通过肽 NP113, NP151, NP376 和 NP1266 (K) 主导。令人惊奇的是,针对肽 P113 和 P376 的免疫应答仅利用含有碳氟化合物共轭的肽的制剂观察到 (参见图 15)。

[0281] 总之,与相当的未共轭的肽相比,碳氟化合物载体与 HBV 衍生的肽序列的共轭促进更高和更广泛的 T 细胞应答。

[0282] 实施例 7 :碳氟化合物共轭的肽促进 CTL/CD8⁺T 细胞应答

[0283] 方法和材料

[0284] 由 FP02.1 (含九种碳氟化合物共轭的肽) 诱导的免疫应答的质量在小鼠中进行评估。雌性 BALB/c 小鼠 ($n = 7$ 只 / 组) 利用 FP02.1 在 50 微升的体积中每种肽 25 μ g 的剂量被肌肉免疫。小鼠在第 0 天被免疫并且第 14 天被处死。

[0285] 在 ELISpot 测定中,脾细胞利用从肽 NP113 (CTL1 KYLPLDKGI) 衍生的 CTL 表位或从 NP151 (CTL2 HYFQTRHYL) 衍生的 CTL 表位以 10^1 至 10^{-9} μ g/mL 的浓度范围体外刺激 18 小时。对 IFN γ ⁺ SFC 的数量进行计数。然后用 PBS 洗涤平板,用 IFN γ 检测过氧化物酶标记的抗体孵育,然后是底物 (根据制造商的说明)。所显影的斑点使用自动板计数系统 (CTL Europe) 来计数以量化 IFN γ ⁺ SFC 的数量。

[0286] 结果

[0287] 如图 16 中所示,FP02.1 促进单次免疫后对由 MHC I 类分子限制的 CTL 表位的 T 细胞应答。

[0288] 实施例 8 :包含在同一制剂中的碳氟化合物 - 肽之间的协同作用

[0289] 方法和材料

[0290] 在 小 鼠 中 评 估 在 小 鼠 中 单 独 给 予 的 或 作 为 与 其 它 碳 氟 化 合 物 - 共 轭 的 肽 (FP02.1) 的 共 制 剂 的 一 部 分 给 予 的 FA-P113 的 免 疫 原 性。利 用 在 50 微 升 的 体 积 中 25 μ g/ 肽 剂 量 的 FA-P113 或 25 μ g/ 肽 剂 量 的 FP02.1 对 雌 性 BALB/c 小 鼠 ($n = 7$ 只 / 组) 进 行 肌 内 免 疫。小 鼠 在 第 0 天 被 免 疫 并 且 在 第 14 天 被 处 死。在 ELISpot 测 定 中, 脾 细 胞 利 用 NP113 (未 共 轭 到 碳 氟 化 合 物 载 体) 以 5 μ g/mL 体 外 刺 激 18 小 时。对 $\text{IFN } \gamma^+$ SFC 的 数 量 进 行 计 数。然 后 用 PBS 洗 涤 平 板, 用 $\text{IFN } \gamma$ 检 测 过 氧 化 物 酶 标 记 的 抗 体 孵 育, 接 着 是 底 物 (根 据 制 造 商 的 说 明)。显 影 的 斑 点 使 用 自 动 板 计 数 系 统 (CTL Europe) 来 计 数 以 量 化 $\text{IFN } \gamma^+$ SFC 的 数 量。

[0291] 结果

[0292] 在 利 用 碳 氟 化 合 物 共 轭 的 肽 (FP02.1) 的 混 合 物 免 疫 的 小 鼠 中 观 察 到 比 单 独 的 FA-P113 更 高 幅 度 的 NP-113 特 异 性 T 细 胞 应 答 (参 见 图 17)。

[0293] 实施例 9: 优选的 HBV 肽和组合含有具有结合至广泛范围的 HLA I 类分子的能力的表位

[0294] 方法和材料

[0295] ProImmune REVEAL 结 合 测 定 被 用 于 确 定 九 种 氨 基 酸 的 短 肽 的 能 力 (衍 生 自 HBV 长 肽 NP113, NP151, NP277 (K), NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K), NP877 和 NP1266 (K)), 以 结 合 一 种 或 多 种 MHC I 类 等 位 基 因 并 稳 定 MHC- 肽 复 合 物。检 测 是 基 于 MHC 肽 复 合 物 的 天 然 构 象 的 存 在 或 不 存 在。高 度 频 繁 的 HLA- I 类 等 位 基 因 (HLA-A*0201, A*0301, A*1101, A*2402, B*0702, B*0801 和 B*3501) 被 选 定。结 合 到 MHC 分 子 与 已 知 的 T 细 胞 表 位, 阳 性 对 照 肽 进 行 比 较, 其 具 有 非 常 强 的 结 合 性 质。对 于 每 种 HBV 肽 的 所 有 潜 在 九 聚 物 (NP113, NP151, NP277 (K), NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K), NP877 和 NP1266 (K)), 除 了 那 些 含 有 不 存 在 于 共 有 HBV 序 列 中 的 额 外 赖 氨 酸, 以 纯 度 >90% 来 合 成。试 验 肽 的 得 分 被 定 量 报 告 为 由 阳 性 对 照 肽 产 生 的 信 号 的 百 分 比, 并 且 该 肽 被 指 示 为 具 有 推 定 的 合 格 或 不 合 格 结 果。良 好 的 结 合 剂 被 认 为 是 如 ProImmune 定 义 的 具 有 阳 性 对 照 的 45% 分 数 的 那 些 肽。

[0296] 结果

[0297] 表 6 中 所 示 的 结 果 表 示 衍 生 自 对 于 每 种 HLA 等 位 基 因 具 有 结 合 得 分 $\geq 45\%$ 的 每 种 HBV 长 肽 (NP113, NP151, NP277, NP376, NP753, NP797, NP856, NP877 和 NP1266) 的 九 聚 体 的 数 目。所 有 的 长 的 HBV 肽 含 有 具 有 结 合 至 少 4 种 等 位 基 因 的 能 力 的 至 少 六 种 表 位。六 种 长 肽 的 任 何 组 合 包 含 具 有 结 合 测 试 的 所 有 等 位 基 因 的 能 力 的 九 聚 物 表 位。

[0298]

长肽	HLA -A*0 201	HLA -A*0 301	HLA -A*1 101	HLA -A*2 402	HLA -B*0 702	HLA-B *0801	HLA-B* 3501	HLA 结 合剂的 数量(a)	等位基因 的数量 (b)
NP113	2	3	5	3	2	3	2	20	7
NP797 (K)	6	1	1	5	4	3	2	22	7
NP151	3	4	3	4	3	4	0	21	6
NP376	8	0	1	10	4	6	6	35	6

[0299]

NP753 (K)	3	0	1	3	1	1	1	10	6
NP126 6(K)	6	3	3	9	0	1	2	24	6
NP277 (K)	6	0	0	5	3	1	3	18	5
NP856 (K)	4	0	0	4	2	1	0	11	4
NP877	2	0	0	2	1	1	0	6	4

[0300] 表 6 :衍生自对于每个 HLA I 类等位基因具有结合得分 $\geq 45\%$ 的每种 HBV 长肽 (NP113, NP151, NP277 (K), NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K), NP877 和 NP1266 (K)) 的九聚物的数目。(a) 表示对于每种长肽被检测到的结合表位总数, (b) 表示对于每种长肽其阳性结合被检测到的等位基因数

[0301] 实施例 10 :优选的 HBV 肽和组合含有具有结合广泛范围的 HLA 类 II 分子的能力的表位

[0302] 方法

[0303] ProImmune REVEAL® MHC-肽结合测定被用来确定每种 HBV 长肽 (NP113, NP151, NP277 (K), NP376, NP753 (K), NP797 (K), NP856 (K), NP877 和 NP1266 (K)) 结合一种或多种 MHC II 类等位基因和稳定 MHC-肽复合物的能力。高度频繁的 HLA II 类等位基因 HLA-DR1 (α 1*01:01 ; β 1*01:01), HLA-DR15 (α 1*01:01 ; β 1*15:01), HLA-DR3 (α 1*01:01 ; β 1*01:01), HLA-DR4 (α 1*01:01 ; β 1*04:01), HLA-DR11 (α 1*01:01 ; β 1*11:01), HLA-DR13 (α 1*01:01 ; β 1*13:01) 和 HLA-DR7 (α 1*01:01 ; β 1*07:01) 被选中。每种肽给出相对于阳性对照肽的分数,其是已知的 T 细胞表位。试验肽的得分被定量报告为由阳性对照肽产生的信号的百分比,并且该肽被指示为具有推定的合格或不合格结果。良好的结

合剂被认为是如 ProImmune 定义的具有阳性对照的 $\geq 15\%$ 分数的那些肽。

[0304] 结果

[0305] 表 7 中所示的结果表示在 HLA II 类等位基因整个范围中每种 HBV 长肽 (NP113, NP151, NP277(K), NP376, NP753(K), NP797(K), NP856(K), NP877 和 NP1266(K)) 的结合得分。所述九种 HBV 肽中的六种以 $\geq 15\%$ 的得分结合至少一种 HLA 等位基因。NP113, NP151 和 NP376 结合到多于 3 种的不同的 HLA II 类等位基因。出人意料的是, NP113 结合至总共 6 种等位基因。肽 NP113 和 NP877 的组合结合至测试的所有 HLA II 类等位基因。

[0306]

长肽	HLA-DR1 ($\alpha 1^*01:01$; $\beta 1^*01:01$)	HLA-DR15 ($\alpha 1^*01:01$; ; $\beta 1^*15:01$)	HLA-DR3 ($\alpha 1^*01:01$; $\beta 1^*01:01$)	HLA-DR4 ($\alpha 1^*01:01$; $\beta 1^*04:01$)	HLA-DR11 ($\alpha 1^*01:01$; ; $\beta 1^*11:01$)	HLA-DR13 ($\alpha 1^*01:01$; ; $\beta 1^*13:01$)	HLA-DR7 ($\alpha 1^*01:01$; $\beta 1^*07:01$;)	等位 基因的 数量 (a)
NP113	54.44	28.04	49.98	33.51	52.86	0.00	99.17	6
NP151	14.59	38.96	0.00	74.36	49.16	0.00	19.41	4
NP277(K)	0.49	0.18	0.10	36.19	1.25	0.00	0.01	1
NP376	27.71	6.29	0.00	53.66	31.38	0.00	8.83	3
NP753(K)	0.11	0.00	0.00	0.65	1.51	0.00	0.00	0
NP797(K)	0.20	1.14	0.00	6.65	2.86	0.00	0.01	0
NP856(K)	2.33	5.71	0.13	10.72	0.33	0.00	0.40	0
NP877	0.24	0.09	5.58	0.04	4.98	16.34	2.78	1
NP1266(K)	1.48	0.64	0.00	11.22	21.64	0.00	0.62	1

[0307] 表 7:HBV 肽与一定范围的 HLA II 类分子的结合。阳性结合被定义为得分 $\geq 15\%$, (a) 表示对于每种长肽其阳性结合被检测到的等位基因的数量。

[0001]

序列表

<110> 瓦克辛英国有限公司

<120> 抗乙型肝炎病毒的疫苗

<130> PN1550180PZC

<140> PCT/GB2013/053410

<141> 2013-12-20

<150> GB1223386.2

<151> 2012-12-24

<160> 222

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 94

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 1

Gln Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro
20 25 30

Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Val Val Asn His
35 40 45

Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile
50 55 60

Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro
65 70 75 80

Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln Ser Cys Trp Trp Leu Gln
85 90

<210> 2

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<220>

<221> MISC FEATURE

<222> (183).. (183)

<223> C OR S

<400> 2

Cys Thr Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala
1 5 10 15

Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr
20 25 30

[0002]

