(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 120225219 A
(43)申请公布日 2025.06.27

(21)申请号 202380080299.3
(22)申请日 2023.09.22
(30)优先权数据
PCT/US2022/044625 2022.09.23 US
63/515,331 2023.07.24 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.05.20
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/074956 2023.09.22
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2024/064931 EN 2024.03.28
(71)申请人 生物技术欧洲股份公司
地址 德国美因兹
(72)发明人 A·波兰 D·A·罗滕伯格
T·阿多纳 R·M·弗塔多
U·沙欣 T·齐根哈尔斯
(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 72002
专利代理师 王健 林晓红
(51)Int.Cl.
A61K 39/015(2006.01)
A61P 33/06(2006.01)
C07K 14/445(2006.01)

权利要求书7页 说明书184页
序列表（电子公布） 附图27页

(54)发明名称

用于递送肝期抗原的组合物及相关方法

(57)摘要

本公开提供了用于递送疟原虫蛋白抗原的组合物(例如,药物组合物)和相关技术(例如,其组分和/或与其有关的方法)。除其它方面以外,本公开提供了编码疟原虫蛋白抗原的多核糖核苷酸。

CN 120225219 A

1.一种编码多肽的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下中的两者或更多者:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

(vi)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(vii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

(viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;

(ix)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

(x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

2.如权利要求1所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。

3.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

4.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

(vi)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;

(vii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;和

(viii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。

5.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

(viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

(ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

6.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和

(viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

7.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

(vi)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

(vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

8.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

(vi)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和

(vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

9.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

(viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;

(ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和

(x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

10.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;

(iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和

(v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

11.如权利要求1或2所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下或由以下组成:

(i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

(ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

(iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

(iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

12.如权利要求11所述的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

13.如权利要求1-9中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫CSP多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。

14.如权利要求13所述的多核糖核苷酸,其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段进一步包含疟原虫CSP N末端端部区。

15.如权利要求13或14所述的多核糖核苷酸,其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段进一步包含疟原虫CSP接合区。

16.如权利要求13-15中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

17.如权利要求1-9中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原不包含抗原性伯氏疟原虫CSP多肽片段。

18.如权利要求1、4-6和9-17中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

19.如权利要求1、4-6和8-18中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原

虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

20.如权利要求1-9和13-19中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫TRAP多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

21.如权利要求1-9和13-20中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SE Q ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

22.如权利要求1-9和13-21中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫UIS3多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

23.如权利要求1-9和13-22中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫ETRAM P10.3多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

24.如权利要求1和5-23中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

25.如权利要求1、5、7和9-24中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫LISP-2多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

26.如权利要求1、4、9、10和13-25中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含所述抗原性疟原虫LSA-3多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

27.如权利要求1-26中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多肽不包含细菌多肽的抗原性片段。

28.如权利要求1-27中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原不包含抗原性疟原虫子孢子富苏氨酸-天冬酰胺蛋白(STARP)多肽片段,任选其中所述抗原性疟原虫STARP多肽片段包含根据SEQ ID NO:463的氨基酸序列。

29.如权利要求1-28中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸进一步包

含编码MHC I类输运信号(MITD)的序列。

30.如权利要求1-29中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含分泌信号。

31.如权利要求30所述的多核糖核苷酸,其中所述分泌信号包括疟原虫分泌信号或由疟原虫分泌信号组成,优选疟原虫CSP分泌信号。

32.如权利要求30所述的多核糖核苷酸,其中所述分泌信号包括异源分泌信号或由异源分泌信号组成。

33.如权利要求32所述的多核糖核苷酸,其中所述异源分泌信号包括非人分泌信号或由非人分泌信号组成。

34.如权利要求32所述的多核糖核苷酸,其中所述异源分泌信号包括病毒分泌信号或由病毒分泌信号组成,优选其中所述病毒分泌信号包括以下或由以下组成:

(a)HSV-1或HSV-2分泌信号,甚至更优选其中所述病毒分泌信号包括HSV糖蛋白D(gD)分泌信号或由HSV糖蛋白D(gD)分泌信号组成,或

(b)埃博拉病毒分泌信号,甚至更优选其中所述病毒分泌信号包括埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号或由埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号组成。

35.如权利要求1-34中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含跨膜区。

36.如权利要求35所述的多核糖核苷酸,其中所述跨膜区包括疟原虫跨膜区或由疟原虫跨膜区组成,优选其中所述疟原虫跨膜区包含疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区或由疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区组成。

37.如权利要求35所述的多核糖核苷酸,其中所述跨膜区包括异源跨膜区或由异源跨膜区组成,优选其中所述异源跨膜区:

(a)不包括血凝素跨膜区,

(b)包括病毒跨膜区或由病毒跨膜区组成,优选其中所述病毒跨膜区包括HSV-1或HSV-2跨膜区或由HSV-1或HSV-2跨膜区组成,甚至更优选其中所述HSV跨膜区包括HSV gD跨膜区或由HSV gD跨膜区组成,或

(c)包括人跨膜区或由人跨膜区组成,优选其中所述人跨膜区包含人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区或由人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区组成。

38.如权利要求1-29和35-37中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多肽不包含分泌信号。

39.如权利要求1-34中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多肽不包含跨膜区。

40.如权利要求1-39中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原是一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原,优选其中所述一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原来自恶性疟原虫分离株3D7。

41.如权利要求1-40中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸是分离的多核糖核苷酸。

42.如权利要求1-41中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸是工程化的多核糖核苷酸。

43.如权利要求1-42中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸是密码子优化的多核糖核苷酸。

44.一种RNA构建体,其按5’至3’顺序包含:

(i)5’UTR,其包括修饰的人α球蛋白5’-UTR或由修饰的人α球蛋白5’-UTR组成;

(ii)权利要求1-43中任一项的多核糖核苷酸;

(iii)包含第一序列和第二序列或由第一序列和第二序列组成的3’UTR,所述第一序列来自分裂的氨基末端增强子(AES)信使RNA,所述第二序列来自线粒体编码的12S核糖体RNA;和

(iv)聚A尾序列。

45.如权利要求44所述的RNA构建体,其进一步包含5’帽。

46.一种组合物,其包含权利要求1-43中任一项的一种或多种多核糖核苷酸或权利要求44或45的RNA构建体。

47.如权利要求46所述的组合物,其进一步包含脂质纳米颗粒、多聚复合物(PLX)、脂质化多聚复合物(LPLX)或脂质体,

其中所述一种或多种多核糖核苷酸被完全或部分地包封在所述脂质纳米颗粒、多聚复合物(PLX)、脂质化多聚复合物(LPLX)或脂质体内。

48.一种药物组合物,其包含权利要求46或47的组合物和至少一种药学上可接受的赋形剂。

49.一种组合,其包含:

(i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸编码第一多肽,且所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原;和

(ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸编码第二多肽,且所述第二多肽包含一个或多个疟原虫抗原性多肽区或其部分。

50.如权利要求49所述的组合,其中所述第一多核糖核苷酸是根据权利要求1-43中任一项的多核糖核苷酸。

51.如权利要求49或50所述的组合,其中所述第二多肽的所述一个或多个疟原虫抗原性多肽区或其部分包括一个或多个疟原虫CSP区或其部分。

52.一种组合,其包含:

(i)第一药物组合物,其包含编码第一多肽的多核糖核苷酸,其中所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原,且其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含疟原虫N末端区或其部分,但不包含疟原虫C末端区或其部分;和

(ii)第二药物组合物,其包含编码第二多肽的多核糖核苷酸,其中所述第二多肽包含一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分,且其中所述一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分包含疟原虫CSP C末端区或其部分,但不包含疟原虫CSP N末端区或其部分。

53.一种组合,其包含:

(i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸是根据权利要求2或3的多核糖核苷酸;和

(ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸是根据权利要求11或12的多核糖核苷酸。

54.一种治疗或预防疟疾感染的方法,包括对受试者施用根据权利要求1-43中任一项的多核糖核苷酸、根据权利要求44或45的RNA构建体、根据权利要求46或47的组合物、根据

权利要求48的药物组合物或根据权利要求49-53中任一项的组合。

55.如权利要求48所述的药物组合物,其用于治疗或预防疟疾感染,包括对受试者施用一个或多个剂量的所述药物组合物。

56.如权利要求49-53中任一项所述的组合,其用于治疗或预防疟疾感染,包括对受试者施用一个或多个剂量的所述组合。

用于递送肝期抗原的组合物及相关方法

背景技术

[0001] 疟疾是由疟原虫(Plasmodium)属的原生动物寄生虫引起的蚊媒传染病。据世界卫生组织统计,估计92个国家中有34亿人面临被疟疾寄生虫感染和发病的风险。

发明内容

[0002] 本公开提供了用于向受试者(例如,患者)递送特定疟原虫抗原(例如,疟原虫T细胞抗原)的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)和相关技术(例如,方法)。疟原虫抗原在本文中也可以被称为“疟疾抗原”。特别地,本公开提供了疟疾疫苗组合物和相关技术(例如,方法)。本公开包括意外的发现,即本文公开的抗原及其片段用于预防或治疗疟疾是特别有利的,例如用在抗原构建体和/或疫苗中,如本文进一步所公开。

[0003] 在一些实施方案中,本公开提供了编码多肽的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包括至少2种且至多10种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,编码的多肽包含至少25个氨基酸且至多1100个氨基酸。在一些实施方案中,编码的多肽包含至少25个氨基酸且至多500个氨基酸。

[0004] 在一些实施方案中,本文公开的多核糖核苷酸编码一种或多种疟原虫T细胞抗原,所述抗原包含以下中的两者或更多者:

[0005] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0006] (ii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[0007] (iii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[0008] (iv)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0009] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[0010] (vi)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0011] (vii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[0012] (viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;

[0013] (ix)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[0014] (x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

[0015] 在一些实施方案中,本文公开的多核糖核苷酸编码一种或多种疟原虫T细胞抗原,所述抗原包含:

[0016] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0017] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0018] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0019] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和

[0020] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。

[0021] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。

[0022] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含一种或多种疟原虫T细胞抗原的多肽,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0023] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0024] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0025] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0026] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[0027] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[0028] (vi)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;

[0029] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;和

[0030] (viii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。

[0031] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0032] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码一种或多种疟原虫T细胞抗原,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0033] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0034] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0035] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0036] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[0037] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[0038] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[0039] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[0040] (viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[0041] (ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[0042] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0043] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码一种或多种疟原虫T细胞抗原,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0044] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0045] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0046] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0047] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[0048] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[0049] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[0050] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和

[0051] (viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[0052] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少

85％序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0053] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含一种或多种疟原虫T细胞抗原的多肽,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0054] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0055] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0056] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0057] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[0058] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[0059] (vi)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[0060] (vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[0061] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0062] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码多肽,所述多肽编码一种或多种疟原虫T细胞抗原,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0063] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0064] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0065] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0066] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[0067] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[0068] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和

[0069] (vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[0070] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0071] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码一种或多种疟原虫T细胞抗原,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0072] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[0073] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[0074] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[0075] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[0076] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[0077] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[0078] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[0079] (viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;

[0080] (ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和

[0081] (x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

[0082] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少

85％序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0083] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含一种或多种疟原虫T细胞抗原或由一种或多种疟原虫T细胞抗原组成的多肽,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0084] (i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[0085] (ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[0086] (iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;

[0087] (iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和

[0088] (v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

[0089] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0090] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含一种或多种疟原虫T细胞抗原的多肽,所述疟原虫T细胞抗原包含:

[0091] (i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[0092] (ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[0093] (iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[0094] (iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[0095] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含与根据SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列组成的多肽。

[0096] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码一种或多种疟原虫T细胞抗原,所述疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫CSP多肽片段,其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,所述抗原性疟原虫CSP多肽片段进一步包含疟原虫CSP N末端端部区。在一些实施方案中,所述抗原性疟原虫CSP多肽片段进一步包含疟原虫CSP接合区。

[0097] 在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列组成。

[0098] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原不包含抗原性伯氏疟原虫CSP多肽片段。

[0099] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段,其中所述抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列组成。

[0100] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段,其中所述抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％序列同一性的氨基酸序列组成。

[0101] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫TRAP多肽片

段,其中所述抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0102] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0103] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫UIS3多肽片段,其中所述抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0104] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段,其中所述抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0105] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0106] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LISP-2多肽片段,其中所述抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0107] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSA-3多肽片段,其中所述抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0108] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原各自包含一个或多个T细胞表位。