Thr Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Asn
 35 40 45
 Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu
 50 55 60
 Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser
 65 70 75 80
 Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro His Leu
 85 90 95
 Leu Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu Ser Ser
 100 105 110
 Asn Ser Arg Ile Ile Asn Asn Gln His Gly Thr Met Gln Asn Leu His
 115 120 125
 Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Met Leu Leu Tyr Lys
 130 135 140
 Thr Tyr Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Gly
 145 150 155 160
 Phe Arg Lys Ile Pro Met Gly Val Gly Leu Ser Pro Phe Leu Leu Ala
 165 170 175
 Gln Phe Thr Ser Ala Ile Xaa Ser Val Val Arg Arg Ala Phe Pro His
 180 185 190
 Cys Leu Ala Phe Ser Tyr Met Asp Asp Val Val Leu Gly Ala Lys Ser
 195 200 205
 Val Gln His Leu Glu Ser Leu Tyr
 210 215
 <210> 3
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> HBV共有序列
 <400> 3
 Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Leu Ile Gly Thr Asp
 1 5 10 15
 Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu
 20 25 30
 Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val
 35 40 45
 Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly
 50 55 60

[0003]

```

Leu Tyr Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg
65                               70                               75                               80

Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val Pro Ser His Leu Pro Asp
                               85                               90                               95

Arg Val His Phe Ala Ser Pro Leu His Val Ala Trp Arg
                               100                              105

<210> 4
<211> 210
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (41)..(41)
<223> S OR T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(90)
<223> C OR S

<400> 4

Met Gln Leu Phe His Leu Cys Leu Ile Ile Ser Cys Ser Cys Pro Thr
1                               5                               10                               15

Val Gln Ala Ser Lys Leu Cys Leu Gly Trp Leu Trp Gly Met Asp Ile
                               20                               25                               30

Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Xaa Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu
35                               40                               45

Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser
50                               55                               60

Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His
65                               70                               75                               80

His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Xaa Trp Gly Glu Leu Met Thr
                               85                               90                               95

Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Asp
100                              105                              110

Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln
115                              120                              125

Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val
130                              135                              140

Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala
145                              150                              155                              160

Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr
165                              170                              175

```

[0004]

Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro
180 185 190

Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg
195 200 205

Glu Ser
210

<210> 5
<211> 53
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 5

Gln Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro
20 25 30

Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Val Val Asn His
35 40 45

Tyr Phe Gln Thr Arg
50

<210> 6
<211> 54
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 6

Tyr Pro Glu His Val Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu
1 5 10 15

His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg
20 25 30

Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln
35 40 45

Ser Cys Trp Trp Leu Gln
50

<210> 7
<211> 67
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列

<400> 7

[0005]

Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr
1 5 10 15

Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala
20 25 30

Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro His Leu Leu
35 40 45

Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu Ser Ser Asn
50 55 60

Ser Arg Ile
65

<210> 8
<211> 53
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 8

Gly Thr Met Gln Asn Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val
1 5 10 15

Ser Leu Met Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr
20 25 30

Ser His Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys Ile Pro Met Gly Val Gly
35 40 45

Leu Ser Pro Phe Leu
50

<210> 9
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<220>
<221> MISC FEATURE
<222> (62)..(62)
<223> C OR S

<400> 9

Gly Thr Met Gln Asn Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val
1 5 10 15

Ser Leu Met Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr
20 25 30

Ser His Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys Ile Pro Met Gly Val Gly
35 40 45

[0006]

Leu Ser Pro Phe Leu Leu Ala Gln Phe Thr Ser Ala Ile Xaa Ser Val
50 55 60

Val Arg Arg Ala Phe Pro His Cys Leu Ala Phe Ser Tyr Met Asp Asp
65 70 75 80

Val Val Leu Gly Ala Lys Ser Val Gln His Leu Glu Ser Leu Tyr
85 90 95

<210> 10
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (41).. (41)
<223> S OR T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90).. (90)
<223> C OR S

<400> 10

Met Gln Leu Phe His Leu Cys Leu Ile Ile Ser Cys Ser Cys Pro Thr
1 5 10 15

Val Gln Ala Ser Lys Leu Cys Leu Gly Trp Leu Trp Gly Met Asp Ile
20 25 30

Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Xaa Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu
35 40 45

Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser
50 55 60

Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His
65 70 75 80

His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Xaa Trp Gly Glu Leu Met Thr
85 90 95

Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser
100 105 110

<210> 11
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44).. (44)
<223> C OR S

[0007]

<400> 11

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr
1 5 10 15

Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser
20 25 30

Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Xaa Trp Gly Glu Leu
35 40 45

Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser
50 55 60

Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys Ile
65 70 75 80

Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu
85 90 95

Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro
100 105 110

Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu
115 120

<210> 12

<211> 102

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 12

Ala Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu
1 5 10 15

Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly
20 25 30

Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg
35 40 45

Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu
50 55 60

Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg
65 70 75 80

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
85 90 95

Ser Gln Ser Arg Glu Ser
100

<210> 13

<211> 54

<212> PRT

[0008]

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 13

Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu
1 5 10 15

Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg
20 25 30

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
35 40 45

Ser Gln Ser Arg Glu Ser
50

<210> 14

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 14

Gln Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro
20 25 30

Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr
35 40

<210> 15

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 15

Tyr Pro Glu His Val Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu
1 5 10 15

His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg
20 25 30

Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser
35

<210> 16

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

[0009]

<400> 16

Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr
 1 5 10 15

Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala
 20 25 30

Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala
 35 40

<210> 17

<211> 47

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 17

Gly Thr Met Gln Asn Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val
 1 5 10 15

Ser Leu Met Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr
 20 25 30

Ser His Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys Ile Pro Met Gly Val
 35 40 45

<210> 18

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (35)..(35)

<223> C OR S

<400> 18

Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys Ile
 1 5 10 15

Pro Met Gly Val Gly Leu Ser Pro Phe Leu Leu Ala Gln Phe Thr Ser
 20 25 30

Ala Ile Xaa Ser Val Val Arg Arg
 35 40

<210> 19

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 19

Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser

[0010]

1	5	10	15
Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly Leu Tyr	20	25	30
Arg Pro Leu Leu Arg Leu	35		
<210> 20			
<211> 38			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> HBV共有序列			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (6)..(6)			
<223> S OR T			
<400> 20			
Lys Glu Phe Gly Ala Xaa Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp	1	5	10
Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr	20	25	30
Arg Glu Ala Leu Glu Ser	35		
<210> 21			
<211> 60			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> HBV共有序列			
<220>			
<221> MISC_FEATURE			
<222> (15)..(15)			
<223> C OR S			
<400> 21			
His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Xaa Trp	1	5	10
Gly Glu Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp	20	25	30
Pro Ala Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly	35	40	45
Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser	50	55	60
<210> 22			
<211> 41			
<212> PRT			
<213> 人工序列			

[0011]

<220>
 <223> HBV共有序列
 <400> 22
 Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe
 1 5 10 15
 Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro
 20 25 30
 Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr
 35 40
 <210> 23
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> HBV共有序列
 <400> 23
 Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu
 1 5 10 15
 Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg
 20 25 30
 Thr
 <210> 24
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> HBV共有序列
 <400> 24
 Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met
 1 5 10 15
 Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys
 20 25 30
 Gly Ile Lys
 35
 <210> 25
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> HBV共有序列
 <400> 25
 Pro Glu His Val Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His
 1 5 10 15

[0012]

Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser
20 25 30

Ala Ser Phe
35

<210> 26
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 26

Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr
1 5 10 15

Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala
20 25 30

Ala Phe Tyr His
35

<210> 27
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 27

Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Met Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Gly
1 5 10 15

Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys
20 25 30

Ile Pro Met Gly Val
35

<210> 28
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 28

Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys Ile
1 5 10 15

Pro Met Gly Val Gly Leu Ser Pro Phe Leu Leu Ala Gln Phe Thr Ser
20 25 30

Ala Ile Ser Ser Val Val Arg Arg
35 40

[0013]

<210> 29
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 29

Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala
1 5 10 15

Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly Leu Tyr Arg
20 25 30

Pro Leu Leu Arg
35

<210> 30
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 30

Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr
20 25 30

Arg

<210> 31
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 31

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Ser Trp Gly Glu
1 5 10 15

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala
20 25 30

Ser Arg Asp
35

<210> 32
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 32

[0014]

Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly
1 5 10 15

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
20 25 30

Leu Ser Thr
35

<210> 33
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 33

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
1 5 10 15

Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg
20 25 30

<210> 34
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 34

Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr
1 5 10 15

Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala
20 25 30

Ala Phe Tyr His Lys Lys Lys
35

<210> 35
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 35

Lys Lys Lys Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val
1 5 10 15

Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly
20 25 30

Leu Tyr Arg Pro Leu Leu Arg
35

[0015]

<210> 36
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 36

Lys Lys Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro
 1 5 10 15

Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala
 20 25 30

Leu Tyr Arg Lys Lys Lys
 35

<210> 37
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 37

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Ser Trp Gly Glu
 1 5 10 15

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala
 20 25 30

Ser Arg Asp Lys Lys Lys
 35

<210> 38
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 38

Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly
 1 5 10 15

Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile
 20 25 30

Leu Ser Thr Lys Lys Lys
 35

<210> 39
 <211> 1468
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 39

[0016]

```

Met Pro Leu Ser Tyr Gln His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Asp
1           5           10           15

Glu Ala Gly Pro Leu Glu Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly
20           25           30

Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val
35           40           45

Ser Ile Pro Trp Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Ser
50           55           60

Ser Thr Val Pro Val Phe Asn Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe Pro
65           70           75           80

His Ile His Leu Gln Glu Asp Ile Ile Asn Arg Cys Gln Gln Phe Val
85           90           95

Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro
100          105          110

Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly
115          120          125

Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Val Val Asn His Tyr Phe Gln Thr
130          135          140

Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg
145          150          155          160

Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu
165          170          175

Gln Glu Leu Gln Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro
180          185          190

Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Ser His Ile Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp
195          200          205

Gly Pro Cys Thr Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr
210          215          220

Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His
225          230          235          240

Asn Thr Thr Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg
245          250          255

Gly Asn Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln
260          265          270

Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp
275          280          285

Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro
290          295          300

```

[0017]

His Leu Leu Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu
 305 310 315 320
 Ser Ser Asn Ser Arg Ile Ile Asn Asn Gln His Gly Thr Met Gln Asn
 325 330 335
 Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Met Leu Leu
 340 345 350
 Tyr Lys Thr Tyr Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile
 355 360 365
 Leu Gly Phe Arg Lys Ile Pro Met Gly Val Gly Leu Ser Pro Phe Leu
 370 375 380
 Leu Ala Gln Phe Thr Ser Ala Ile Cys Ser Val Val Arg Arg Ala Phe
 385 390 395 400
 Pro His Cys Leu Ala Phe Ser Tyr Met Asp Asp Val Val Leu Gly Ala
 405 410 415
 Lys Ser Val Gln His Leu Glu Ser Leu Tyr Thr Ala Val Thr Asn Phe
 420 425 430
 Leu Leu Ser Leu Gly Ile His Leu Asn Pro Asn Lys Thr Lys Arg Trp
 435 440 445
 Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val Ile Gly Ser Trp Gly Thr
 450 455 460
 Leu Pro Gln Glu His Ile Val Gln Lys Ile Lys Gln Cys Phe Arg Lys
 465 470 475 480
 Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp Trp Lys Val Cys Gln Arg Ile Val
 485 490 495
 Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro Phe Thr Gln Cys Gly Tyr Pro Ala
 500 505 510
 Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile Gln Ala Lys Gln Ala Phe Thr Phe
 515 520 525
 Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Cys Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr
 530 535 540
 Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala
 545 550 555 560
 Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Ile Gly His Gln Arg Met Arg Gly
 565 570 575
 Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala
 580 585 590
 Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Leu Ile Gly Thr Asp Asn

[0018]

595	600	605
Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly 610	615	620
Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro 625	630	635 640
Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly Leu 645	650	655
Tyr Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg Thr 660	665	670
Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val Pro Ser His Leu Pro Asp Arg 675	680	685
Val His Phe Ala Ser Pro Leu His Val Ala Trp Arg Pro Pro Met Gln 690	695	700
Leu Phe His Leu Cys Leu Ile Ile Ser Cys Ser Cys Pro Thr Val Gln 705	710	715 720
Ala Ser Lys Leu Cys Leu Gly Trp Leu Trp Gly Met Asp Ile Asp Pro 725	730	735
Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser 740	745	750
Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu 755	760	765
Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His His Thr 770	775	780
Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu Met Thr Leu Ala 785	790	795 800
Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Asp Leu Val 805	810	815
Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu 820	825	830
Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu 835	840	845
Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg 850	855	860
Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val 865	870	875 880
Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg 885	890	895

[0019]

Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser
 900 905 910
 Gln Cys Met Ala Ala Arg Leu Cys Cys Gln Leu Asp Pro Ala Arg Asp
 915 920 925
 Val Leu Cys Leu Arg Pro Val Gly Ala Glu Ser Arg Gly Arg Pro Leu
 930 935 940
 Ser Gly Pro Leu Gly Thr Leu Pro Ser Pro Ser Pro Ser Ala Val Pro
 945 950 955 960
 Ala Asp His Gly Ala His Leu Ser Leu Arg Gly Leu Pro Val Cys Ala
 965 970 975
 Phe Ser Ser Ala Gly Pro Cys Ala Leu Arg Phe Thr Ser Ala Arg Arg
 980 985 990
 Met Glu Thr Thr Val Asn Ala His Gln Ile Leu Pro Lys Val Leu His
 995 1000 1005
 Lys Arg Thr Leu Gly Leu Ser Ala Met Ser Thr Thr Asp Leu Glu
 1010 1015 1020
 Ala Tyr Phe Lys Asp Cys Val Phe Lys Asp Trp Glu Glu Leu Gly
 1025 1030 1035
 Glu Glu Ile Arg Leu Lys Val Phe Val Leu Gly Gly Cys Arg His
 1040 1045 1050
 Lys Leu Val Cys Ser Pro Ala Pro Cys Asn Phe Phe Thr Ser Ala
 1055 1060 1065
 Met Gly Gly Trp Ser Ser Lys Pro Arg Lys Gly Met Gly Thr Asn
 1070 1075 1080
 Leu Ser Val Pro Asn Pro Leu Gly Phe Phe Pro Asp His Gln Leu
 1085 1090 1095
 Asp Pro Ala Phe Arg Ala Asn Ser Asn Asn Pro Asp Trp Asp Phe
 1100 1105 1110
 Asn Pro Asn Lys Asp Gln Trp Pro Ala Ala Asn Gln Val Gly Val
 1115 1120 1125
 Gly Ala Phe Gly Pro Gly Phe Thr Pro Pro His Gly Gly Leu Leu
 1130 1135 1140
 Gly Trp Ser Pro Gln Ala Gln Gly Ile Leu Thr Thr Val Pro Ala
 1145 1150 1155
 Asp Pro Pro Pro Ala Ser Thr Asn Arg Gln Ser Gly Arg Gln Pro
 1160 1165 1170
 Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met
 1175 1180 1185

[0020]

Gln Trp	Asn Ser Thr Thr Phe	His Gln Ala Leu	Gln Asp Pro Arg
1190	1195	1200	
Val Arg	Gly Leu Tyr Phe Pro	Ala Gly Gly Ser Ser	Ser Gly Thr
1205	1210	1215	
Val Asn	Pro Ala Pro Thr Thr	Ala Ser Leu Ile Ser	Ser Ile Phe
1220	1225	1230	
Ser Arg	Thr Gly Asp Pro Ala	Pro Asn Met Glu Asn	Ile Thr Ser
1235	1240	1245	
Gly Phe	Leu Gly Pro Leu Leu	Val Leu Gln Ala Gly	Phe Phe Leu
1250	1255	1260	
Leu Thr	Lys Ile Leu Thr Ile	Pro Gln Ser Leu Asp	Ser Trp Trp
1265	1270	1275	
Thr Ser	Leu Asn Phe Leu Gly	Gly Thr Pro Val Cys	Leu Gly Gln
1280	1285	1290	
Asn Ser	Gln Ser Pro Thr Ser	Asn His Ser Pro Thr	Ser Cys Pro
1295	1300	1305	
Pro Ile	Cys Pro Gly Tyr Arg	Trp Met Cys Leu Arg	Arg Phe Ile
1310	1315	1320	
Ile Phe	Leu Phe Ile Leu Leu	Leu Cys Leu Ile Phe	Leu Leu Val
1325	1330	1335	
Leu Leu	Asp Tyr Gln Gly Met	Leu Pro Val Cys Pro	Leu Ile Pro
1340	1345	1350	
Gly Ser	Ser Thr Thr Ser Thr	Gly Pro Cys Lys Thr	Cys Thr Thr
1355	1360	1365	
Pro Ala	Gln Gly Thr Ser Met	Phe Pro Ser Cys Cys	Cys Thr Lys
1370	1375	1380	
Pro Ser	Asp Gly Asn Cys Thr	Cys Ile Pro Ile Pro	Ser Ser Trp
1385	1390	1395	
Ala Phe	Gly Lys Tyr Leu Trp	Glu Trp Ala Ser Ala	Arg Phe Ser
1400	1405	1410	
Trp Leu	Ser Leu Leu Val Pro	Phe Val Gln Trp Phe	Val Gly Leu
1415	1420	1425	
Ser Pro	Thr Val Trp Leu Ser	Val Ile Trp Met Met	Trp Tyr Trp
1430	1435	1440	
Gly Pro	Ser Leu Tyr Asn Ile	Leu Ser Pro Phe Ile	Pro Leu Leu
1445	1450	1455	
Pro Ile	Phe Phe Cys Leu Trp	Val Tyr Ile	
1460	1465		

[0021]

<210> 40
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 40

Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp
 1 5 10 15

Leu Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr His Lys Val
 20 25 30

Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Ser Thr Val Pro Val Phe Asn Pro
 35 40 45

Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe
 50 55

<210> 41
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 41

Cys Thr Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala
 1 5 10 15

Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr
 20 25 30

Thr Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Asn
 35 40 45

Thr Arg Val
 50

<210> 42
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (22)..(22)
 <223> C OR S

<400> 42

Arg Lys Ile Pro Met Gly Val Gly Leu Ser Pro Phe Leu Leu Ala Gln
 1 5 10 15

Phe Thr Ser Ala Ile Xaa Ser Val Val Arg Arg Ala Phe Pro His Cys

[0022]

	20	25	30
Leu Ala Phe Ser Tyr Met Asp Asp Val Val Leu Gly Ala Lys Ser Val	35	40	45
Gln His Leu Glu Ser Leu Tyr	50	55	
<210>	43		
<211>	52		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	HBV共有序列		
<400>	43		
Leu Gly Ala Lys Ser Val Gln His Leu Glu Ser Leu Tyr Thr Ala Val	1	5	10
Thr Asn Phe Leu Leu Ser Leu Gly Ile His Leu Asn Pro Asn Lys Thr	20	25	30
Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val Ile Gly Ser	35	40	45
Trp Gly Thr Leu	50		
<210>	44		
<211>	59		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	HBV共有序列		
<400>	44		
Lys Ile Lys Gln Cys Phe Arg Lys Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp	1	5	10
Trp Lys Val Cys Gln Arg Ile Val Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro	20	25	30
Phe Thr Gln Cys Gly Tyr Pro Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile	35	40	45
Gln Ala Lys Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr	50	55	
<210>	45		
<211>	50		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	HBV共有序列		
<400>	45		
Ile Gln Ala Lys Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe	1	5	10

[0023]

Leu Cys Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro
20 25 30

Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu
35 40 45

Ala Ile
50

<210> 46
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 46

Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Ile Gly His Gln
1 5 10 15

Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu
20 25 30

Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Leu Ile
35 40 45

<210> 47
<211> 59
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 47

Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Leu Ile Gly Thr Asp
1 5 10 15

Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu
20 25 30

Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val
35 40 45

Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser
50 55

<210> 48
<211> 63
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 48

Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg
1 5 10 15

[0024]

Leu Gly Leu Tyr Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr
20 25 30

Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val Pro Ser His Leu
35 40 45

Pro Asp Arg Val His Phe Ala Ser Pro Leu His Val Ala Trp Arg
50 55 60

<210> 49
<211> 60
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (41)..(41)
<223> S O R T

<400> 49

Met Gln Leu Phe His Leu Cys Leu Ile Ile Ser Cys Ser Cys Pro Thr
1 5 10 15

Val Gln Ala Ser Lys Leu Cys Leu Gly Trp Leu Trp Gly Met Asp Ile
20 25 30

Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Xaa Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu
35 40 45

Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu
50 55 60

<210> 50
<211> 64
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> C O R S

<400> 50

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr
1 5 10 15

Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser
20 25 30

Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Xaa Trp Gly Glu Leu
35 40 45

Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser
50 55 60

[0025]

<210> 51
 <211> 61
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 51

Ala Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu
 1 5 10 15

Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly
 20 25 30

Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg
 35 40 45

Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu
 50 55 60

<210> 52
 <211> 52
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 52

His Leu Ser Leu Arg Gly Leu Pro Val Cys Ala Phe Ser Ser Ala Gly
 1 5 10 15

Pro Cys Ala Leu Arg Phe Thr Ser Ala Arg Arg Met Glu Thr Thr Val
 20 25 30

Asn Ala His Gln Ile Leu Pro Lys Val Leu His Lys Arg Thr Leu Gly
 35 40 45

Leu Ser Ala Met
 50

<210> 53
 <211> 58
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 53

Lys Val Leu His Lys Arg Thr Leu Gly Leu Ser Ala Met Ser Thr Thr
 1 5 10 15

Asp Leu Glu Ala Tyr Phe Lys Asp Cys Val Phe Lys Asp Trp Glu Glu
 20 25 30

Leu Gly Glu Glu Ile Arg Leu Lys Val Phe Val Leu Gly Gly Cys Arg
 35 40 45

[0026]

His Lys Leu Val Cys Ser Pro Ala Pro Cys
50 55

<210> 54
<211> 54
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 54

Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln
1 5 10 15

Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Thr Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro
20 25 30

Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr
35 40 45

Val Asn Pro Ala Pro Thr
50

<210> 55
<211> 56
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 55

Pro Asn Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val
1 5 10 15

Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Lys Ile Leu Thr Ile Pro Gln
20 25 30

Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Pro
35 40 45

Val Cys Leu Gly Gln Asn Ser Gln
50 55

<210> 56
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 56

Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe
1 5 10 15

Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln
20 25 30

[0027]

Gly Met Leu
35

<210> 57
<211> 56
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 57

Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Gly Lys Tyr Leu Trp Glu Trp
1 5 10 15

Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln
20 25 30

Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Val Ile Trp Met
35 40 45

Met Trp Tyr Trp Gly Pro Ser Leu
50 55

<210> 58
<211> 49
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 58

Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu
1 5 10 15

Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly Leu
20 25 30

Tyr Ser Ser Thr Val Pro Val Phe Asn Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser
35 40 45

Phe

<210> 59
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 59

Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn
1 5 10 15

Pro His Asn Thr Thr Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe
20 25 30

Ser Arg Gly Asn Thr Arg Val

[0028]

35

<210> 60

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 60

Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser
1 5 10 15

Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile
20 25 30

Pro Leu His Pro Ala
35

<210> 61

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 61

Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro
1 5 10 15

His Leu Leu Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu
20 25 30

Ser Ser Asn Ser Arg Ile
35

<210> 62

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 62

Leu Ala Phe Ser Tyr Met Asp Asp Val Val Leu Gly Ala Lys Ser Val
1 5 10 15

Gln His Leu Glu Ser Leu Tyr Thr Ala Val Thr Asn Phe Leu Leu Ser
20 25 30

Leu Gly Ile His Leu
35

<210> 63

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0029]