[0109] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码不包含细菌多肽的抗原性片段的多肽。在一些实施方案中,编码的多肽不包含抗原性卡介苗(BCG)多肽片段,任选其中所述抗原性BCG多肽片段包含根据SEQ ID NO:461的氨基酸序列。在一些实施方案中,编码的多肽不包含抗原性破伤风毒素(TT)多肽片段,任选其中所述抗原性TT多肽片段包含根据SEQ ID NO:462的氨基酸序列。

[0110] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原不包含抗原性疟原虫子孢子富苏氨酸-天冬酰胺蛋白(STARP)多肽片段,任选其中所述抗原性疟原虫STARP多肽片段包括根据SEQ ID NO:463的氨基酸序列。

[0111] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码进一步包含MHC I类输运信号(MITD)的多肽。在一些实施方案中,其中所述MITD包含根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列或由根据SEQ

ID NO:479的氨基酸序列组成。

[0112] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码包含分泌信号的多肽。

[0113] 在一些实施方案中,分泌信号包括疟原虫分泌信号或由疟原虫分泌信号组成。在一些实施方案中,疟原虫分泌信号包括疟原虫CSP分泌信号或由疟原虫CSP分泌信号组成。在一些实施方案中,疟原虫CSP分泌信号包含根据SEQ ID NO:397的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:397的氨基酸序列组成。

[0114] 在一些实施方案中,分泌信号包括异源分泌信号或由异源分泌信号组成。在一些实施方案中,异源分泌信号包括非人分泌信号或由非人分泌信号组成。

[0115] 在一些实施方案中,异源分泌信号包括病毒分泌信号或由病毒分泌信号组成。

[0116] 在一些实施方案中,病毒分泌信号包括HSV分泌信号或由HSV分泌信号组成。在一些实施方案中,HSV分泌信号包括HSV-1或HSV-2分泌信号,或由HSV-1或HSV-2分泌信号组成。在一些实施方案中,HSV分泌信号包括HSV糖蛋白D(gD)分泌信号或由HSV糖蛋白D(gD)分泌信号组成。在一些实施方案中,HSV gD分泌信号包含根据SEQ ID NO:382的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:382的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,HSV gD分泌信号包含根据SEQ ID NO:388的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:388的氨基酸序列组成。

[0117] 在一些实施方案中,分泌信号包括埃博拉病毒分泌信号或由埃博拉病毒分泌信号组成。在一些实施方案中,埃博拉病毒分泌信号包括埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号或由埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号组成。在一些实施方案中,埃博拉病毒SGP分泌信号包含根据SEQ ID NO:400的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:400的氨基酸序列组成。

[0118] 在一些实施方案中,分泌信号位于多肽的N末端。

[0119] 在一些实施方案中,多肽包含跨膜区。

[0120] 在一些实施方案中,跨膜区包括疟原虫跨膜区或由疟原虫跨膜区组成。在一些实施方案中,疟原虫跨膜区包含疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区或由疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区组成。

[0121] 在一些实施方案中,疟原虫CSP GPI锚定区包含根据SEQ ID NO:444的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:444的氨基酸序列组成。

[0122] 在一些实施方案中,异源跨膜区包括人跨膜区或由人跨膜区组成。在一些实施方案中,异源跨膜区不包括血凝素跨膜区。在一些实施方案中,异源跨膜区包括非人跨膜区或由非人跨膜区组成。在一些实施方案中,异源跨膜区包括病毒跨膜区或由病毒跨膜区组成。

[0123] 在一些实施方案中,异源跨膜区包括HSV跨膜区或由HSV跨膜区组成。在一些实施方案中,HSV跨膜区包括HSV-1或HSV-2跨膜区,或者由HSV-1或HSV-2跨膜区组成。在一些实施方案中,HSV跨膜区包括HSV gD跨膜区或由HSV gD跨膜区组成。在一些实施方案中,HSV gD跨膜区包含根据SEQ ID NO:447的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:447的氨基酸序列组成。

[0124] 在一些实施方案中,跨膜区包括人跨膜区或由人跨膜区组成。在一些实施方案中,人跨膜区包含人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区或由人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区组成。在一些实施方案中,hDAF-GPI锚定区包含根据SEQ ID NO:450的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:450的氨基酸序列组成。

[0125] 在一些实施方案中,多肽不包含分泌信号。

[0126] 在一些实施方案中,多肽不包含跨膜区。

[0127] 在一些实施方案中,多肽包含一个或多个接头。在一些实施方案中,一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:452的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:452的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:459的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:459的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:456的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:456的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:460的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:460的氨基酸序列组成。

[0128] 在一些实施方案中,多肽包含两个疟原虫T细胞抗原之间的接头。

[0129] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原是一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原来自能够感染人的疟原虫物种。

[0130] 在一些实施方案中,一种或多种疟原虫T细胞抗原中的每一者包含至少21个氨基酸。

[0131] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸是分离的多核糖核苷酸。

[0132] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸是工程化多核糖核苷酸。

[0133] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸是密码子优化的多核糖核苷酸。

[0134] 在一些实施方案中,本文提供了RNA构建体,其按5’至3’顺序包含:

[0135] (i)5’UTR,其包括修饰的人α球蛋白5’-UTR或由修饰的人α球蛋白5’-UTR组成;

[0136] (ii)权利要求1-82中任一项的多核糖核苷酸;

[0137] (iii)包含第一序列和第二序列或由第一序列和第二序列组成的3’UTR,所述第一序列来自分裂的氨基末端增强子(AES)信使RNA,所述第二序列来自线粒体编码的12S核糖体RNA;和

[0138] (iv)聚A尾序列。

[0139] 在一些实施方案中,5’UTR包含根据SEQ ID NO:465的核糖核酸序列或由根据SEQ ID NO:465的核糖核酸序列组成。

[0140] 在一些实施方案中,3’UTR包含根据SEQ ID NO:471的核糖核酸序列或由根据SEQ ID NO:471的核糖核酸序列组成。

[0141] 在一些实施方案中,聚A尾序列是分裂聚A尾序列。

[0142] 在一些实施方案中,分裂聚A尾序列包含根据SEQ ID NO:467的核糖核酸序列或由根据SEQ ID NO:467的核糖核酸序列组成。

[0143] 在一些实施方案中,RNA构建体包含5’帽。

[0144] 在一些实施方案中,RNA构建体包含帽近端序列,所述帽近端序列包含多核糖核苷酸的位置+1、+2、+3、+4和+5。

[0145] 在一些实施方案中,RNA构建体包含5’帽,所述5’帽包含以下或由以下组成:m7(3’OMeG)(5’)ppp(5’)(2’OMeA_1)pG_2,其中A_1是多核糖核苷酸的位置+1,且G_2是多核糖核苷酸的位置+2。在一些实施方案中,RNA构建体进一步包含:帽近端序列,所述帽近端序列包含Cap1结构的A_1和G_2;以及包含:分别在多核糖核苷酸的位置+3、+4和+5处的$A_3A_4U_5$(SEQ ID NO:480)的序列。

[0146] 在一些实施方案中,本文公开了包含一种或多种多核糖核苷酸(例如,本文公开的

一种或多种多核糖核苷酸)的组合物。

[0147] 在一些实施方案中,本文公开了包含一种或多种RNA构建体(例如,本文公开的一种或多种RNA构建体)的组合物。

[0148] 在一些实施方案中,本文公开的组合物包含脂质纳米颗粒、多聚复合物(polyplex,PLX)、脂质化多聚复合物(LPLX)或脂质体。在一些实施方案中,一种或多种多核糖核苷酸被完全或部分地包封在脂质纳米颗粒、多聚复合物(PLX)、脂质化多聚复合物(LPLX)或脂质体内。

[0149] 在一些实施方案中,本文公开的组合物进一步包含脂质纳米颗粒,其中所述一种或多种多核糖核苷酸被包封在所述脂质纳米颗粒内。在一些实施方案中,脂质纳米颗粒靶向肝细胞。在一些实施方案中,脂质纳米颗粒靶向次级淋巴样器官细胞。在一些实施方案中,脂质纳米颗粒是阳离子脂质纳米颗粒。

[0150] 在一些实施方案中,脂质纳米颗粒各自包含:

[0151] (a)聚合物缀合脂质;

[0152] (b)阳离子可离子化的脂质;和

[0153] (c)一种或多种中性脂质。

[0154] 在一些实施方案中,聚合物缀合脂质包括PEG缀合脂质。在一些实施方案中,聚合物缀合脂质包括2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺。

[0155] 在一些实施方案中,一种或多种中性脂质包括1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPSC)。

[0156] 在一些实施方案中,一种或多种中性脂质包括胆固醇。

[0157] 在一些实施方案中,阳离子可离子化的脂质包括[(4-羟基丁基)氮烷二基]二(己烷-6,1-二基)双(2-己基癸酸酯)。

[0158] 在一些实施方案中,脂质纳米颗粒具有约50-150nm的平均直径。

[0159] 在一些实施方案中,本公开提供了药物组合物,其包含组合物(例如,本文公开的组合物)和至少一种药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,药物包含冷冻保护剂,任选其中所述冷冻保护剂是蔗糖。在一些实施方案中,药物包含缓冲水溶液,任选其中所述缓冲水溶液包含Tris碱、Tris HCl、NaCl、KCl、Na_2HPO_4和KH_2PO_4中的一者或多者。

[0160] 在一些实施方案中,本公开提供了包含以下的组合:

[0161] (i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸编码第一多肽,且所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原;和

[0162] (ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸编码第二多肽,且所述第二多肽包含一个或多个疟原虫抗原性多肽区或其部分。

[0163] 在一些实施方案中,组合包含第一药物组合物,所述第一药物组合物包含本文公开的多核糖核苷酸。

[0164] 在一些实施方案中,本文公开的组合包含编码多肽的第二多核糖核苷酸,所述多肽包含一个或多个疟原虫抗原性多肽区或其部分,并且包含一个或多个疟原虫CSP区或其部分。

[0165] 在一些实施方案中,组合包含:

[0166] (i)第一药物组合物,其包含编码第一多肽的多核糖核苷酸,其中所述第一多肽包

含一种或多种疟原虫T细胞抗原,且其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含疟原虫N末端区或其部分,但不包含疟原虫C末端区或其部分;和

[0167] (ii)第二药物组合物,其包含编码第二多肽的多核糖核苷酸,其中所述第二多肽包含一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分,且其中所述一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分包含疟原虫CSP C末端区或其部分,但不包含疟原虫CSP N末端区或其部分。

[0168] 在一些实施方案中,本文公开的组合包含第一药物组合物和第二药物组合物,其中第一和第二药物组合物不在同一组合物中。

[0169] 在一些实施方案中,本文公开了包含以下的组合:

[0170] (i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物;和

[0171] (ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸。

[0172] 在一些实施方案中,本公开提供了包括对受试者施用多核糖核苷酸(例如,本文公开的多核糖核苷酸)的方法。

[0173] 在一些实施方案中,本公开提供了包括对受试者施用RNA构建体(例如,本文公开的RNA构建体)的方法。

[0174] 在一些实施方案中,本公开提供了包括对受试者施用组合物(例如,本文公开的组合物)的方法。

[0175] 在一些实施方案中,本公开提供了包括对受试者施用一个或多个剂量的药物组合物(例如,本文公开的药物组合物)的方法。

[0176] 在一些实施方案中,本公开提供了用于治疗疟疾感染的药物组合物,其中所述方法包括对受试者施用一个或多个剂量的所述药物组合物。

[0177] 在一些实施方案中,本公开提供了用于预防疟疾感染的药物组合物,包括对受试者施用一个或多个剂量的所述药物组合物。

[0178] 在一些实施方案中,本文公开的方法或用于本文公开的用途的药物组合物包括对受试者施用两个或更多个剂量的所述药物组合物。

[0179] 在一些实施方案中,方法包括对受试者施用三个或更多个剂量的本文公开的药物组合物。在一些实施方案中,供使用的药物组合物包括对受试者施用三个或更多个剂量的本文公开的药物组合物。在一些实施方案中,在对受试者施用三个或更多个剂量中的第一剂量后至少4周对受试者施用三个或更多个剂量中的第二剂量。在一些实施方案中,在对受试者施用三个或更多个剂量中的第二剂量后至少4周对受试者施用三个或更多个剂量中的第三剂量。