<223> HBV共有序列

<400> 63

Ala Val Thr Asn Phe Leu Leu Ser Leu Gly Ile His Leu Asn Pro Asn
1 5 10 15

Lys Thr Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val Ile
20 25 30

Gly Ser Trp Gly Thr Leu
35

<210> 64

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 64

Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Ile Gly His Gln
1 5 10 15

Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu
20 25 30

Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser
35 40

<210> 65

<211> 41

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 65

Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly Leu Tyr Arg Pro Leu
1 5 10 15

Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala
20 25 30

Val Ser Pro Ser Val Pro Ser His Leu
35 40

<210> 66

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 66

Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu
1 5 10 15

Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val Pro Ser His Leu Pro Asp Arg Val His

[0030]

20	25	30
Phe Ala Ser Pro Leu His Val Ala Trp Arg 35	40	
<210> 67 <211> 35 <212> PRT <213> 人工序列		
<220> <223> HBV共有序列		
<220> <221> MISC_FEATURE <222> (15).. (15) <223> C OR S		
<400> 67		
His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Xaa Trp 1 5 10 15		
Gly Glu Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp 20 25 30		
Pro Ala Ser 35		
<210> 68 <211> 27 <212> PRT <213> 人工序列		
<220> <223> HBV共有序列		
<400> 68		
Ala Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu 1 5 10 15		
Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser 20 25		
<210> 69 <211> 40 <212> PRT <213> 人工序列		
<220> <223> HBV共有序列		
<400> 69		
Ala Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu 1 5 10 15		
Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly 20 25 30		
Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu 35 40		

[0031]

<210> 70
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 70

Ser Ala Gly Pro Cys Ala Leu Arg Phe Thr Ser Ala Arg Arg Met Glu
1 5 10 15
Thr Thr Val Asn Ala His Gln Ile Leu Pro Lys Val Leu His Lys Arg
20 25 30
Thr Leu Gly Leu Ser Ala Met Ser Thr Thr Asp Leu Glu Ala
35 40 45

<210> 71
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 71

Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe
1 5 10 15
Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp
20 25 30
Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Pro Val
35 40

<210> 72
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 72

Ala Phe Gly Lys Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp
1 5 10 15
Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro
20 25 30
Thr Val Trp Leu Ser Val Ile Trp Met
35 40

<210> 73
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 73

[0032]

Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp
1 5 10 15

Leu Asn Leu

<210> 74
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 74

Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu
1 5 10 15

Asn Val Ser Ile
20

<210> 75
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 75

Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr
1 5 10 15

His Lys Val

<210> 76
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 76

Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr His Lys Val Gly
1 5 10 15

Asn Phe

<210> 77
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 77

Leu Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly
1 5 10 15

[0033]

Leu Tyr Ser Ser
20

<210> 78
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 78

Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Ser Thr Val Pro
1 5 10 15

Val Phe Asn Pro
20

<210> 79
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 79

Gly Leu Tyr Ser Ser Thr Val Pro Val Phe Asn Pro Glu Trp Gln Thr
1 5 10 15

Pro Ser Phe

<210> 80
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 80

Lys Gln Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu
1 5 10 15

Lys Leu Ile Met
20

<210> 81
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 81

Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg
1 5 10 15

Phe Tyr Pro Asn

[0034]

20

<210> 82
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 82

Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys
1 5 10 15

Tyr Leu Pro Leu
20

<210> 83
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 83

Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly
1 5 10 15

Ile Lys Pro Tyr
20

<210> 84
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 84

Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu
1 5 10 15

His Val Val

<210> 85
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 85

Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Val Val Asn His Tyr
1 5 10 15

Phe Gln Thr Arg
20

[0035]

<210> 86
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 86
Tyr Pro Glu His Val Val Asn His Tyr Phe Glu Thr Arg His Tyr Leu
1 5 10 15

His Thr Leu

<210> 87
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 87
Asn His Tyr Phe Glu Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala
1 5 10 15

Gly Ile Leu Tyr
20

<210> 88
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 88
Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg
1 5 10 15

Glu Thr Thr Arg
20

<210> 89
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 89
Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser
1 5 10 15

Phe Cys Gly Ser
20

<210> 90
<211> 20
<212> PRT

[0036]

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 90

Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp
1 5 10 15

Glu Gln Glu Leu
20

<210> 91

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 91

Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln Ser Cys
1 5 10 15

Trp Trp Leu Gln
20

<210> 92

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 92

Cys Thr Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala
1 5 10 15

Arg Val

<210> 93

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 93

His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val
1 5 10 15

Phe Leu Val

<210> 94

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0037]

<223> HBV共有序列

<400> 94

Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn
1 5 10 15

Pro His Asn

<210> 95

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 95

Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Thr Glu
1 5 10 15

Ser Arg Leu Val
20

<210> 96

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 96

Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Thr Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe
1 5 10 15

Ser Gln Phe Ser
20

<210> 97

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 97

Thr Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Asn
1 5 10 15

Thr Arg Val

<210> 98

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 98

[0038]

Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser
1 5 10 15

Asn Leu Ser Trp
20

<210> 99
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 99

Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser
1 5 10 15

Leu Asp Val

<210> 100
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 100

Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala
1 5 10 15

Phe Tyr

<210> 101
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 101

Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro
1 5 10 15

Leu His Pro Ala
20

<210> 102
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 102

Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro
1 5 10 15

[0039]

His Leu Leu Val
20

<210> 103
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 103

Leu His Pro Ala Ala Met Pro His Leu Leu Val Gly Ser Ser Gly Leu
1 5 10 15

Ser Arg Tyr

<210> 104
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 104

His Leu Leu Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu
1 5 10 15

Ser Ser Asn Ser Arg Ile
20

<210> 105
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 105

Gly Thr Met Gln Asn Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val
1 5 10 15

Ser Leu Met Leu
20

<210> 106
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 106

Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Met Leu Leu Tyr Lys
1 5 10 15

Thr Tyr Gly Arg

[0040]

20

<210> 107
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 107

Tyr Val Ser Leu Met Leu Leu Tyr Lys Thr Tyr Gly Arg Lys Leu His
 1 5 10 15

Leu Tyr Ser His
 20

<210> 108
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 108

Tyr Lys Thr Tyr Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile
 1 5 10 15

Leu Gly Phe Arg
 20

<210> 109
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 109

Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys Ile
 1 5 10 15

Pro Met Gly Val
 20

<210> 110
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 110

Pro Ile Ile Leu Gly Phe Arg Lys Ile Pro Met Gly Val Gly Leu Ser
 1 5 10 15

Pro Phe Leu

[0041]

<210> I11
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> I11

Arg Lys Ile Pro Met Gly Val Gly Leu Ser Pro Phe Leu Leu Ala Gln
1 5 10 15

Phe Thr Ser Ala
20

<210> I12
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> C OR S

<400> I12

Gly Leu Ser Pro Phe Leu Leu Ala Gln Phe Thr Ser Ala Ile Xaa Ser
1 5 10 15

Val Val Arg Arg
20

<210> I13
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> I13

Leu Leu Ala Gln Phe Thr Ser Ala Ile Cys Ser Val Val Arg Arg Ala
1 5 10 15

Phe Pro His

<210> I14
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> I14

Ser Ala Ile Cys Ser Val Val Arg Arg Ala Phe Pro His Cys Leu Ala
1 5 10 15

Phe Ser Tyr Met

[0042]

20

<210> I15
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> I15

Arg Ala Phe Pro His Cys Leu Ala Phe Ser Tyr Met Asp Asp Val Val
 1 5 10 15

Leu Gly Ala

<210> I16
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> I16

Leu Ala Phe Ser Tyr Met Asp Asp Val Val Leu Gly Ala Lys Ser Val
 1 5 10 15

Gln His Leu

<210> I17
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> I17

Tyr Met Asp Asp Val Val Leu Gly Ala Lys Ser Val Gln His Leu Glu
 1 5 10 15

Ser Leu Tyr

<210> I18
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> I18

Leu Gly Ala Lys Ser Val Gln His Leu Glu Ser Leu Tyr Thr Ala Val
 1 5 10 15

Thr Asn Phe Leu
 20

[0043]

<210> I19
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> I19

His Leu Glu Ser Leu Tyr Thr Ala Val Thr Asn Phe Leu Leu Ser Leu
1 5 10 15

Gly Ile His Leu
20

<210> I20
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> I20

Ala Val Thr Asn Phe Leu Leu Ser Leu Gly Ile His Leu Asn Pro Asn
1 5 10 15

Lys Thr Lys Arg
20

<210> I21
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> I21

Ser Leu Gly Ile His Leu Asn Pro Asn Lys Thr Lys Arg Trp Gly Tyr
1 5 10 15

Ser Leu Asn Phe
20

<210> I22
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> I22

His Leu Asn Pro Asn Lys Thr Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe
1 5 10 15

Met Gly Tyr Val
20

<210> I23
<211> 20
<212> PRT

[0044]

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 123

Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val Ile Gly Ser
1 5 10 15

Trp Gly Thr Leu
20

<210> 124

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 124

Lys Ile Lys Gln Cys Phe Arg Lys Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp
1 5 10 15

Trp Lys

<210> 125

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 125

Phe Arg Lys Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp Trp Lys Val Cys Gln
1 5 10 15

Arg Ile Val Gly
20

<210> 126

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 126

Arg Pro Ile Asp Trp Lys Val Cys Gln Arg Ile Val Gly Leu Leu Gly
1 5 10 15

Phe Ala Ala

<210> 127

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0045]

<223> HBV共有序列

<400> 127

Val Cys Gln Arg Ile Val Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro Phe Thr
1 5 10 15

Gln Cys Gly Tyr
20

<210> 128

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 128

Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro Phe Thr Gln Cys Gly Tyr Pro Ala
1 5 10 15

Leu Met Pro Leu
20

<210> 129

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 129

Phe Thr Gln Cys Gly Tyr Pro Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile
1 5 10 15

Gln Ala Lys

<210> 130

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 130

Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile Gln Ala Lys Gln Ala Phe Thr
1 5 10 15

Phe Ser Pro Thr
20

<210> 131

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 131

[0046]

Ile Gln Ala Lys Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe
1 5 10 15

Leu Cys Lys

<210> 132
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 132

Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Cys Lys Gln Tyr Leu
1 5 10 15

Asn Leu Tyr

<210> 133
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 133

Tyr Lys Ala Phe Leu Cys Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala
1 5 10 15

Arg Gln Arg

<210> 134
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 134

Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu
1 5 10 15

Cys Gln Val

<210> 135
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 135

Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp
1 5 10 15

[0047]

Ala Thr Pro Thr
20

<210> 136
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 136

Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu
1 5 10 15

Ala Ile

<210> 137
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 137

Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Ile Gly His Gln
1 5 10 15

Arg Met Arg

<210> 138
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 138

Gly Trp Gly Leu Ala Ile Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val
1 5 10 15

Ala Pro Leu

<210> 139
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 139

Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His
1 5 10 15

Thr Ala Glu Leu

[0048]

20

<210> 140
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 140

Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys
1 5 10 15

Phe Ala Arg Ser
20

<210> 141
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 141

His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly
1 5 10 15

Ala Lys Leu Ile
20

<210> 142
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 142

Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Leu Ile Gly Thr Asp
1 5 10 15

Asn Ser Val Val
20

<210> 143
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 143

Gly Ala Lys Leu Ile Gly Thr Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys
1 5 10 15

Tyr Thr Ser Phe
20

[0049]

<210> 144
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 144

Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu
 1 5 10 15

Leu Gly Cys Ala
 20

<210> 145
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 145

Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp
 1 5 10 15

Ile Leu

<210> 146
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 146

Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr
 1 5 10 15

Ser Phe Val

<210> 147
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 147

Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser
 1 5 10 15

Ala Leu Asn

<210> 148
 <211> 21
 <212> PRT

[0050]

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 148

Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro
1 5 10 15

Ala Asp Asp Pro Ser
20

<210> 149

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 149

Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg
1 5 10 15

Leu Gly Leu Tyr
20

<210> 150

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 150

Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly Leu Tyr Arg Pro Leu
1 5 10 15

Leu Arg Leu

<210> 151

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 151

Arg Leu Gly Leu Tyr Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr
1 5 10 15

Thr Gly Arg

<210> 152

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0051]

<223> HBV共有序列

<400> 152

Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu
1 5 10 15

Tyr Ala Val

<210> 153

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 153

Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser
1 5 10 15

Val

<210> 154

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 154

Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val Pro Ser
1 5 10 15

His Leu

<210> 155

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 155

Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val Pro Ser His Leu Pro Asp Arg
1 5 10 15

Val His Phe Ala
20

<210> 156

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 156

[0052]

Ser Val Pro Ser His Leu Pro Asp Arg Val His Phe Ala Ser Pro Leu
1 5 10 15

His Val Ala Trp Arg
20

<210> 157
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 157

Met Gln Leu Phe His Leu Cys Leu Ile Ile Ser Cys Ser Cys Pro Thr
1 5 10 15

Val Gln Ala

<210> 158
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 158

Leu Ile Ile Ser Cys Ser Cys Pro Thr Val Gln Ala Ser Lys Leu Cys
1 5 10 15

Leu Gly Trp

<210> 159
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 159

Cys Pro Thr Val Gln Ala Ser Lys Leu Cys Leu Gly Trp Leu Trp Gly
1 5 10 15

Met Asp Ile

<210> 160
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 160

Ser Lys Leu Cys Leu Gly Trp Leu Trp Gly Met Asp Ile Asp Pro Tyr
1 5 10 15

[0053]

Lys Glu Phe

<210> I61
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 161

Trp Leu Trp Gly Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser
1 5 10 15

Val Glu Leu Leu
20

<210> 162
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 162

Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Val Glu Leu Leu Ser Phe
1 5 10 15

Leu Pro Ser Asp
20

<210> 163
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 163

Lys Glu Phe Gly Ala Ser Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp
1 5 10 15

Phe Phe Pro Ser Val
20

<210> 164
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 164

Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp
1 5 10 15

Leu Leu

[0054]

<210> 165
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 165

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr
1 5 10 15

Ala Ser Ala Leu Tyr
20

<210> 166
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 166

Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala
1 5 10 15

Leu Glu Ser

<210> 167
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 167

Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His
1 5 10 15

Cys Ser Pro His
20

<210> 168
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 168

Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His His Thr Ala
1 5 10 15

Leu Arg Gln Ala
20

[0055]

<210> 169
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 169

His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp
 1 5 10 15

Gly Glu Leu Met
 20

<210> 170
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 170

Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu Met Thr Leu Ala
 1 5 10 15

Thr Trp Val

<210> 171
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 171

Trp Gly Glu Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu
 1 5 10 15

Asp Pro Ala Ser
 20

<210> 172
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 172

Ala Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu
 1 5 10 15

Lys Ile Arg

<210> 173
 <211> 20
 <212> PRT

[0056]

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 173

Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe His Ile Ser
20

<210> 174

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 174

Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr
1 5 10 15

Phe Gly Arg

<210> 175

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 175

Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val
1 5 10 15

Leu Glu Tyr Leu
20

<210> 176

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 176

Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe
1 5 10 15

Gly Val Trp Ile
20

<210> 177

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0057]

<223> HBV共有序列

<400> 177

Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro
1 5 10 15

Pro Ala Tyr Arg
20

<210> 178

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 178

Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn
1 5 10 15

Ala Pro Ile Leu
20

<210> 179

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 179

Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu
1 5 10 15

Pro Glu Thr Thr
20

<210> 180

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 180

Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg
1 5 10 15

Arg Arg Gly Arg
20

<210> 181

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 181

[0058]

Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg
1 5 10 15

Arg Arg Thr

<210> 182
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 182

Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg
20

<210> 183
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 183

Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser
1 5 10 15

Pro Arg Arg Arg
20

<210> 184
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 184

Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln
1 5 10 15

Ser Arg Glu Ser
20

<210> 185
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 185

His Leu Ser Leu Arg Gly Leu Pro Val Cys Ala Phe Ser Ser Ala Gly
1 5 10 15

[0059]

Pro Cys Ala Leu
20

<210> 186
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 186

Leu Pro Val Cys Ala Phe Ser Ser Ala Gly Pro Cys Ala Leu Arg Phe
1 5 10 15

Thr Ser Ala Arg
20

<210> 187
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 187

Ser Ala Gly Pro Cys Ala Leu Arg Phe Thr Ser Ala Arg Arg Met Glu
1 5 10 15

Thr Thr Val

<210> 188
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 188

Leu Arg Phe Thr Ser Ala Arg Arg Met Glu Thr Thr Val Asn Ala His
1 5 10 15

Gln Ile Leu

<210> 189
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 189

Arg Arg Met Glu Thr Thr Val Asn Ala His Gln Ile Leu Pro Lys Val
1 5 10 15

Leu His Lys Arg

[0060]

20

<210> 190
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 190

Asn Ala His Gln Ile Leu Pro Lys Val Leu His Lys Arg Thr Leu Gly
1 5 10 15

Leu Ser Ala Met
20

<210> 191
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 191

Lys Val Leu His Lys Arg Thr Leu Gly Leu Ser Ala Met Ser Thr Thr
1 5 10 15

Asp Leu Glu Ala
20

<210> 192
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 192

Leu Gly Leu Ser Ala Met Ser Thr Thr Asp Leu Glu Ala Tyr Phe Lys
1 5 10 15

Asp Cys Val Phe
20

<210> 193
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 193

Thr Thr Asp Leu Glu Ala Tyr Phe Lys Asp Cys Val Phe Lys Asp Trp
1 5 10 15

Glu Glu Leu

[0061] 第 60 页

[0062]

<210> 194
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 194

Tyr Phe Lys Asp Cys Val Phe Lys Asp Trp Glu Glu Leu Gly Glu Glu
1 5 10 15

Ile Arg Leu

<210> 195
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 195

Phe Lys Asp Trp Glu Glu Leu Gly Glu Glu Ile Arg Leu Lys Val Phe
1 5 10 15

Val Leu

<210> 196
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 196

Glu Leu Gly Glu Glu Ile Arg Leu Lys Val Phe Val Leu Gly Gly Cys
1 5 10 15

Arg His Lys Leu
20

<210> 197
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 197

Leu Lys Val Phe Val Leu Gly Gly Cys Arg His Lys Leu Val Cys Ser
1 5 10 15

Pro Ala Pro Cys
20

<210> 198
<211> 20
<212> PRT

[0063]

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 198

Arg Gln Pro Thr Pro Ile Ser Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln
1 5 10 15

Ala Met Gln Trp
20

<210> 199

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 199

Pro Pro Leu Arg Asp Ser His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr
1 5 10 15

Thr Phe His

<210> 200

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 200

His Pro Gln Ala Met Gln Trp Asn Ser Thr Thr Phe His Gln Ala Leu
1 5 10 15

Gln Asp Pro Arg
20

<210> 201

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 201

Ser Thr Thr Phe His Gln Ala Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu
1 5 10 15

Tyr Phe Pro Ala
20

<210> 202

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

[0064]

<223> HBV共有序列

<400> 202

Leu Gln Asp Pro Arg Val Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser
1 5 10 15

Ser Ser Gly

<210> 203

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 203

Arg Gly Leu Tyr Phe Pro Ala Gly Gly Ser Ser Ser Gly Thr Val Asn
1 5 10 15

Pro Ala Pro Thr
20

<210> 204

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 204

Pro Asn Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val
1 5 10 15

Leu Gln Ala

<210> 205

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 205

Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe
1 5 10 15

Leu Leu Thr Lys
20

<210> 206

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HBV共有序列

<400> 206

[0065]

Leu Leu Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Lys Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ile

<210> 207
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 207

Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Lys Ile Leu Thr Ile Pro
1 5 10 15

Gln Ser Leu

<210> 208
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 208

Phe Leu Leu Thr Lys Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp
1 5 10 15

Trp Thr Ser Leu
20

<210> 209
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 209

Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu
1 5 10 15

Gly Gly Thr Pro Val
20

<210> 210
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 210

Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Thr Pro Val Cys Leu Gly
1 5 10 15

[0066]

Gln Asn Ser Gln
20

<210> 211
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 211

Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe
1 5 10 15

Ile Leu Leu Leu
20

<210> 212
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 212

Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile
1 5 10 15

Phe Leu Leu Val
20

<210> 213
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 213

Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr
1 5 10 15

Gln Gly Met Leu
20

<210> 214
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 214

Ile Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Gly Lys Tyr Leu Trp Glu Trp
1 5 10 15

Ala Ser Ala Arg

[0067]

20

<210> 215
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 215

Ala Phe Gly Lys Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp
1 5 10 15

Leu Ser Leu Leu
20

<210> 216
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 216

Glu Trp Ala Ser Ala Arg Phe Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe
1 5 10 15

Val Gln Trp Phe
20

<210> 217
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 217

Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu
1 5 10 15

Ser Pro Thr Val
20

<210> 218
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HBV共有序列

<400> 218

Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser
1 5 10 15

Val Ile Trp Met
20

[0068]

<210> 219
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 219

Gly Leu Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Val Ile Trp Met Met Trp Tyr
 1 5 10 15

Trp Gly Pro Ser Leu
 20

<210> 220
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 220

Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser
 1 5 10 15

Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile
 20 25 30

Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro His Leu Leu Val Gly Ser Ser Gly
 35 40 45

Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu Ser Ser Asn Ser Arg Ile
 50 55 60

<210> 221
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 221

Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe
 20 25 30

Leu

<210> 222
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> HBV共有序列

<400> 222

[0069]

Lys	Lys	Lys	Gly	Pro	Leu	Leu	Val	Leu	Gln	Ala	Gly	Phe	Phe	Leu	Leu
1				5					10					15	
Thr	Arg	Ile	Leu	Thr	Ile	Pro	Gln	Ser	Leu	Asp	Ser	Trp	Trp	Thr	Ser
			20					25					30		
Leu	Asn	Phe	Leu	Lys	Lys	Lys									
			35												