[0180] 在一些实施方案中,方法包括对受试者施用第四剂量的本文公开的药物组合物。在一些实施方案中,供使用的药物组合物包括对受试者施用第四剂量的本文公开的药物组合物。在一些实施方案中,在对受试者施用三个或更多个剂量中的第三剂量后至少一年对受试者施用第四剂量。

[0181] 在一些实施方案中,方法包括施用组合(例如,本文公开的组合)。在一些实施方案中,方法包括施用包含第一药物组合物和第二药物组合物的组合。在一些实施方案中,第一和第二药物组合物在同一天施用。在一些实施方案中,第一和第二药物组合物在不同日施用。在一些实施方案中,在受试者身体的不同位置对受试者施用第一和第二药物组合物。

[0182] 在一些实施方案中,本公开提供了治疗疟疾感染的方法。

[0183] 在一些实施方案中,本公开提供了预防疟疾感染的方法。

[0184] 在一些实施方案中,受试者患有疟疾感染或有患上疟疾感染的风险。在一些实施方案中,受试者是人。

[0185] 在一些实施方案中,施用本文公开的药物组合物、本文公开的组合或本文公开的多核糖核苷酸在受试者中诱导抗疟疾免疫反应。在一些实施方案中,受试者中的抗疟疾免疫反应包括适应性免疫反应。在一些实施方案中,抗疟疾免疫反应包括T细胞反应。在一些实施方案中,T细胞反应是或包括CD4+T细胞反应、CD8+T细胞反应和/或B细胞反应。在一些实施方案中,抗疟疾免疫系统反应包括产生针对一种或多种疟原虫抗原的抗体。

[0186] 在一些实施方案中,本公开提供了药物组合物(例如,本文所述的药物组合物)在治疗疟疾感染中的用途。

[0187] 在一些实施方案中,本公开提供了药物组合物(例如,本文所述的药物组合物)在预防疟疾感染中的用途。

[0188] 在一些实施方案中,本公开提供了药物组合物(例如,本文公开的药物组合物)在诱导受试者的抗疟疾免疫反应中的用途。

[0189] 在一些实施方案中,本公开提供了由本文所述的多核糖核苷酸编码的多肽。

[0190] 在一些实施方案中,本公开提供了由本文所述的RNA构建体编码的多肽。

[0191] 在一些实施方案中,本公开提供了包含多核糖核苷酸(例如,本文所述的多核糖核苷酸)的宿主细胞。

[0192] 在一些实施方案中,本公开包括宿主细胞(例如,包含本文公开的多核糖核苷酸、本文所述的RNA构建体和/或本文公开的多肽的宿主细胞)。

附图说明

[0193] 图1展示用于确认、选择和/或表征根据本公开使用的抗原(例如,疟原虫蛋白,包括其特定变体和/或表位,特别是T细胞表位)的示例性工作流程。

[0194] 图2A-2K显示十一种疟原虫蛋白(具体地,CSP、TRAP、EXP1、UIS3、ETRAMP10.3、LISP-1、LISP-2、LSA-1、LSA-3、LSAP1和LSAP2)的免疫学表征,并且还描绘了选择用于在根据本公开使用的抗原(例如,串构建体抗原)中包含的片段。

[0195] 图2L显示由本文所述的示例性RNA构建体编码的疟原虫多肽的抗原性片段。

[0196] 图2M显示疟原虫蛋白LSA-3的抗原性片段。

[0197] 图3展示如本文所述含有抗原的示例性疟原虫T细胞串多肽构建体的示意图。

[0198] 图4A-4F描绘如通过IFN-γ的分泌评估的T细胞的激活。图4A显示包括给药和肽串构建体设计的示例性研究设计。图4B-4D显示使用与构建体特异性抗原肽池(15聚体,跨抗原11aa重叠)一起温育的分离的脾细胞(来自用不同T细胞肽串构建体免疫的小鼠)评估IFN-γ分泌。图4E描绘分离的脾细胞(来自第2组和第3组中的小鼠,以及分离自第4组中的小鼠的脾细胞)对特异性抗原肽池的反应的比较。图4F描绘分离的脾细胞(来自第2组中的小鼠,以及分离自第1组中的小鼠的脾细胞)对特异性抗原肽池的反应的比较。

[0199] 图5A-5I描绘如通过IFN-γ的分泌评估的T细胞的激活。图5A显示包括给药和肽串构建体设计的示例性研究设计。图5B-5I显示使用与构建体特异性抗原肽池(15聚体,跨抗原11aa重叠)一起温育的分离的脾细胞(来自用不同T细胞肽串构建体免疫的小鼠)评估

IFN-γ分泌。

[0200] 图6A-6B描绘如使用分离的脾细胞(来自单独用T细胞肽串构建体或用T细胞串构建体组合免疫的小鼠)通过IFN-γ的分泌评估的T细胞的激活的评估。

[0201] 图7A-7B描绘如使用分离的脾细胞(来自用较短的T细胞肽串构建体或具有相同抗原含量的较长的T细胞肽串免疫的小鼠)通过IFN-γ的分泌评估的T细胞的激活的评估。

[0202] 图8描绘将包括RNA构建体55和57的组合转染到细胞中以产生可检测的蛋白质产物。显示了将2.5μg每种药物产品共转染到HEK293T细胞系中之后24h的相对蛋白质表达。

[0203] 定义

[0204] 本公开的化合物包括上文基本上描述的那些,并且通过本文公开的类别、子类和物种进一步说明。如本文所用,除非另有说明,否则以下定义应适用。出于本公开的目的,根据Periodic Table of Elements,CAS version,Handbook of Chemistry and Physics,第75版来鉴定化学元素。此外,有机化学的一般原则描述于"Organic Chemistry",Thomas Sorrell,University Science Books,Sausalito:1999和"March's Advanced Organic Chemistry",第5版,编辑:Smith,M.B.和March,J.,John Wiley&Sons,New York:2001,其全部内容以引用的方式特此并入。

[0205] 除非另有说明,否则本文描绘的结构意图包括所述结构的所有立体异构体(例如,对映异构体或非对映异构体)形式,以及所述结构的所有几何或构象异构体形式。例如,每个立构中心的R和S构型被认为是本公开的一部分。因此,所提供的化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体和几何(或构象)混合物是在本公开的范围内。例如,在一些情况下,所提供的化合物示出了化合物的一种或多种立体异构体,并且除另有说明外,代表了单独的和/或作为混合物的每种立体异构体。除另有说明外,所提供的化合物的所有互变异构形式均在本公开的范围内。

[0206] 除另有说明外,本文描绘的结构意图包括不同之处仅在于存在一个或多个同位素富集原子的化合物。例如,具有本公开结构(包括氢被氘或氚置换或碳被13C富集碳或14C富集碳置换)的化合物是在本公开的范围内。

[0207] 约:术语"约"在本文中用于指代一个值时是指在上下文中与所指值相似的值。一般来说,熟悉上下文的本领域技术人员将了解"约"在该上下文中所涵盖的相关变化程度。例如,在一些实施方案中,术语"约"可涵盖所指值的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小以内的一系列值。

[0208] 剂:如本文所用,术语"剂"可以指物理实体。在一些实施方案中,剂可以通过特定的特征和/或效果来表征。例如,如本文所用,术语"治疗剂"是指具有治疗效果和/或引起所需的生物和/或药理学效果的物理实体。在一些实施方案中,剂可以是任何化学类别的化合物、分子或实体,包括例如小分子、多肽、核酸、糖、脂质、金属或它们的组合或复合物。

[0209] 氨基酸:在最广泛的意义上,如本文所用,术语"氨基酸"是指可以被、被或已经被并入多肽链中的化合物和/或物质,例如通过形成一个或多个肽键。在一些实施方案中,氨基酸具有一般结构H_2N-C(H)(R)-COOH。在一些实施方案中,氨基酸是天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,氨基酸是非天然氨基酸;在一些实施方案中,氨基酸是D-氨基酸;在一些实施方案中,氨基酸是L-氨基酸。"标准氨基酸"是指在天然存在的肽中常见的二十种标准

L-氨基酸中的任一者。“非标准氨基酸”是指除标准氨基酸以外的任何氨基酸,无论其是合成制备的抑或从天然来源获得的。在一些实施方案中,多肽中的氨基酸(包括羧基和/或氨基末端氨基酸)与上述一般结构相比可含有结构修饰。例如,在一些实施方案中,与一般结构相比,氨基酸可以通过(例如,氨基、羧酸基团、一个或多个质子和/或羟基的)甲基化、酰胺化、乙酰化、聚乙二醇化、糖基化、磷酸化和/或取代被修饰。在一些实施方案中,与含有其它方面同一的未修饰的氨基酸的多肽相比,这类修饰可例如改变含有修饰的氨基酸的多肽的循环半衰期。在一些实施方案中,与含有其它方面同一的未修饰的氨基酸的多肽相比,这类修饰不会显著改变含有修饰的氨基酸的多肽的相关活性。从上下文可以清楚地看出,在一些实施方案中,术语“氨基酸”可用于指游离氨基酸;在一些实施方案中,其可用于指多肽的氨基酸残基。

[0210] 抗原:如本文所用的术语“抗原”是指引发免疫反应的剂;和/或(ii)与T细胞受体(例如,当由MHC分子呈递时)或与抗体结合的剂。

[0211] 抗疟疾免疫反应:如本文所用的术语“抗疟疾免疫反应”是指针对来源于疟原虫的一种或多种抗原的免疫反应。

[0212] 相关:当在本文中使用所述术语时,如果一个事件或实体的存在、水平、程度、类型和/或形式与另一事件或实体的存在、水平、程度、类型和/或形式相关,则两个事件或实体彼此“相关”。例如,如果特定实体(例如,多肽、遗传特征、代谢物、微生物等)的存在、水平和/或形式与特定疾病、病症或病状的发病率、易感性、严重程度、阶段等相关(例如,在相关群体之中),则认为它与所述疾病、病症或病状相关。在一些实施方案中,如果两个或更多个实体直接或间接相互作用,使得它们彼此在物理上接近和/或保持物理上接近,则它们在物理上彼此“缔合”。在一些实施方案中,物理上彼此缔合的两个或更多个实体彼此共价连接;在一些实施方案中,物理上彼此缔合的两个或更多个实体彼此不共价连接,而是非共价缔合,例如通过氢键、范德华相互作用、疏水相互作用、磁力及其组合。

[0213] C末端结构域:如本文所用的术语“C末端结构域”是指CSP多肽的对应于恶性疟原虫(分离株3D7)(SEQ ID NO:1)的野生型CSP序列的氨基酸273-397的区域。

[0214] C末端区:如本文所用的术语“C末端区”是指CSP多肽的对应于野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸273-375的区域。在一些实施方案中,丝氨酸紧跟在C末端区之后。在一些实施方案中,丝氨酸和缬氨酸紧跟在C末端区之后。

[0215] 中心结构域:如本文所用的术语“中心结构域”是指CSP多肽的对应于野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸105-272的区域。

[0216] 组合疗法:如本文所用,术语“组合疗法”是指其中受试者同时暴露于两种或更多种治疗方案(例如,两种或更多种治疗剂(例如,两种或更多种抗体剂))的那些情况。在一些实施方案中,可以同时施用两种或更多种方案;在一些实施方案中,可以依序施用这类方案(例如,施用第一方案的所有“剂量,”之后施用第二方案的任何剂量);在一些实施方案中,以重叠给药方案施用这类剂。在一些实施方案中,组合疗法的施用可涉及向受试者施用一种或多种剂或方式,所述受试者正接受所述组合中的其它剂或方式。为了清楚起见,组合疗法不要求将个别的剂在单一组合物中一起施用(或甚至不必要同时施用),但在一些实施方案中,两种或更多种剂或其活性部分可以组合在组合物中一起施用。

[0217] 可比较的:如本文所用,术语“可比较的”是指两种或更多种剂、实体、情况、条件集

合等,它们可能彼此不是同一的,但是足够相似,从而允许在它们之间进行比较,使得本领域技术人员将理解,可以基于所观察到的差异或相似性合理地得出结论。在一些实施方案中,根据多个基本上同一的特征和一个或少量变化的特征来表征可比较的条件、环境、个体或群体的集合。本领域普通技术人员将理解,在上下文中,在任何给定情况下,两种或更多种这类剂、实体、情况、条件组等需要何种程度的同一性才被认为是可比较的。例如,本领域的普通技术人员将认识到,当环境、个体或群体的集合的特征在于保证得出以下合理结论的足够数目和类型的基本上相同的特征时,彼此是可比较的:在不同的环境、个体或群体的集合下获得的结果或观察到的现象的差异由那些不同特征的变化引起或指示。

[0218] 对应于:如本文所用,术语“对应于”是指两个或更多个实体之间的关系。例如,术语“对应于”可用于表示化合物或组合物中的结构要素相对于另一化合物或组合物(例如,相对于适当的参考化合物或组合物)的位置/身份。例如,在一些实施方案中,聚合物中的单体残基(例如,多肽中的氨基酸残基或多核苷酸中的核酸残基)可以被鉴定为“对应于”适当参考聚合物中的残基。例如,本领域的普通技术人员将了解,为了简单起见,多肽中的残基通常使用基于参考相关多肽的规范编号系统来指定,使得例如“对应于”位置190处的残基的氨基酸实际上不必是特定氨基酸链中的第190个氨基酸,而是对应于参考多肽中的190处所见的残基;本领域的普通技术人员很容易了解如何鉴定“相应的”氨基酸。例如,本领域技术人员将知晓各种序列比对策略,包括软件程序,例如BLAST、CS-BLAST、CUSASW++、DIAMOND、FASTA、GGSEARCH/GLSEARCH、Genoogle、HMMER、HHpr ed/HHsearch、IDF、Infernal、KLAST、USEARCH、parasail、PSI-BL AST、PSI-Search、ScalaBLAST、Sequilab、SAM、SSEARCH、SWAPHI、SWAPHI-LS、SWIMM或SWIPE,它们可用来例如鉴定根据本公开的多肽和/或核酸中的“相应”残基。本领域技术人员还将了解的是,在一些情况下,术语“对应于”可用于描述与另一事件或实体(例如,适当的参考事件或实体)共有相关的相似性的事件或实体。仅举一个例子,一种生物体中的基因或蛋白质可以被描述为“对应于”来自另一种生物体的基因或蛋白质,以便在一些实施方案中指出它发挥类似的作用或执行类似的功能和/或它显示出特定程度的序列同一性或同源性,或共享特定的特征序列元件。

[0219] 给药方案:本领域技术人员将了解,术语“给药方案”(或“治疗方案”)可用于指代一组单位剂量(通常多于一个),它们通常相隔一定时间段对受试者单独施用。在一些实施方案中,给定的治疗剂具有推荐的给药方案,其可涉及一个或多个剂量。

[0220] 编码:如本文所用,术语“编码(encode/encoding)”是指第一分子的序列信息,其指导产生具有确定的核苷酸序列(例如,多核糖核苷酸)或确定的氨基酸序列的第二分子。例如,DNA分子可以编码RNA分子(例如,通过包括DNA依赖性RNA聚合酶的转录过程)。RNA分子可以编码多肽(例如,通过翻译过程)。因此,如果对应于基因的RNA的转录和翻译在细胞或其它生物系统中产生多肽,则所述基因、cDNA或RNA分子编码所述多肽。在一些实施方案中,编码靶抗原的多核糖核苷酸的编码区是指编码链,其核苷酸序列与这种靶抗原的多核糖核苷酸序列是同一的。在一些实施方案中,编码靶抗原的多核糖核苷酸的编码区是指这种靶抗原的非编码链,其可用作基因或cDNA转录的模板。

[0221] 表达:如本文所用,术语核酸序列的“表达”是指由核酸序列产生基因产物。在一些实施方案中,基因产物可以是转录本,例如本文所提供的多核糖核苷酸。在一些实施方案中,基因产物可以是多肽。在一些实施方案中,核酸序列的表达涉及以下中的一者或多者:

(1)由DNA序列产生RNA模板(例如,通过转录);(2)RNA转录本的加工(例如,通过剪接、编辑等);(3)将RNA翻译成多肽或蛋白质;和/或(4)多肽或蛋白质的翻译后修饰。

[0222] 异源:如本文所用,关于分泌信号或跨膜区的术语“异源”是指来自病毒或除疟原虫以外的生物体的分泌信号或跨膜区。

[0223] 同源性:如本文所用,术语“同源性”或“同源物”是指多核苷酸分子(例如,DNA分子和/或RNA分子)之间和/或多肽分子之间的总体相关性。在一些实施方案中,如果多核苷酸分子(例如,DNA分子和/或RNA分子)和/或多肽分子的序列是至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%同一的,则它们被认为是彼此“同源的”。在一些实施方案中,如果多核苷酸分子(例如,DNA分子和/或RNA分子)和/或多肽分子的序列是至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%相似的(例如,在相应位置处含有化学特性相关的残基),则它们被认为是彼此“同源的”。例如,如本领域技术人员众所周知的,某些氨基酸通常被分类为彼此相似的“疏水性”或“亲水性”氨基酸,和/或具有“极性”或“非极性”侧链。用一个氨基酸取代相同类型的另一氨基酸通常被视为“同源”取代。

[0224] 同一性:如本文所用,术语“同一性”是指多核苷酸分子(例如,DNA分子和/或RNA分子)之间和/或多肽分子之间的总体相关性。在一些实施方案中,如果多核苷酸分子(例如,DNA分子和/或RNA分子)和/或多肽分子的序列是至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一的,则它们被认为是彼此“基本上同一的”。两个核酸或多肽序列的同一性百分比的计算例如可通过出于最佳比较的目的比对两个序列来进行(例如,可以在第一和第二序列中的一者或两者中引入缺口用于最佳比对,并且出于比较的目的,可以忽略非同一的序列)。在某些实施方案中,出于比较的目的比对的序列的长度是参考序列的长度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或基本上100%。然后比较在相应位置处的核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中的相应位置相同的残基(例如,核苷酸或氨基酸)占据时,则所述分子在所述位置处是同一的。考虑到缺口的数目和每个缺口的长度,两个序列之间的同一性百分比是所述序列共有的同一位置的数目的函数,所述缺口是为了两个序列的最佳比对需要引入的。可以使用数学算法来完成两个序列之间的序列的比较和同一性百分比的确定。例如,可以使用已并入ALIGN程序(2.0版)中的Meyers和Miller,1989的算法来确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。在一些示例性实施方案中,用ALIGN程序进行的核酸序列比较使用PAM120权重残基表、缺口长度罚分12和缺口罚分4。或者可以使用GCG软件包中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵来确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。

[0225] 增加的、诱导的或减少的:如本文所用,这些术语或语法上可比较的比较术语指示相对于可比较的参考测量值的值。例如,在一些实施方案中,用所提供的组合物(例如,药物组合物)获得的评估值相对于用可比较的参考组合物获得的评估值可以是“增加的”。或者或另外,在一些实施方案中,在受试者中获得的评估值相对于在同一受试者中的不同条件下(例如,在事件之前或之后;或者存在或不存在事件,如施用如本文所述的组合物(例如,药物组合物)或者在不同的可比较的受试者中(例如,在与关注的受试者不同的可比较的受试者中,所述关注的受试者先前暴露于例如不存在如本文所述的组合物(例如,药物组合

物)的施用的条件)获得的评估值可以是“增加的”。在一些实施方案中,比较术语是指统计学上相关的差异(例如,普遍性和/或量级足以达到统计学相关性)。本领域技术人员将会意识到或者将能够很容易地在给定的背景下确定达到这种统计学显著性所需或足够的差异程度和/或普遍性。在一些实施方案中,术语“减少的”或等同术语是指如与可比较的参考相比,评估值的水平降低至少5%、至少10%、至少20%、至少50%、至少75%或更高。在一些实施方案中,术语“减少的”或等同术语是指完全或基本上完全的抑制,即减少至零或基本上减少至零。在一些实施方案中,术语“增加的”或“诱导的”是指如与可比较的参考相比,评估值的水平增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少80%、至少100%、至少200%、至少500%或更高。

[0226] 依次:如本文中关于多核苷酸或多核糖核苷酸所用,“依次”是指沿多核苷酸或多核糖核苷酸从5’至3’的特征的顺序。如本文中关于多肽所用,“依次”是指沿多肽从最靠近N末端的特征移动至最靠近C末端的特征的特征的顺序。“依次”并不意味着所列出的特征中不能存在另外的特征。例如,如果多核苷酸的特征A、B和C在本文中被描述为“依次为特征A、特征B和特征C”,则这种描述并不排除例如特征D位于特征A与B之间。

[0227] 分离的:术语“分离的”意指从天然状态改变或脱离天然状态。例如,活的动物中天然存在的核酸或肽不是“分离的”,但与它的天然状态的共存材料部分或完全分离的相同核酸或肽是“分离的”。分离的核酸或蛋白质可以以基本上纯化的形式存在,或者可以在非天然环境(例如,宿主细胞)中存在。

[0228] 接合区:如本文所用的术语“接合区”是指CSP多肽的对应于野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸93-104的区域。

[0229] 接合区变体:如本文所用的术语“接合区变体”是指与野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸93-104相比包含一个或多个取代突变的接合区。

[0230] 接头:如本文所用,术语“接头”是指多肽的一部分,其将不同的区域、部分或抗原彼此连接。

[0231] 脂质:如本文所用,术语“脂质”和“脂质样物质”广义地定义为包含一个或多个疏水部分或基团并且任选地还包含一个或多个亲水部分或基团的分子。包含疏水部分和亲水部分的分子通常也被称为两亲分子。

[0232] 主要重复序列区:如本文所用,术语“主要重复序列区”是指CSP多肽的对应于野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸129-272并且含有氨基酸序列NANP(SEQ ID NO:108)的35个重复序列的区域。氨基酸序列NANP(SEQ ID NO:108)的35个重复序列被分成两个连续段,第一段含有氨基酸序列NANP(SEQ ID NO:108)的17个重复序列,且第二段含有氨基酸序列NANP(SEQ ID NO:108)的18个重复序列,它们侧接NVDP(SEQ ID NO:105)的氨基酸序列。主要重复序列区的一部分含有至少氨基酸序列NPNA (SEQ ID NO:104)。优选地,主要重复序列区的一部分含有至少氨基酸序列N ANPNA(SEQ ID NO:114)和NPNANP(SEQ ID NO:111)。如本文所用,关于序列A的“重复序列”是指序列A出现一次,且序列A的“一个或多个重复序列”是指序列A出现一次或多次。

[0233] 裂殖子阶段特异性疟原虫抗原:如本文所用,术语“裂殖子阶段特异性疟原虫抗原”是指在疟原虫生命周期的裂殖子阶段期间被表达的抗原。

[0234] 次要重复序列区:如本文所用,术语“次要重复序列区”是指CSP多肽的对应于野生

型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸105-128并且含有氨基酸序列NANPNVDP(SEQ ID NO:477)的3个重复序列的区域。次要重复序列区不含氨基酸序列NPNA(SEQ ID NO:104),并且不含氨基酸序列NANPNA(SEQ ID NO:114)或NPNANP(SEQ ID NO:111)。如本文所用,关于序列A的"重复序列"是指序列A出现一次,且序列A的三个重复序列是指序列A出现三次。

[0235] N末端结构域:如本文所用,术语"N末端结构域"是指CSP多肽的对应于野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸19-92的区域。

[0236] N末端端部区:如本文所用,术语"N末端端部区"是指CSP多肽的对应于野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸81-92的区域。

[0237] N末端区:如本文所用,术语"N末端区"是指CSP多肽的对应于野生型CSP序列(SEQ ID NO:1)的氨基酸19-80的区域。

[0238] RNA脂质纳米颗粒:如本文所用,术语"RNA脂质纳米颗粒"是指包含至少一种脂质和RNA分子(例如本文提供的一种或多种多核糖核苷酸)的纳米颗粒。在一些实施方案中,RNA脂质纳米颗粒包含至少一种阳离子氨基脂质。在一些实施方案中,RNA脂质纳米颗粒包含至少一种阳离子氨基脂质、至少一种辅助脂质和至少一种聚合物缀合脂质(例如,PEG缀合脂质)。在各种实施方案中,如本文所述的RNA脂质纳米颗粒可具有约100nm至1000nm或约200nm至900nm或约200nm至800nm或约250nm至约700nm的平均尺寸(例如,Z平均值)。在本公开的一些实施方案中,RNA脂质纳米颗粒可具有约30nm至约200nm或约30nm至约150nm、约40nm至约150nm、约50nm至约150nm、约60nm至约130nm、约70nm至约110nm、约70nm至约100nm、约80nm至约100nm、约90nm至约100nm、约70至约90nm、约80nm至约90nm或约70nm至约80nm的粒径(例如,Z平均值)。在一些实施方案中,通过测量平均颗粒直径来确定脂质纳米颗粒的平均尺寸。在一些实施方案中,可以通过将脂质与本文所述的RNA分子混合来制备RNA脂质纳米颗粒。