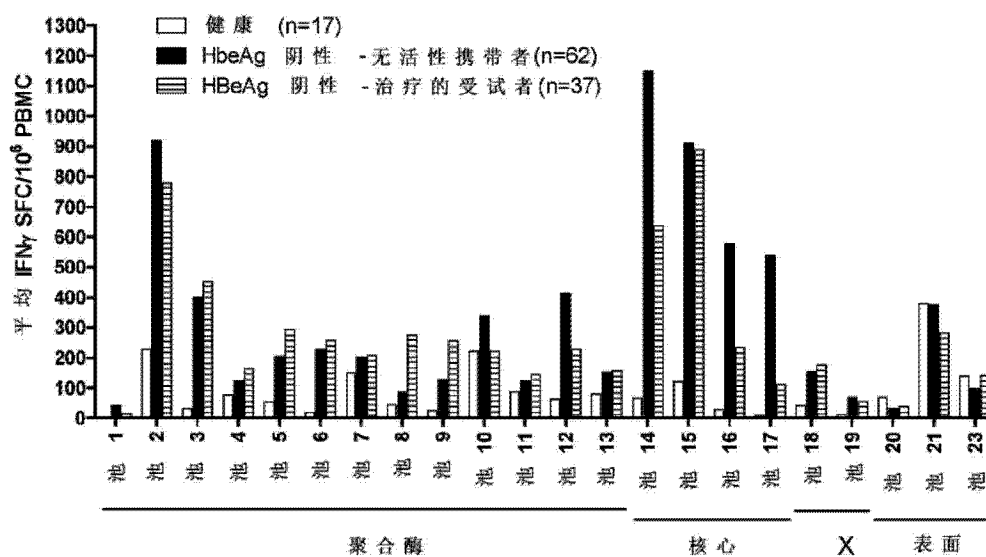


图 1

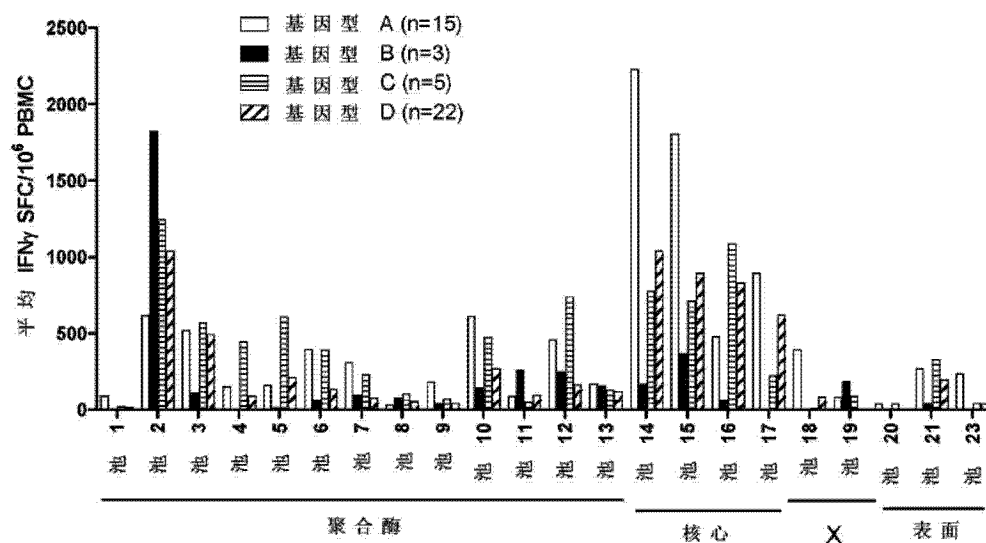


图 2

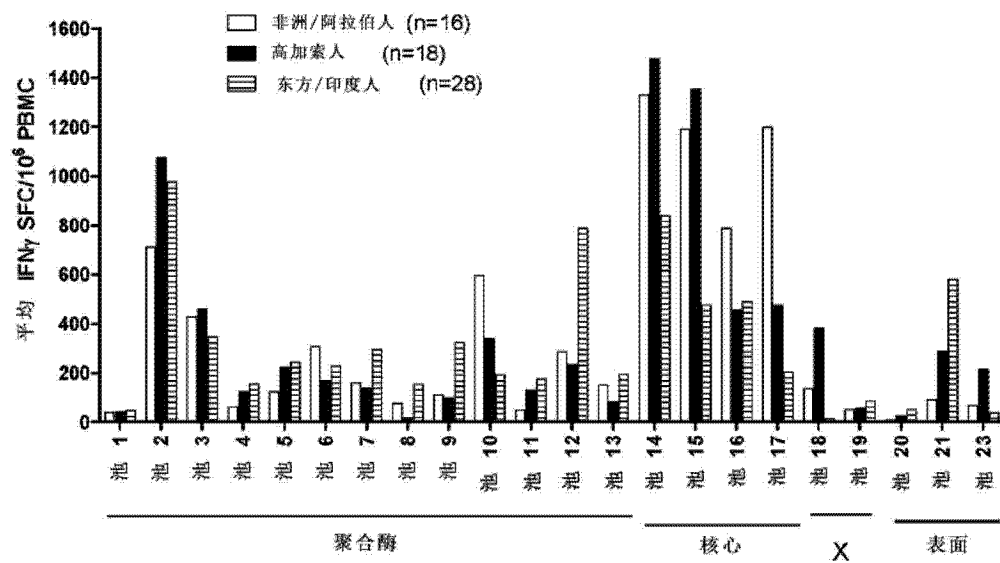


图 3

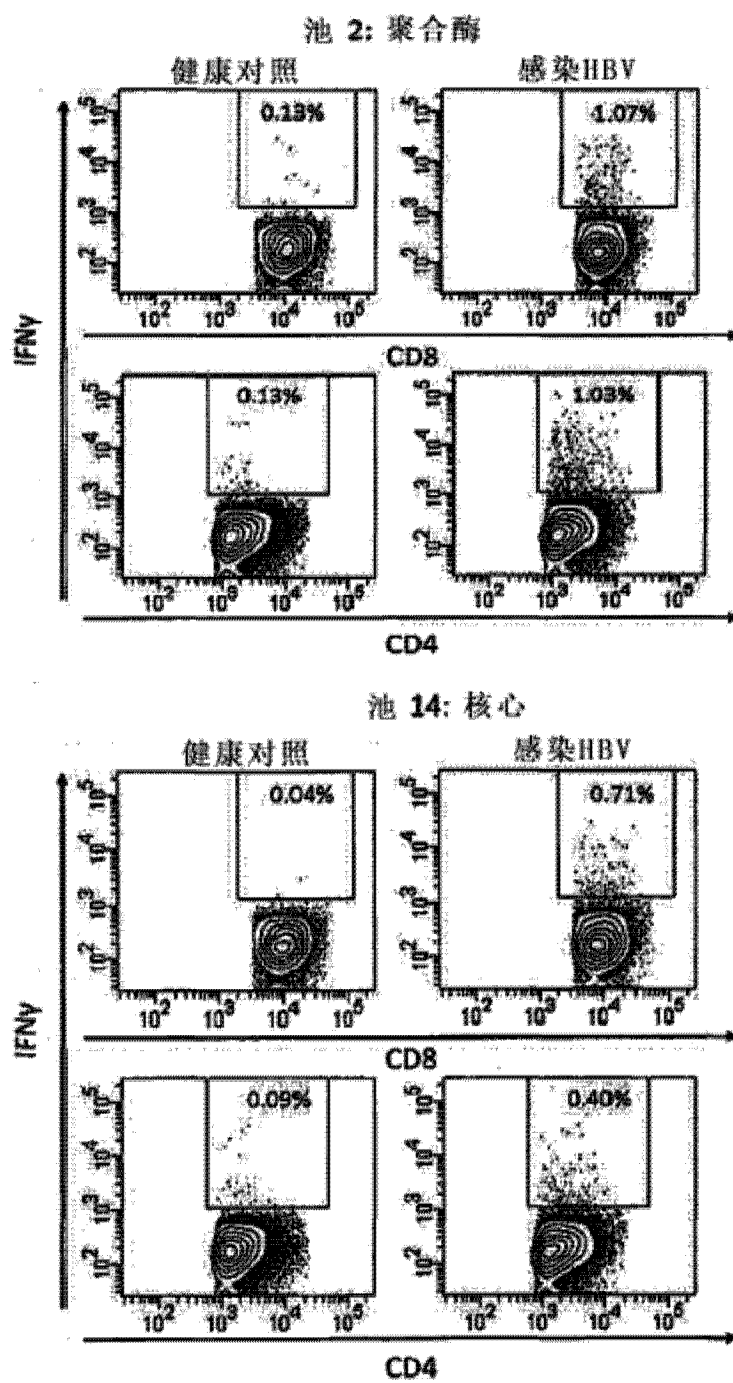


图 4

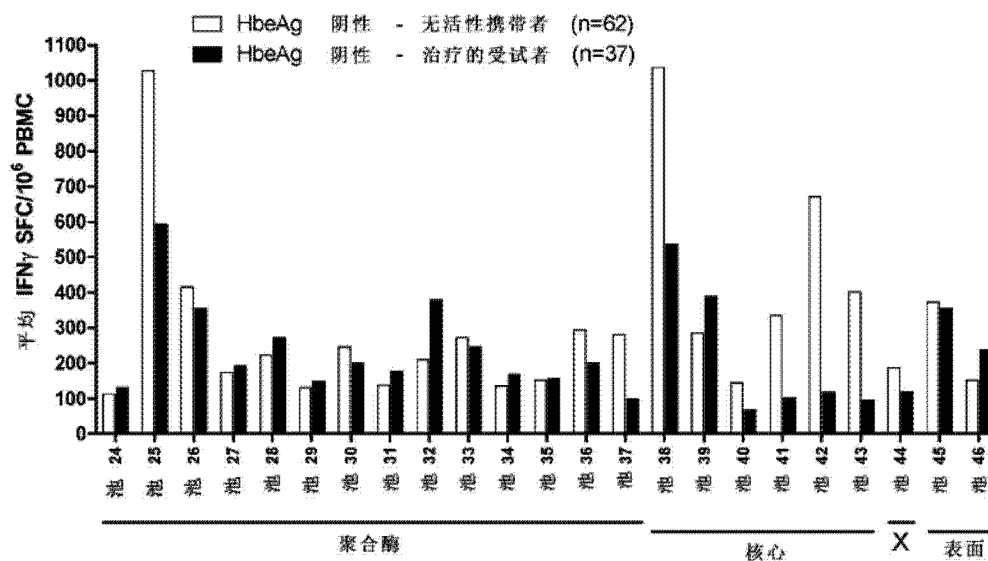


图 5

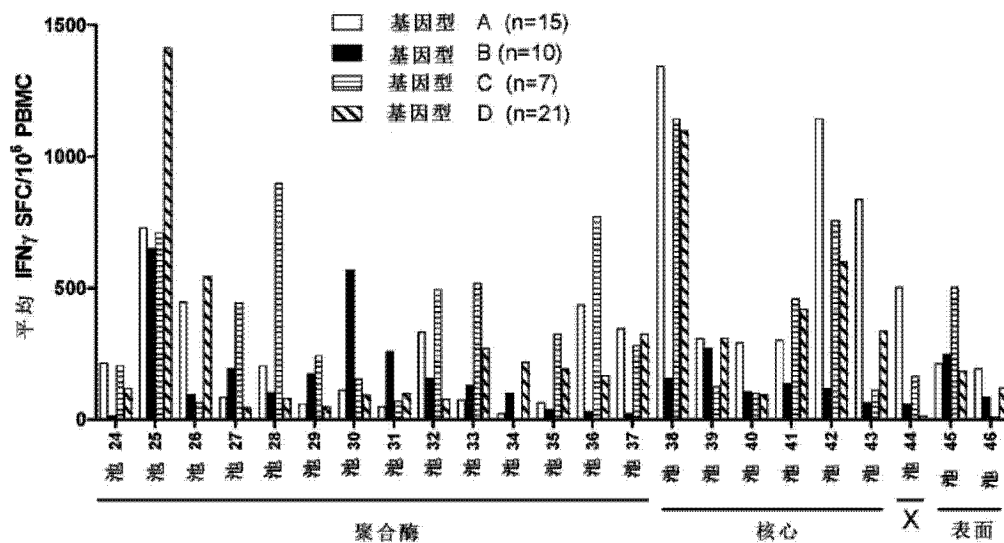


图 6

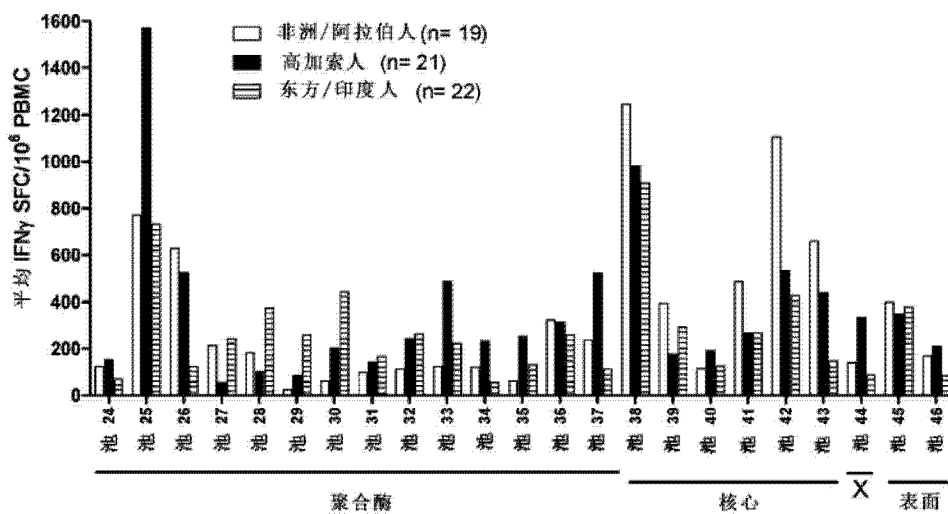


图 7