[0239] 中和:如本文所用,术语"中和"是指如下事件,其中结合剂(如抗体)与寄生虫的生物活性位点(如受体结合蛋白)结合,从而抑制细胞的寄生虫感染。在一些实施方案中,术语"中和"是指其中结合剂消除或显著降低感染细胞的能力的事件。

[0240] 核酸/多核苷酸:如本文所用,术语"核酸"是指至少10个或更多个核苷酸的聚合物。在一些实施方案中,核酸是或包含DNA。在一些实施方案中,核酸是或包含RNA。在一些实施方案中,核酸是或包含肽核酸(PNA)。在一些实施方案中,核酸是或包含单链核酸。在一些实施方案中,核酸是或包含双链核酸。在一些实施方案中,核酸包含单链部分和双链部分两者。在一些实施方案中,核酸包含含有一个或多个磷酸二酯键联的主链。在一些实施方案中,核酸包含含有磷酸二酯和非磷酸二酯键联两者的主链。例如,在一些实施方案中,核酸可包含含有一个或多个硫代磷酸酯或5'-N-亚磷酰胺键联和/或一个或多个肽键的主链,例如在"肽核酸"中。在一些实施方案中,核酸包含一种或多种或所有的天然残基(例如,腺嘌呤、胞嘧啶、脱氧腺苷、脱氧胞苷、脱氧鸟苷、脱氧胸苷、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、尿嘧啶)。在一些实施方案中,核酸包含一种或多种或所有的非天然残基。在一些实施方案中,非天然残基包含核苷类似物(例如,2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并-嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞苷、C-5丙炔基-胞苷、C-5丙炔基-尿苷、2-氨基腺苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基-尿苷、C5-丙炔基-胞苷、C5-甲基胞苷、2-氨基腺苷、7-脱氮腺苷、7-脱氮鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、6-O-甲基鸟嘌呤、2-硫代胞苷、甲基化碱基、插入碱基及其组合)。在一

些实施方案中,如与天然残基中的那些糖相比,非天然残基包含一种或多种修饰的糖(例如,2'-氟核糖、核糖、2'-脱氧核糖、阿拉伯糖和己糖)。在一些实施方案中,核酸具有编码功能性基因产物(如RNA或多肽)的核苷酸序列。在一些实施方案中,核酸具有包含一个或多个内含子的核苷酸序列。在一些实施方案中,可以通过从天然来源中分离、酶促合成(例如,通过基于互补模板的聚合,例如在体内或体外)、在重组细胞或系统中复制或化学合成来制备核酸。在一些实施方案中,核酸的长度为至少3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、1 10、120、130、140、150、160、170、180、190、20、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、9500、10,000、10,500、11,000、11,500、12,000、12,500、13,000、13,500、14,000、14,500、15,000、15,500、16,000、16,500、17,000、17,500、18,000、18,500、19,000、19,500或20,000个或更多个残基或核苷酸。

[0241] 药学有效量:术语"药学有效量"或"治疗有效量"是指单独或与更多的剂量一起实现所需反应或所需效果的量。在治疗特定疾病(例如,疟疾)的情况下,一些实施方案中的所需反应涉及抑制疾病(例如,疟疾)的进程。在一些实施方案中,这种抑制可包括减缓疾病(例如,疟疾)的进展和/或中断或逆转疾病(例如,疟疾)的进展。在一些实施方案中,疾病(例如,疟疾)治疗中的所需反应可以是或包括延迟或预防疾病(例如,疟疾)或病状(例如,疟疾相关病状)的发作。本文所述的组合物(例如,药物组合物)的有效量将取决于例如要治疗的疾病(例如,疟疾)或病状(例如,疟疾相关病状)、这种疾病(例如,疟疾)或病状(例如,疟疾相关病状)的严重程度、患者的个体参数(包括例如年龄、生理状况、体型和体重)、治疗持续时间、伴随疗法的类型(如果有的话)、特定施用途径和类似的因素。因此,本文所述的组合物(例如,药物组合物)的剂量可取决于各种这类参数。在患者对初始剂量的反应不充分的情况下,可以使用更高的剂量(或通过不同的更加局部化的施用途径获得的有效更高的剂量)。

[0242] 多肽:如本文所用,术语"多肽"是指氨基酸的聚合链。在一些实施方案中,多肽具有天然存在的氨基酸序列。在一些实施方案中,多肽具有不是天然存在的氨基酸序列。在一些实施方案中,多肽具有工程化的氨基酸序列,因为所述序列是通过人工作用设计和/或产生的。在一些实施方案中,多肽可包含天然氨基酸、非天然氨基酸或两者,或由其组成。在一些实施方案中,多肽可仅包含天然氨基酸或仅包含非天然氨基酸或由其组成。在一些实施方案中,多肽可包含D-氨基酸、L-氨基酸或两者。在一些实施方案中,多肽可仅包含D-氨基酸。在一些实施方案中,多肽可仅包含L-氨基酸。在一些实施方案中,多肽可包括一个或多个侧基或其它修饰,例如在多肽的N末端、在多肽的C末端或它们的任何组合处修饰或连接至一个或多个氨基酸侧链。在一些实施方案中,这类侧基或修饰包含乙酰化、酰胺化、脂化、甲基化、聚乙二醇化等,包括它们的组合。在一些实施方案中,多肽可以是环状的,和/或可以包含环状部分。在一些实施方案中,多肽不是环状的,和/或不包含任何环状部分。在一些实施方案中,多肽是线性的。在一些实施方案中,多肽可以是或包含装订多肽。在一些实施方案中,术语"多肽"可以附加至参考多肽的名称、活性或结构上;在这类情况下,它在本文中用于指代共有相关活性或结构的多肽并且因此可以被认为是同一类别或家族的多肽的成员。对于每个这类类别,本说明书提供和/或本领域技术人员将知晓所述类别内已知氨基

酸序列和/或功能的示例性多肽;在一些实施方案中,这类示例性多肽是所述多肽类别或家族的参考多肽。在一些实施方案中,多肽类别或家族的成员显示出与所述类别的参考多肽显著的序列同源性或同一性,与所述类别的参考多肽共有共同的序列基序(例如,特征性序列元件),和/或与所述类别的参考多肽共有共同的活性(在一些实施方案中在可比较的水平下或在指定的范围内);在一些实施方案中是针对所述类别内的所有多肽)。例如,在一些实施方案中,成员多肽显示出与参考多肽的总体序列同源性或同一性的程度为至少约30-40%,并且通常大于约50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多,和/或包括至少一个区域(例如,在一些实施方案中可以是或包含特征性序列元件的保守区),所述区域显示出非常高的序列同一性,通常大于90%或甚至95%、96%、97%、98%或99%。这种保守区通常涵盖至少3-4个并且通常多达35个或更多个氨基酸;在一些实施方案中,保守区涵盖至少一个至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35个或更多个连续氨基酸的段。在一些实施方案中,相关多肽可包含亲本多肽的片段或由亲本多肽的片段组成。在一些实施方案中,多肽是本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体。疟原虫T细胞串多肽构建体是包括来自一种或多种疟原虫蛋白的一种或多种T细胞抗原或其一个或多个部分的多肽。在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体另外包括一个或多个另外的氨基酸序列,如分泌信号(例如,异源分泌信号)、跨膜区(例如,异源跨膜区)、输运信号和/或接头,如本文所述。

[0243] 预防:如本文所用,术语“预防(prevent/prevention)”当与疾病、病症和/或病状的出现结合使用时是指降低患上所述疾病、病症和/或病状的风险和/或延迟所述疾病、病症或病状的一种或多种特征或症状的发作。当疾病、病症或病状的发作已延迟预定时间段时,可以认为预防是完全的。在一些实施方案中,预防是指降低罹患临床疟疾的风险。

[0244] 参考:如本文所用,术语“参考”描述的是进行比较所相对的标准或对照。例如,在一些实施方案中,将关注的剂、动物、个体、群体、样品、序列或值与参考或对照剂、动物、个体、群体、样品、序列或值进行比较。在一些实施方案中,参考或对照基本上与关注的测试或测定同时进行测试和/或测定。在一些实施方案中,参考或对照是历史参考或对照,任选体现在有形培养基中。通常,如本领域技术人员将理解,参考或对照是在与所评估的那些条件或情况可比较的条件或情况下进行测定或表征的。本领域技术人员将了解何时存在足够的相似性来证明依赖于特定可能的参考或对照和/或与特定可能的参考或对照进行比较是合理的。

[0245] 核糖核酸(RNA)或多核糖核苷酸:如本文所用,术语“核糖核酸”、“RNA”或“多核糖核苷酸”是指核糖核苷酸的聚合物。在一些实施方案中,RNA是单链的。在一些实施方案中,RNA是双链的。在一些实施方案中,RNA包含单链部分和双链部分两者。在一些实施方案中,RNA可包含如上文“核酸/多核苷酸”的定义中描述的主链结构。RNA可以是调节RNA(例如,siRNA、微RNA等)或信使RNA(mRNA)。在一些实施方案中,RNA是mRNA。在其中RNA是mRNA的一些实施方案中,RNA通常在其3’端包含聚(A)区。在其中RNA是mRNA的一些实施方案中,RNA通常在其5’端包含本领域公认的帽结构,例如用于识别mRNA并将其连接至核糖体以启动翻译。在一些实施方案中,RNA是合成RNA。合成RNA包括体外合成的RNA(例如,通过酶促合成方法和/或通过化学合成方法)。在一些实施方案中,多核糖核苷酸编码多肽,其优选为疟原虫

T细胞串多肽构建体。

[0246] 核糖核苷酸:如本文所用,术语“核糖核苷酸”涵盖未修饰的核糖核苷酸和修饰的核糖核苷酸。如本文所用,未修饰的核糖核苷酸包括嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)以及嘧啶碱基胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。修饰的核糖核苷酸可包括一种或多种修饰,包括但不限于例如(a)端部修饰,例如5’端修饰(例如,磷酸化、去磷酸化、缀合、反向键联等)、3’端修饰(例如,缀合、反向键联等),(b)碱基修饰,例如用修饰的碱基、稳定化碱基、去稳定化碱基或与扩展的配偶体库碱基配对的碱基或缀合的碱基置换,(c)糖修饰(例如,在2’位置或4’位置)或糖的置换,以及(d)核苷间键联修饰,包括磷酸二酯键联的修饰或置换。术语“核糖核苷酸”还涵盖核糖核苷酸三磷酸,包括修饰的和未修饰的核糖核苷酸三磷酸。

[0247] 分泌信号:如本文所用,术语“分泌信号”是指靶向相关多肽以易位至分泌途径的氨基酸序列基序。

[0248] 受试者:如本文所用,术语“受试者”是指例如出于实验、诊断、预防和/或治疗目的要施用本文所述的组合物的生物体。典型的受试者包括动物(例如哺乳动物,如小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物、家养宠物等)和人。在优选的实施方案中,受试者是人受试者。在一些实施方案中,受试者患有疾病、病症或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)。在一些实施方案中,受试者易患疾病、病症或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)。在一些实施方案中,受试者表现出疾病、病症或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的一种或多种症状或特征。在一些实施方案中,受试者表现出疾病、病症或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的一种或多种非特异性症状。在一些实施方案中,受试者没有表现出疾病、病症或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的任何症状或特征。在一些实施方案中,受试者是易患疾病、病症或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)或有疾病、病症或病状风险的一种或多种特征的人。在一些实施方案中,受试者是患者。在一些实施方案中,受试者是接受和/或已经接受诊断和/或治疗的个体。

[0249] 患有:“患有”疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的个体已经被诊断出患有和/或表现出疾病、病症和/或病状的一种或多种症状。

[0250] 易患:“易患”疾病、病症和/或病状(例如,疟疾、疟疾相关病状)的个体是比普通公众成员患上所述疾病、病症和/或病状(例如,疟疾、疟疾相关病状)的风险更高的个体。在一些实施方案中,易患疾病、病症和/或病状(例如,疟疾、疟疾相关病状)的个体可能尚未诊断出患有所述疾病、病症和/或病状(例如,疟疾、疟疾相关病状)。在一些实施方案中,易患疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的个体可能表现出了所述疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的症状。在一些实施方案中,易患疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的个体可能未表现出所述疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的症状。在一些实施方案中,易患疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的个体将患上所述疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)。在一些实施方案中,易患疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的个体将不会患上所述疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)。

[0251] 疗法:术语“疗法”是指施用或递送具有治疗效果和/或引发所需生物学和/或药理学效果(例如,已被证明当对相关群体施用时在统计学上有可能具有这种效果)的剂或干预。在一些实施方案中,治疗剂或疗法是可用于减轻、改善、缓解、抑制、预防疾病、病症和/

或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的一种或多种症状或特征、延迟其发作、降低其严重程度和/或降低其发病率的任何物质。在一些实施方案中,治疗剂或疗法是可为了减轻、缓解、抑制、预防疾病、病症和/或病状的一种或多种症状或特征、延迟其发作、降低其严重程度和/或降低其发病率而进行的医疗干预。

[0252] 跨膜区:如本文所用,术语"跨膜区"是指多肽的跨越生物膜(如细胞的质膜)的区域。

[0253] 治疗:如本文所用,术语"治疗(treat/treatment/treating)"是指用于部分或完全减轻、改善、缓解、抑制、预防疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的一种或多种症状或特征、延迟其发作、降低其严重程度和/或降低其发病率的任何方法。可以对未表现出疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的体征的受试者施用治疗。在一些实施方案中,可以对仅表现出疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的早期体征的受试者施用治疗,例如为了降低发生与所述疾病、病症和/或病状相关的病理的风险的目的。在一些实施方案中,可以对处于疾病、病症和/或病状(例如,疟疾和/或疟疾相关病状)的晚期阶段的受试者施用治疗。

[0254] 变体:如本文所用,术语"变体"是指显示出与参考分子显著的结构(例如,一级或二级)同一性但在结构上不同于参考分子的分子。例如,由于氨基酸或核苷酸序列的一种或多种差异和/或作为多肽或核酸的共价组分(例如,连接于多肽或核酸主链)的化学部分(例如,碳水化合物、脂质、磷酸基团)的一种或多种差异,变体多肽或核酸可不同于参考多肽或核酸。

具体实施方式

[0255] I.疟疾

[0256] 疟疾是由单细胞真核疟原虫寄生虫引起的蚊媒传染病,其通过按蚊属蚊子的叮咬传播(Phillips,M.等人,Malaria.Nat Rev Dis Primers 3,17050(2017),该文献以全文引用的方式并入本文)。传播疟疾的蚊子一定是通过吸食被感染的受试者(例如,人)的先前血餐而被感染的。当蚊子叮咬被感染的受试者时,少量含有疟疾寄生虫的血液被吸入。然后被感染的蚊子可随后叮咬未被感染的受试者,从而导致该受试者被感染。

[0257] 疟疾仍然是最严重的传染病之一,每年导致大约2亿例临床病例和500,000-600,000例死亡。虽然已经投入了大量的努力来开发疟疾的治疗方法,但许多疟疾寄生虫已经对可用的治疗方法产生了抗药性。根据根除疟疾研究议程倡议,只有通过有效的疫苗接种才能根除疟疾。

[0258] 在2015年,欧洲药品管理局对一种被称为"RTS,S"的候选疟疾疫苗给予了积极的评价,这是疟疾疫苗开发的一个里程碑。在2019年,世界卫生组织启动了试点项目,在三个撒哈拉以南的非洲国家的部分地区为至少5个月大的儿童提供RTS,S。RTS,S/AS01是一种含佐剂的蛋白质亚单位疫苗,其由来自与乙型肝炎表面抗原(HBsAg)融合的恶性疟原虫的主要重复序列区的一部分和CSP的C末端组成。该疫苗是这种PfCSP-HBsAg化合物与HBsAg的混合物,其形成病毒样颗粒(RTS,S/AS01;Mosquirix™)。根据需要四个剂量的方案施用RTS,S:初始3个剂量的安排是间隔至少1个月给药,且第4剂量在第3剂量后15-18个月给予(参见例如Vandoolaeghe&Schuerman Expert Rev Vaccines.15:1481,2016;PATH_MVI_RTSS_Fact

Sheet_042019,上述文献中的每一者以全文引用的方式并入本文)。报告表明,RTS,S在18个月内保护了大约30%至50%的儿童免受临床疾病的侵害。据报道,RTS,S诱导保护性抗体和CD4+T细胞反应,但仅诱导可忽略不计的CD8+T细胞反应(参见例如Moris等人,Hum VaccinImmunother 14:17,2018,该文献以全文引用的方式并入本文)。在1yr(年)后作为三个剂量系列与加强剂一起递送的RTS,S的III期研究在5至17个月龄的儿童中显示出中等疫苗效力,在整个研究期可预防36%的临床疟疾病例,中位随访时间为4年,范围是高传播环境中的20%至低传播环境中的66%。此外,已发表的文献表明,保护作用随着时间的推移而减弱,包括在高疟疾暴露的儿童中5年后潜在负效力的报告(Olotu等人,2016,N.Engl.J.Med.374:2519-29,该文献以全文引用的方式并入本文)。因此,有效的疟疾疫苗仍然是对全球健康至关重要且尚未得到满足的医疗需求。

[0259] A.生命周期

[0260] 在吸血期间,被感染的蚊子将被称为肝期疟原虫属子孢子的子孢子连同它们的抗凝血唾液一起注射,其行程通过皮肤到达淋巴管,并进入肝脏的肝细胞。这一行程发生得非常快;其可以在仅几分钟内完成(Sinnis等人,Parasitol Int.2007年9月;56(3):171-8,该文献以全文引用的方式并入本文)。这是已知对治疗干预最有利的疟疾感染的瓶颈期,因为蚊子仅注射了少量的(认为最多也就几百个)子孢子,其中仅有一小部分在肝脏中建立了感染,并发育成成熟的活体阶段寄生虫(Flores-Garcia等人,mBio.2018年11月20日;9(6):e02194-18,该文献以全文引用的方式并入本文)。因此,免疫系统在子孢子进入肝细胞之前准备好清除子孢子的受试者可有效地清除感染。

[0261] 在此瓶颈期间与清除疟疾感染相关的一个特定挑战是,子孢子表面上最丰富和免疫原性的蛋白质环子孢子蛋白(CSP)仅以少量和短持续时间暴露于免疫系统,这是由于来自蚊子的接种量变化不定且较低以及接种后肝细胞感染的动力学原因。在建立肝脏感染后,寄生虫分化成不再表达CSP的阶段,而是具有不同的表面抗原的嵌合体。此外,由于寄生虫表面上相邻CSP的密度和紧密接近性再加上抗体的二价性原因,抗体与CSP的结合可产生被称为CSP沉淀反应的现象,由此抗体可以交联相邻的CSP,并使它们沉淀和从寄生虫表面脱落,留下一连串沉淀的抗体结合的CSP,寄生虫可以通过其正常的CSP易位过程来替换这些CSP(Livingstone等人,Sci Rep 11,5318(2021);Steward等人,J Protozool.1991年7月-8月;38(4):411-21,上述文献以全文引用的方式并入本文)。

[0262] 当子孢子从皮肤中的接种部位移动到肝脏时,其穿越宿主细胞(Mota等人,Science 2001年1月5日;291(5501):141-4,该文献以全文引用的方式并入本文)。子孢子穿越在真皮处的不同类型的宿主细胞,包括成纤维细胞和吞噬细胞(Amino等人,Cell Host Microbe.2008年2月14日;3(2):88-96,该文献以全文引用的方式并入本文),以及含有肝内皮细胞和库普弗细胞(Kupffer cell)的肝窦屏障(Frevert等人,PLoS Biol 3(6):e192.2005,该文献以全文引用的方式并入本文)和窦内皮细胞(Tavares等人,J Exp Med 2013年5月6日;210(5):905-15,该文献以全文引用的方式并入本文),以便获得进入肝细胞的机会。子孢子优先穿越具有低硫酸化硫酸肝素蛋白聚糖(HSPG)的细胞,但优先侵入具有高硫酸化HSPG的细胞(Coppi等人,Cell H ost&Microbe 2,316-327,2007年11月,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0263] 首先观察到的细胞穿越是伯氏疟原虫子孢子以非吞噬性方式进入巨噬细胞,接着

从这些细胞中“逃逸”(Vanderberg等人,J.Euk.Microbiol.37:528-536,1990,该文献以全文引用的方式并入本文)。穿越的生物化学、生物物理和逐步的过程仍在探索中。然而,电子显微镜已经表明,宿主细胞破裂发生在进入和离开宿主细胞时(Mota等人,2001;Tavares等人,2013,上述文献以全文引用的方式并入本文)。还已经显示约氏疟原虫子孢子可经由瞬时液泡进入肝细胞,并且宿主膜破裂发生在细胞离开而不是细胞进入时(Risco-Castillo等人,Cell Host Microbe 2015年11月11日;18(5):593-603,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0264] 子孢子还会在建立起有效的肝细胞感染之前穿越肝细胞(Mota等人,2001,该文献以全文引用的方式并入本文)。关于为什么会出现这种情况,有几种可能性。第一种假设提出,穿过肝细胞的迁移通过激活顶端胞吐作用为寄生虫入侵做好了准备(Mota等人,Nat Med 2002年11月;8(11):1318-22,该文献以全文引用的方式并入本文)。第二种理论提出,穿越释放了肝细胞生长因子(HGF),使邻近的肝细胞更容易受到感染(Carrolo等人,Nat Med.2003年11月;9(11):1363-9,该文献以全文引用的方式并入本文)。最后,其它研究表明,子孢子需要一些时间来关闭穿越机制并激活入侵机制(Amino等人,2008;Coppi等人,2007,上述文献以全文引用的方式并入本文),并且穿越的主要功能是穿透细胞屏障并避免在到达肝脏的途中被吞噬(Amino等人,2008;Coppi等人,2007;Tavares等人,2013,上述文献以全文引用的方式并入本文)。

[0265] 虽然已经显示子孢子穿越人类细胞(Behet等人,Malar J 2014年4月5日;13:136;Cha等人,J Exp Med 2015年8月24日;212(9):1391-403;Dumoulin等人,PLoS One 2015年6月12日;10(6):e0129623;van Schaijk等人,PLoS ONE,3(10).e3549 2008,上述文献以全文引用的方式并入本文),但穿越过程的分子基础在很大程度上未得到研究。针对环子孢子蛋白(CSP)的抗体削弱了穿越(Dumoulin等人,2015,该文献以全文引用的方式并入本文),但这有可能是由于运动性的抑制而不是直接影响(Cha等人,J Exp Med 2016年9月19日;213(10):2099-112,该文献以全文引用的方式并入本文)。此外,用子孢子进行氯喹预防诱导的抗体会干扰细胞穿越,并且这些抗体也可以靶向CSP(Behet等人,2014)。最近有研究显示,在穿越期间,寄生虫表面上的甘油醛3-磷酸脱氢酶(GAPDH)与库普弗细胞上的CD 68相互作用(Cha等人,2015;Cha等人,2016,上述文献以全文引用的方式并入本文)。

[0266] 在啮齿动物疟疾寄生虫如伯氏疟原虫中,已经确认出两种微线体蛋白似乎对于细胞穿越至关重要(对于细胞穿越至关重要的子孢子微线体蛋白[SPECT1;Ishino等人,PLoS Biol.,2(2004),第77-84页]和SPECT2[Ishino等人,Cell.Microbiol.,7(2005),第199-208页],也称为穿孔素样蛋白1[PLP1][Kaiser等人,Mol.Biochem.Parasitol.,133(2004),第15-26页],该文献以全文引用的方式并入本文)。即使SPECT1或SPECT2的遗传破坏使子孢子不能穿越鼠细胞,它们仍然在体外侵入肝细胞(Ishino等人,2004;Ishino等人,2005,上述文献以全文引用的方式并入本文)。当缺少SPECT1或SPECT2的子孢子被注射到啮齿动物体内时,它们的肝脏感染性受损,但少量子孢子仍然可以建立起肝脏感染,导致随后出现虫血症(patency)。然而,库普弗细胞的消耗允许突变体建立起与野生型寄生虫可比较的水平的肝脏感染(Ishino等人,2004;Ishino等人,2005,上述文献以全文引用的方式并入本文)。此数据表明,啮齿动物感染的子孢子的穿越对于穿过窦层很重要,但对于肝细胞入侵、疟疾红细胞外形式的发育或红细胞内的生长并不重要(Ishino等人,2004;Ishino等人,2005,上述