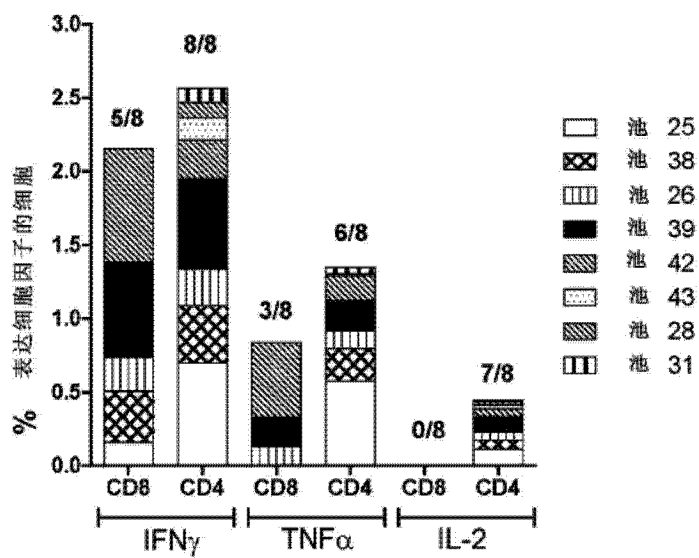


图 8

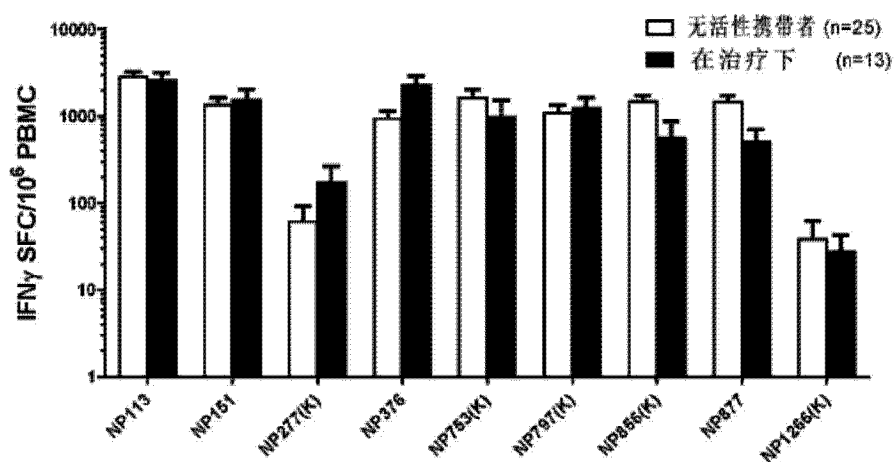


图 9

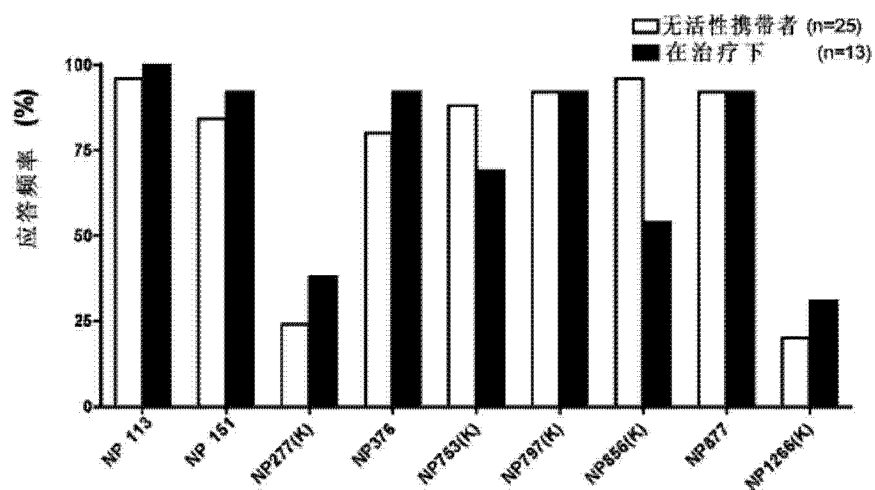


图 10

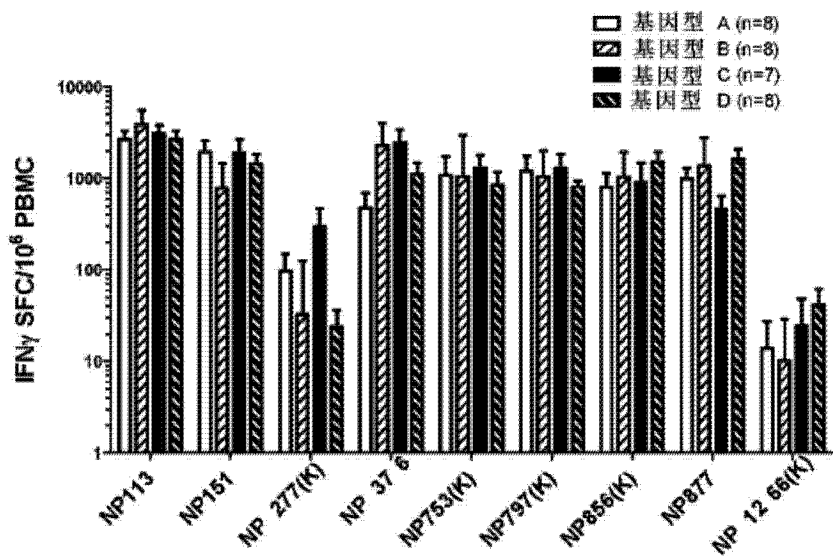


图 11

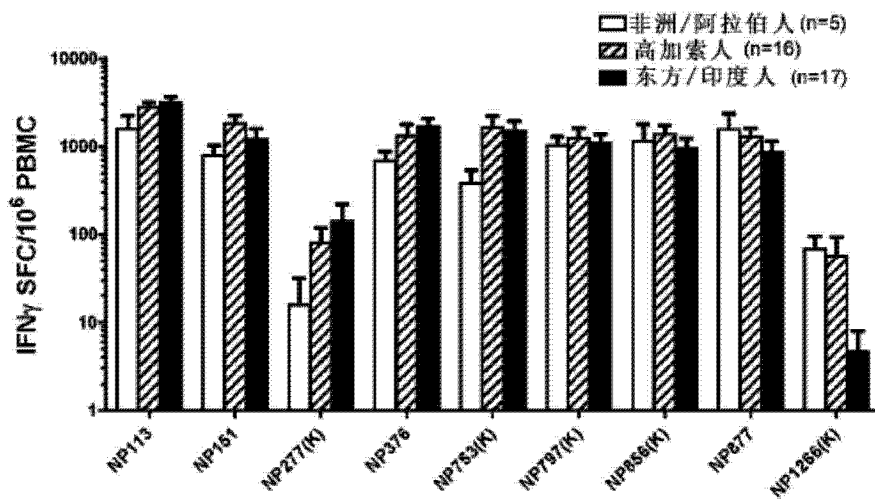


图 12

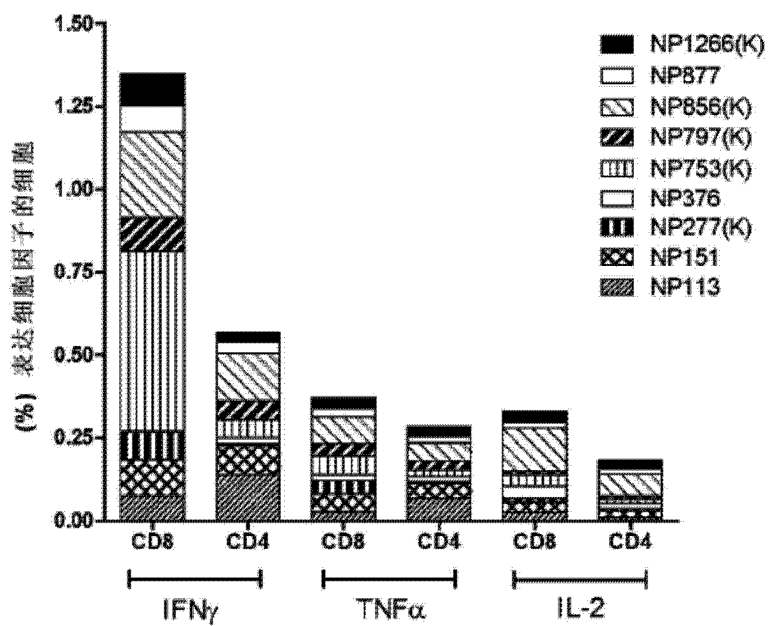


图 13A

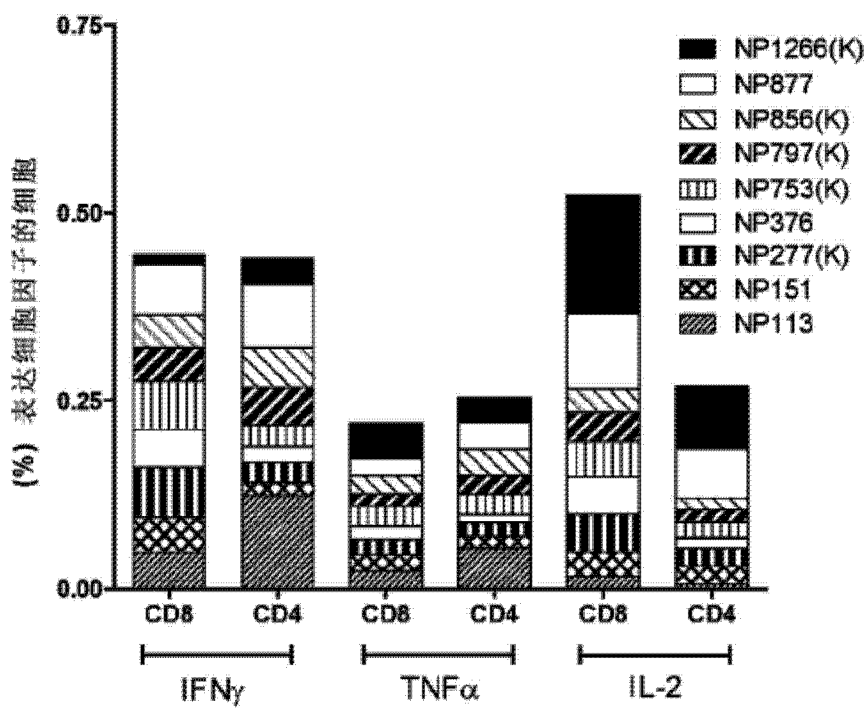


图 13B

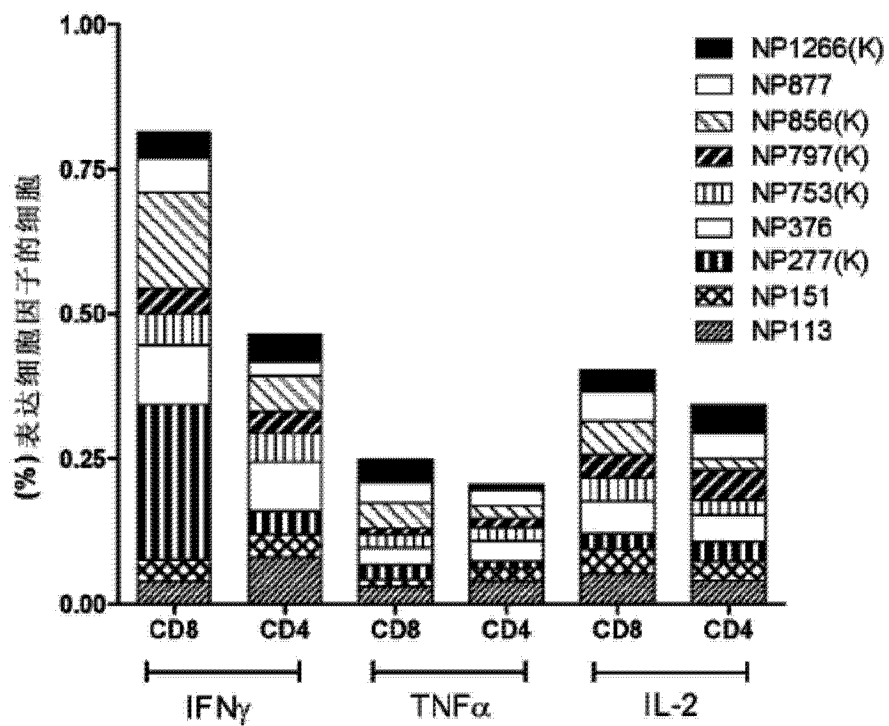


图 13C

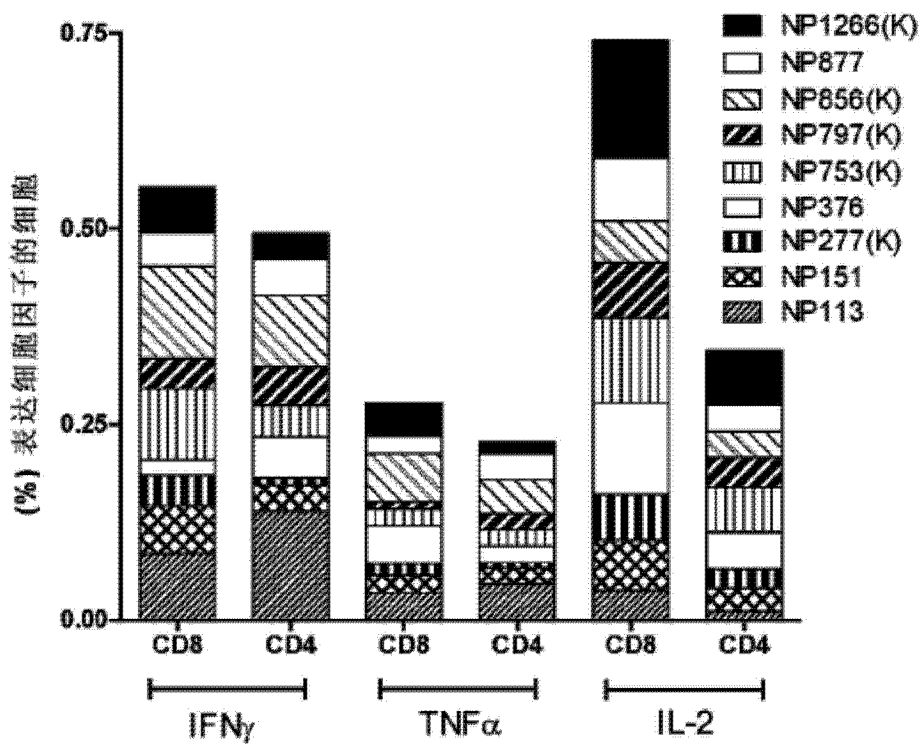


图 13D

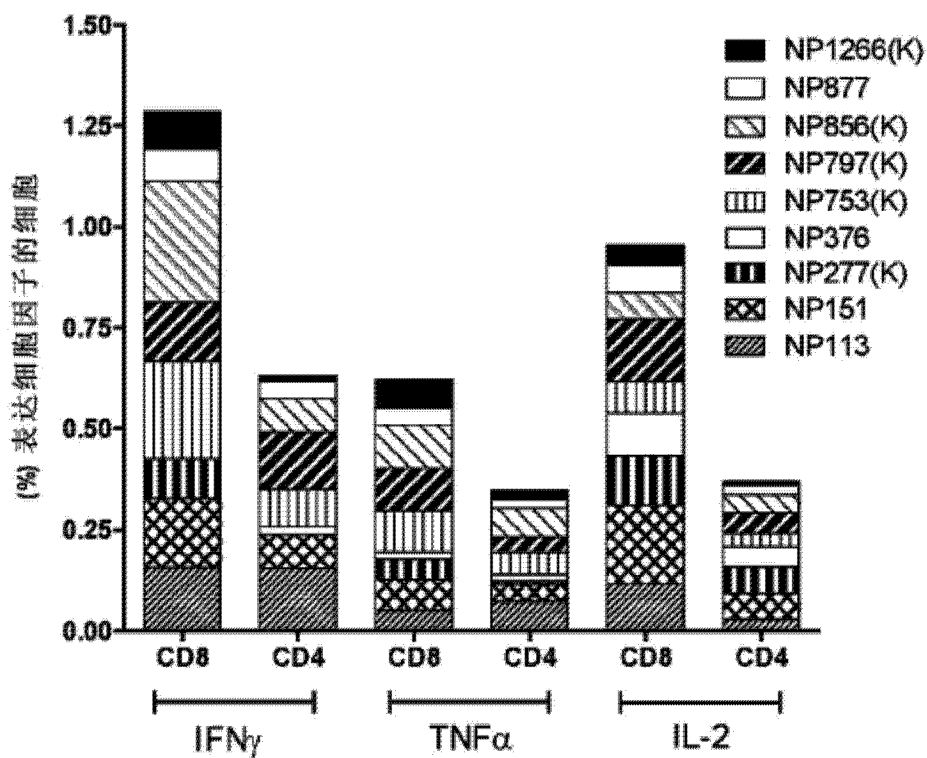


图 13E

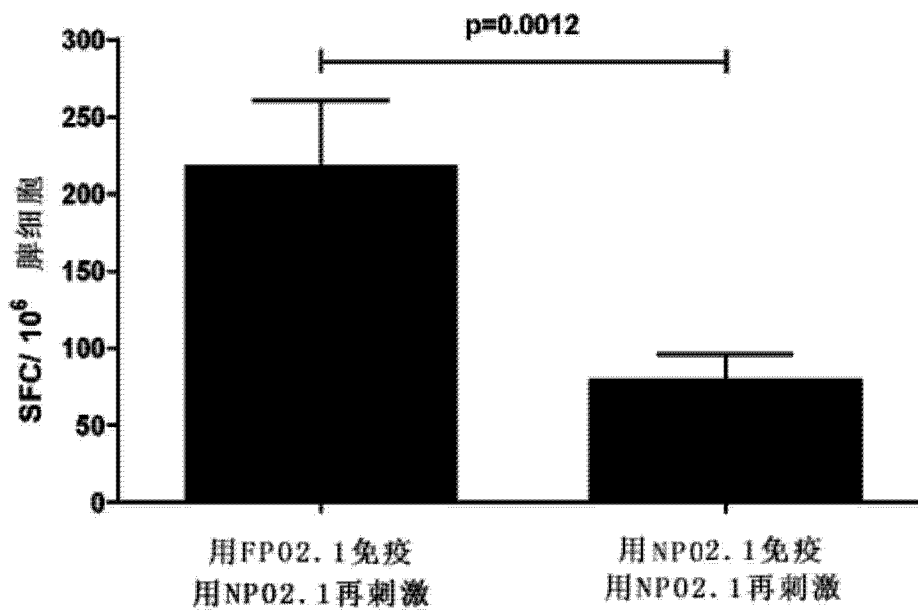


图 14

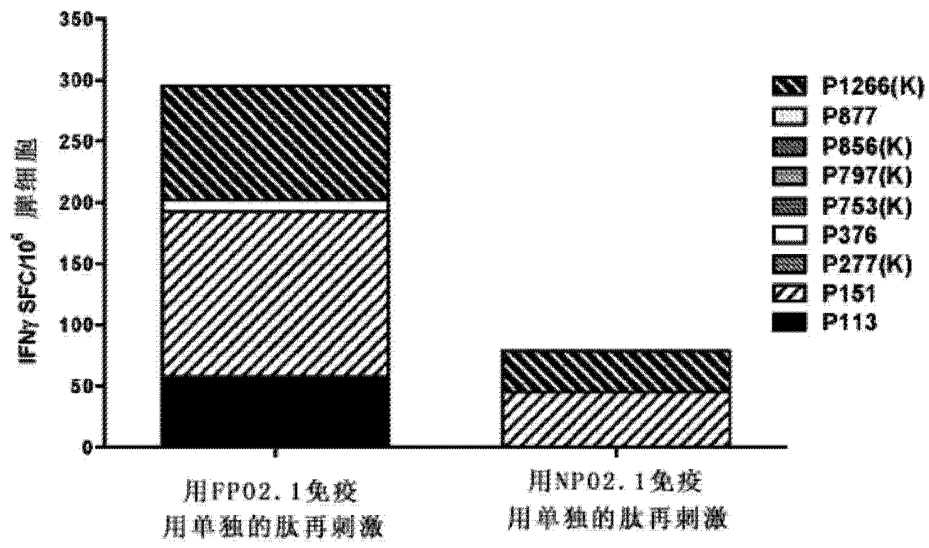


图 15

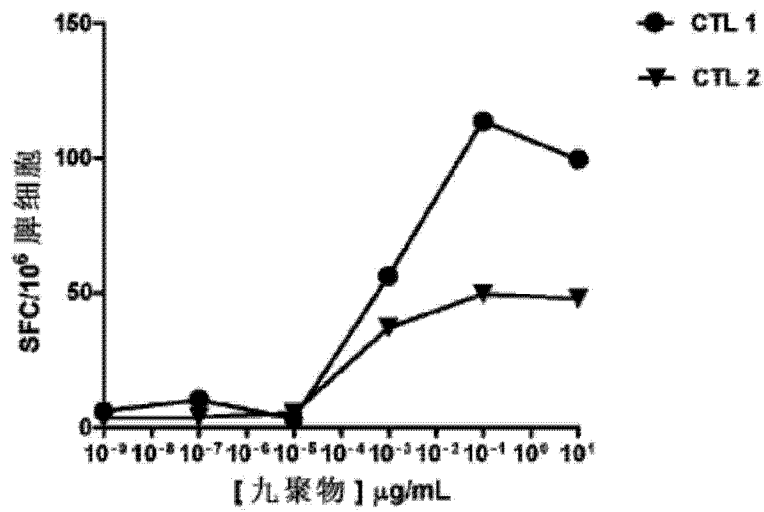


图 16

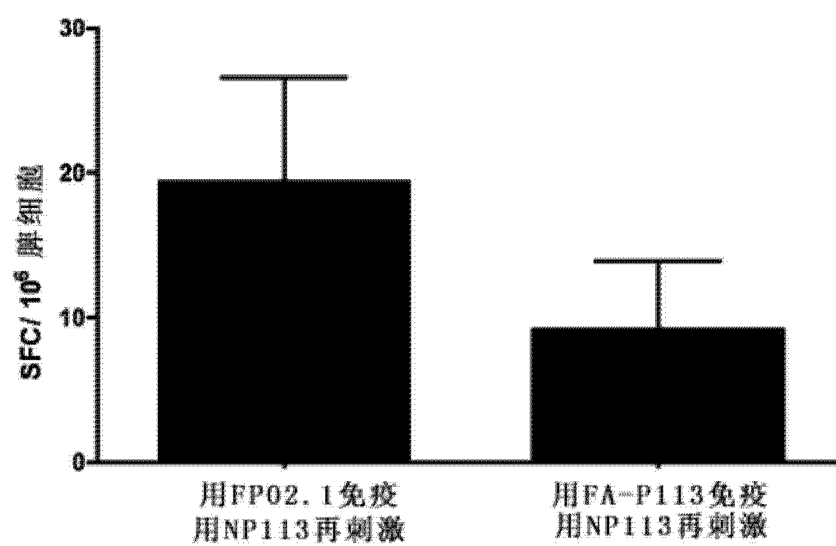


图 17