文献以全文引用的方式并入本文)。

[0267] 已显示约氏疟原虫PLP1中的SPECT2的直向同源物在细胞穿越中发挥一定作用。虽然这种蛋白质不是进入肝细胞所必需的,但其在穿越期间从瞬时空泡中排出的过程中发挥一定作用(Risco-Castillo等人,2015,上述文献以全文引用的方式并入本文)。因此,感染啮齿动物的子孢子可以通过在进入步骤产生液泡来穿越宿主细胞,并在细胞离开期间利用穿孔素样蛋白(例如,SPECT2/PLP1)从此隔室和/或宿主细胞中逃逸。

[0268] 一旦子孢子侵入肝细胞,它们就分化成裂殖子,裂殖子是能够在经多轮复制后裂解肝细胞的寄生虫的复制形式。几天之内,几百个子孢子可以变成几十万个裂殖子。当被感染的肝细胞破裂时,它们将裂殖子释放到血流中,它们在那里侵入红细胞,并开始无性繁殖阶段,这是疾病的有症状阶段。在短短几天内,血液中会出现几百万个裂殖子。

[0269] 疟疾症状通常在最初的红细胞入侵后4-8天出现。裂殖子在红细胞内的复制周期持续36-72小时,直到发生溶血,释放出裂殖子进行另一轮红细胞感染。因此,在同步感染(源自单次传染性叮咬的感染)中,每36-72小时就会出现发烧,这时被感染的红细胞裂解,并大量释放内毒素。

[0270] 疟原虫属寄生虫通过特定的配体-受体相互作用获得进入红细胞的机会,这种相互作用由与宿主红细胞(成熟红细胞)或网织红细胞(未成熟的红细胞)上的受体相互作用的寄生虫的表面上的蛋白质介导,而恶性疟原虫可侵入红细胞和网织红细胞并在其中复制,间日疟原虫(P.vivax)及其它物种主要入侵不如红细胞丰富的网织红细胞。大多数与入侵相关的红细胞结合蛋白或网织红细胞结合蛋白是冗余的,或表达为变体形式家族;然而,对于恶性疟原虫,已经确认出两种必需的红细胞受体(基底膜聚糖(basigin)和补体衰变加速因子(也称为CD55))。

[0271] 间日疟原虫和卵形疟原虫也可以在肝脏中进入休眠状态,即休眠子。

[0272] 从红细胞中释放出的裂殖子可侵入其它红细胞并继续复制,或者在一些情况下分化成雄性或雌性配子体。配子体集中在皮肤毛细血管中,然后在另一次吸血中被蚊子媒介吸收。在蚊子的肠道中,每个雄性配子体在经过三轮有丝分裂后产生八个小配子;雌性配子体成熟为大配子。雄性小配子是有鞭毛的能动形式的,并且寻找雌性大配子。雄性和雌性配子体融合,形成二倍体合子,其伸长成动合子;这种能动形式分泌几丁质酶,以便进入围食膜,并穿越中肠上皮到达中肠的基底外侧,在基底层中将自己建立为卵囊。卵囊经14-15天成熟,经历复制周期以形成子孢子,子孢子最终释放到血腔中,血腔是富含糖和有利于寄生虫存活的底物的环境。数千个子孢子可由单个卵囊形成,并在整个血腔中随机分布。这些子孢子是能动的,并且迅速破坏血淋巴,仅有大约20%成功侵入唾液腺。在侵入唾液腺之后,子孢子经由未知的机制重新编程,为入侵肝脏做准备。这种重新编程的证据已由中肠子孢子(直接来自卵囊)无法侵入肝细胞得到证实,并且也由已成功侵入唾液腺的子孢子无法再侵入另一个唾液腺(如果有的话)的事实得到证实。唾液腺子孢子改变了蚊子行为和唾液腺功能,因为产生的唾液较少,导致蚊子刺叮行为增加,增加了经由蚊子叮咬传播给人类宿主的机会。

[0273] 一些防止疟原虫属入侵肝脏或在肝脏中繁殖的药物具有预防活性,阻断红细胞阶段的药物是治疗疾病的有症状阶段所必需的,并且抑制配子体的形成或其在蚊子中发育的化合物(包括杀灭以血液为食的蚊子的药物)是传播阻断剂(Phillips等人,Malaria.Nat

Rev Dis Pr imers 3,17050(2017),该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0274] B.基因组

[0275] 自从2002年完成恶性疟原虫3D7基因组的第一个序列以来,对疟疾寄生虫的基因组研究迅速推进。除了在蚊子中肠中受精后的短二倍体期之外,疟原虫寄生虫在它们的整个生命周期中都是单倍体。不同物种的基因组范围从20到35兆碱基不等,含有14条染色体、大约35千碱基的环状质体基因组和6千碱基线粒体DNA的多个拷贝。不同物种的基因组比较显示,同源基因通常存在于合成块中,这些合成块在不同染色体当中以不同的顺序排列。

[0276] 疟原虫属的腺嘌呤-胸腺嘧啶(AT)含量也可以有很大的不同,例如在恶性疟原虫、雷氏疟原虫(P.reichenowi)和鸡型疟原虫(P.gallina ceum)中为~80% AT;在啮齿动物疟疾寄生虫中为~75% AT;且在间日疟原虫(P.vivax)、诺氏疟原虫(P.knowlesi)和食蟹猴疟原虫(P.cyno molgi)中为~60% AT。内含子和基因间非编码区中的AT含量通常高于蛋白质编码外显子中的AT含量,整个恶性疟原虫基因组的AT平均为80.6%,而非编码序列为86.5%。恶性疟原虫的高AT含量反映了大量的低复杂性区域、简单的序列重复和微卫星以及高度偏斜的密码子使用偏倚。富AT重复序列的多态性为抗药性基因的连锁作图以及追踪寄生虫群体的进化和结构提供了丰富的标记。

[0277] 疟疾寄生虫基因组携带在寄生虫与它们的宿主的相互作用中起重要作用的多基因家族,包括例如抗原变异、信号传导、蛋白质运输和粘附。在所述基因家族当中,研究得最为广泛的是编码恶性疟原虫红细胞膜蛋白1(PfEMP1)的基因。每个个体恶性疟原虫寄生虫携带一组独特的50至150个拷贝的var基因,其中基因表达的转换可产生抗原变异。PfEMP1在诸如脑型疟疾和胎盘型疟疾的临床进展的发病机制中起重要作用,其中其介导深层组织中被感染的红细胞(iRBC;被感染的红细胞)的细胞粘附。不同的PfEMP1分子与各种宿主分子结合,包括α2-巨球蛋白、CD36、硫酸软骨素A(CSA)、补体1q、CR1、E-选择素和P-选择素、内皮蛋白C受体(EPCR)、硫酸乙酰肝素、ICAM1、IgM、IgG、PECAM1、血小板反应蛋白(TSP)和VCAM1。这种结合导致各种宿主炎症反应的激活。血红蛋白病变(包括血红蛋白C和血红蛋白S特征病状)干扰iRBC的旋钮结构中的PfEMP1展示。PfEMP1在宿主细胞表面上的这种不良展示通过减少细胞粘附和激活促进重度疾病发展的炎症过程来提供抗疟疾保护。

[0278] 大疟原虫散布重复序列(pir)多基因家族的成员根据寄生虫种类而不同地命名,例如约氏疟原虫中的yir、伯氏疟原虫中的bir、间日疟原虫中的vir。若干恶性疟原虫基因家族(stevor、rif和PfMC-2TM)根据它们相似的基因结构而与pir归为一类,这些相似的基因结构特征性地包括短第一外显子、长第二外显子和编码跨膜结构域的第三外显子。在最近的研究中,来自夏氏疟原虫(P.chabaudi,cir)的pir基因显示在不同的细胞位置、iRBC的内部和表面上以及裂殖子中表达。疟疾寄生虫将其基因组的大部分用于确保逃避宿主免疫防御并保护对感染至关重要的分子过程的基因家族。这些家族凸显了研究它们在寄生虫-宿主相互作用和毒力方面的重要性,尽管对它们的研究存在固有的困难。

[0279] 另一个示例性多态基因家族包含一组14个基因,这些基因编码具有六个半胱氨酸(6-Cys)的蛋白质。这些蛋白质通常位于与宿主蛋白质相互作用的寄生虫表面,并且在不同的寄生虫发育阶段表达。6-Cys蛋白也表现出不同的功能,并且已经显示在例如寄生虫受精、交配相互作用、逃避免疫反应和入侵肝细胞中发挥作用。在无性阶段表达的蛋白质通常是多态性的和/或处于选择压力下,表明它们可能是宿主免疫反应的靶标;然而,它们在寄

生虫发育中的功能在很大程度上仍然是未知的。

[0280] 疟原虫基因组可以是高度多态性的。早期的研究表明多态性涉及数十至数百千碱基,并且恶性疟原虫中的染色体结构在很大程度上在中心区是保守的,但在端粒附近的长度和序列都具有广泛的多态性。大部分亚端粒变异可通过重复序列块和基因家族内的重组来解释。

[0281] 恶性疟原虫中简单序列重复(微卫星)的频率估计为每kb DNA大约一个多态性微卫星。不希望受任一种理论的束缚,这种高比率可反映出基因组的富AT性质。在基因组AT含量较低的其它疟原虫物种中,微卫星的频率似乎较低。除了疟原虫基因组的高度多态性和重复结构之外,还存在大量的单核苷酸多态性(SNP)和拷贝数变异(CNV)(Su等人,Plasmodium Genomics and Genetics:NewInsights into Malaria Pathogenesis,Drug Resistance,Epidemiology,and Evolution.Clin Microbiol Rev.2019年7月31日;32(4),该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0282] C.疟原虫蛋白

[0283] 已知疟原虫寄生虫在其生命周期的不同阶段表达各种蛋白质。下文描述示例性疟原虫蛋白,并且示例性氨基酸序列提供于表2中。

[0284] 环子孢子蛋白(CSP)是参与疟原虫生命周期的多功能蛋白,因为其是在蚊子中肠中形成子孢子、从卵囊中释放子孢子、入侵唾液腺、使子孢子附着于肝脏中的肝细胞以及子孢子入侵肝细胞所必需的(参见例如Zhao等人,(2016)PLoS ONE 11(8):e0161607)。CSP存在于所有疟原虫物种中,并且虽然在物种间存在氨基酸序列差异,但中心重复序列区和非重复序列侧翼区的整体结构域结构是非常保守的(参见例如Zhao等人,(2016)PLoS ONE 11(8):e0161607;Wahl等人,(2022)J.Exp.Med.219:e20201313,上述文献以全文引用的方式并入本文)。CSP序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A2L1C F52、A0A2L、1CF88、C6FGZ3、C6FH2,7C6FHG7、M1V060、M1V0A3、M1V0B0、M1V0C4、M1V0E0、M1V9I4、M1VFN9、M1VKZ2、P02893、Q5EIJ9、Q5EIK2、Q5EIK8、Q5EIL3、Q5EIL5、Q5EI L8、Q5R2L2、Q7K740、Q8I9G5、Q8I9J3、Q8I9J4),并且表1包括来自亚洲、南美洲和非洲的CSP恶性疟原虫分离株的示例性序列。

[0285] 表1:来自亚洲、南美洲和非洲的CSP恶性疟原虫分离株的示例性序列

[0286]

登录号	国家	参考文献
AB121015.1	7G8 (巴西)	Tanabe, K.等人，Genetic distance in housekeeping genes between *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium* reichenowi and within *P. falciparum*. J. Mol. Evol. 59 (5), 687-694 (2004)，该文献以引用的方式并入本文。
AB121017.1	Dd2 (印度支那)	Tanabe (2004)
AB121018.1	HB3 (洪都拉斯)	Tanabe (2004)
AB121020.1	MAD20 (PNG)	Tanabe (2004)
AB121021.1	RO-33 (加纳)	Tanabe (2004)
AJ269946.1	K1 (泰国)	de Stricker, K.等人，Sequence variation in the non-repeat region of the *Plasmodium falciparum* glutamate rich protein (GLURP) from Brazil, Senegalese and Burmese field isolates and from laboratory strains. (未发表)，该文献以引用的方式并入本文。
M15505.1	Wellcome (西非)	Lockyer MJ, Schwarz RT. Strain variation in the circumsporozoite protein gene of *Plasmodium falciparum*. Mol Biochem Parasitol. 2;22(1):101-8 (1987)，该文献以引用的方式并入本文。
M22982.1	NF54 (荷兰)	Caspers P, Gentz R, Matile H, Pink JR, Sinigaglia F The circumsporozoite protein gene from NF54, a *Plasmodium falciparum* isolate used in malaria vaccine trials. Mol Biochem Parasitol. 35(2):185-9. (1989)，该文献以引用的方式并入本文。
AF540441.1、AF540442.1、AF540472.1、AF540481.1 至 AF540488.1	印度	Escalante AA, Grebert HM, Isea R, Goldman IF, Basco L, Magris M, Biswas S, Kariuki S and Lal AA. A study of genetic diversity in the gene encoding the circumsporozoite protein (CSP) of *Plasmodium falciparum* from different transmission areas--XVI. Asembo Bay Cohort Project. Mol Biochem Parasitol125(1-2):83-90 (2002)，该文献以引用的方式并入本文。
AJ269943.1	印度	de Stricker, K. (未发表)
DQ521663.1 至 DQ521752.1	伊朗	Zakeri S 等人，Restricted T-cell epitope diversity in the circumsporozoite protein from *Plasmodium falciparum* populations prevalent in Iran. Am J Trop Med Hyg.;76(6):1046-51 (2007)，该文献以引用的方式并入本文。
AJ269945.1、AJ269955.1-AJ269960.1	缅甸	de Stricker, K (未发表)
DQ193595.1	缅甸	Jalloh A, van Thien H, Ferreira MU, Ohashi J, Matsuoka H, Kanbe T, Kikuchi A, Kawamoto F. Sequence variation in the T-cell epitopes of the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein among field isolates is temporally stable: a 5-year longitudinal study in southern Vietnam. J Clin Microbiol 44(4):1229-35 (2006)，该文献以全文引用的方式并入本文。
FJ232142.1-	泰国	Putaporntip C, Jongwutiwes S, Hughes AL. Natural

[0287]

FJ232166.1、FJ232168.1-FJ232364.1		selection maintains a stable polymorphism at the circumsporozoite protein locus of *Plasmodium falciparum* in a low endemic area. Infect Genet Evol. 9(4):567-73 (2009)，该文献以全文引用的方式并入本文。
GQ890702.1-GQ890789.1	泰国	Jongwutiwes S, Putaporntip C, Hughes AL. Bottleneck effects on vaccine-candidate antigen diversity of malaria parasites in Thailand. Vaccine. 19;28(18):3112-7. (2010)，该文献以全文引用的方式并入本文。
M19752.1	泰国	del Portillo HA, Nussenzweig RS, Enea V. Circumsporozoite gene of a *Plasmodium falciparum* strain from Thailand. Mol Biochem Parasitol. 24(3):289-94. (1987)，该文献以全文引用的方式并入本文。
M83149.1、M83150.1-M83174.1	泰国	Jongwutiwes S, Tanabe K, Hughes MK, Kanbara H, Hughes AL. Allelic variation in the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum* from Thai field isolates. Am J Trop Med Hyg ;51(5):659-68 (1994)，该文献以全文引用的方式并入本文。
DQ193573.1-DQ193594.1	越南	Jalloh (2006)
DQ193593.1-DQ193594.1	印度尼西亚	Jalloh (2006)
AB116602.1-AB116607.1	瓦努阿图	Tanabe (2004)
AF540458.1-AF540460.1、AF540464.1、AF540466.1、AF540469.1-AF540471.1、AF540478.1-AF540479.1	委内瑞拉	Escalante (2002).
AJ269941.1、AJ269971.1-AJ269978.1	巴西	de Stricker (未发表)
K02194.1	巴西	Dame JB, Williams JL 等人，Structure of the gene encoding the immunodominant surface antigen on the sporozoite of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Science.10;225(4662):593-1984)，该文献以全文引用的方式并入本文。
AF540443.1、AF540447.1-AF540448.1、AF540450.1-AF540451.1、AF540455.1-AF540457.1、AF540461.1-AF540463.1、AF540465.1、	阿森博湾	Escalante (2002).

	AF540467.1、AF540473.1=AF540477.1		
	AF181833.1-AF181835.1、AY878598.1-AY878641.1	冈比亚	Alloueche A, Silveira H, Conway DJ, Bojang K, Doherty T, Cohen J, Pinder M, Greenwood BM. High-throughput sequence typing of T-cell epitope polymorphisms in *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein. Mol Biochem Parasitol. 5;106(2):273-82 (2000)，该文献以全文引用的方式并入本文。
	AY878598.1	冈比亚	Weedall GD, Preston BM, Thomas AW, Sutherland CJ, Conway DJ. Differential evidence of natural selection on two leading sporozoite stage malaria vaccine candidate antigens. Int J Parasitol. 37(1):77-85 (2007)，该文献以全文引用的方式并入本文。
[0288]	AJ269948.1、AJ269961.1-AJ269970.1	塞内加尔	de Stricker (未发表)
	GQ119637.1-GQ119678.1	塞拉利昂	Jalloh A, Jalloh M, Matsuoka H. T-cell epitope polymorphisms of the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein among field isolates from Sierra Leone: age-dependent haplotype distribution. Malar J. 5;8:120. (2009)，该文献以全文引用的方式并入本文。
	AF540444.1-AF540446.1、AF540449.1、AF540452.1-AF540454.1、AF540468.1、AF540480.1	喀麦隆	Escalante (2002).

[0289] 示例性CSP氨基酸序列提供于SEQ ID NO:1中。

[0290] RH5见于恶性疟原虫(P.falciparum)中,而不见于感染人类的其它疟原虫物种中。RH5直向同源物也见于属于Lavarenia亚属的其它物种中,该亚属包括感染黑猩猩和大猩猩的寄生虫,这表明其在恶性疟原虫入侵人类红细胞中发挥着独特的作用。参见例如Ragotte等人,Trends Parasitol.36(6)2020,该文献以全文引用的方式并入本文。RH5在成熟裂殖体阶段期间表达,并且可以与富半胱氨酸保护性抗原(CyRPA)和RH5相互作用蛋白(Ripr)复合,以在裂殖子表面上形成与红细胞表面蛋白基底膜聚糖结合的细长蛋白质三聚体。参见例如Ragotte Trends Parasitol 2020年6月;36(6):545-559,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0291] 在人类中,与基底膜聚糖结合的RH5在入侵中起着至关重要的作用,其作用于膜变形的下游。RH5与基底膜聚糖的结合是诱导红细胞内的钙峰值所必需的,当裂殖子试图在抗RH5、抗Ripr或抗基底膜聚糖抗体或可溶性基底膜聚糖的存在下入侵时,钙峰值的诱导会被阻断。参见例如Ragotte(2020)。

[0292] RH5是在成熟裂殖体阶段期间表达的63kDa蛋白质。其被加工并切割为45kDa形式,由寄生虫脱落。PfRH5的结构呈现由两个三螺旋束联合在一起形成的风筝样架构。参见例如

Ragotte(2020)。

[0293] RH5序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A159SK44、A0A159SK99、A0A159SKS8、A0A159SKW8、A0A159SL23、A0A159S L78、A0A159SL96、A0A159SLM7、A0A159SMC8、A0A159SMR9、A0A161FQT0、A0A1B1UZE2、A0A1B1UZE4、A0A1B1UZE5、A0A346RCI1、A0A346RCJ0、A0A346RCJ2、A0A346RCJ3、A0A346RCJ 4、A0A346RCK4、A0A346RCK5、A0A346RCK6、A0A346RCK9、B2L3N7、Q8IFM5),并且示例性RH5氨基酸序列提供于SEQ ID NO:365中。

[0294] P113是糖基磷脂酰肌醇(GPI)连接蛋白,其直接与未加工的RH5的N末端相互作用,从而提供将RH5入侵复合物束缚于裂殖子表面的机制。参见例如Ragotte(2020)。在迄今为止测序的所有疟原虫物种中都发现了P113直向同源物,表明具有共同且保守的功能(Bullen等人,(2022)Molecular Microbiology 117:1245-1262,该文献以全文引用的方式并入本文)。尽管如此,在疟疾的啮齿动物模型(伯氏疟原虫)中,p113敲除的寄生虫仍能存活,表明该蛋白质对于无性血液阶段生长和入侵不是必需的。然而敲除的寄生虫在天然子孢子传播中确实表现出缺陷,导致被感染的小鼠潜伏期延长(Offeddu等人,(2014)Mol.Biochem.Parasitology 193:101-109,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0295] 疟原虫P113序列是已知的(参见例如Uniprot登录号Q8ILP3)。示例性P113氨基酸序列提供于SEQ ID NO:326中。

[0296] 富半胱氨酸保护性抗原(CyRPA)是具有预测的N末端分泌信号的43kDa蛋白质。CyRPA是多蛋白复合物的一部分,包括对于触发Ca^{2+}释放和建立紧密接合重要的RH5和Ripr。PfCyRPA是高度保守的,仅有高于5%发生率的单一SNP,是入侵所必需的(因为条件性敲低导致入侵活性的丧失),并且对自然暴露具有较差的血清反应性(参见例如Ragotte(2020))。

[0297] 疟原虫CyRPA序列是已知的(参见例如Uniprot登录号A0A2S1Q7P0、A0A2S1Q7P5、A0A2S1Q7Q4、Q8IFM8)。示例性CyRPA氨基酸序列提供于SEQ ID NO:329中。

[0298] RH5相互作用蛋白(Ripr)是大约120kDa的蛋白质,并且在恶性疟原虫生命周期的裂殖体阶段期间定位于微线体。全长120kDa蛋白质被加工成两个大小相似的片段,即N末端片段(包括EGF结构域1和2)和C末端片段(包括EGF结构域3-10)。在寄生虫入侵期间,R ipr与RH5和CyRPA共定位在裂殖子与红细胞之间的接合处。条件性敲除PfRipr的寄生虫诱导膜变形,但不能完成入侵(参见例如Rago tte(2020))。

[0299] 疟原虫Ripr序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A193PDI 9、A0A193PDK3、A0A193PDK8、A0A193PDL3、A0A193PDL9、A0A193PDP4、A0A193PDQ8、A0A193PE01、A0A193PE05、A0A193PE07、O97302、A0A193PE17)。示例性Ripr氨基酸序列提供于SEQ ID NO:332中。

[0300] E140见于可获得基因组序列的每一种疟原虫物种中,并且非常保守,物种间氨基酸同一性范围是34-92%。参见例如Smith等人,PLoS one 15.5(2020):e0232234;http://doi:10.1371/journal.pone.023223;和美国专利公布第US2019/0117752号;上述文献以全文引用的方式并入本文。E140在世界各地的恶性疟原虫分离株中也是高度保守的(95-99%),并且表现出低突变频率。E140在疟疾寄生虫的不同生命阶段表达(具体地,在子孢子、肝脏和血液阶段寄生虫中已经检测到E140)。

[0301] 蛋白质结构算法预测E140蛋白具有五个跨膜结构域,可能跨越寄生虫或宿主来源

的膜。E140在成熟子孢子、晚期肝脏和晚期裂殖体阶段展示出不同的蛋白质表达模式。其通行至子孢子的前端和后端、肝脏晚期的寄生液泡空间以及晚期裂殖体阶段中发育的裂殖子周围。还已知其在成熟唾液腺子孢子以及卵囊来源的子孢子和卵囊中表达。

[0302] E140序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A650D649、A0A650D653、A0A650D672、A0A650D687、A0A650D690、A0A650D694、A0A650D6A3、A0A650D6B8、A0A650D6L3、A0A650D6L7、Q8I299),并且示例性E140氨基酸序列提供于SEQ ID NO:335中。

[0303] CelTOS是在肝脏入侵过程期间子孢子穿过库普弗细胞所必需的。CelTOS在细胞内形成孔,从而允许子孢子排出到肝脏中。抗体表位已经由免疫小鼠和感染的人群得到表征(Pf和Pv)。在小鼠研究中,已经显示用CelTOS免疫可提供保护并抵抗攻击。用CelTOS进行疫苗接种可产生抗体,所述抗体可结合形成孔的复合物的胞外结构域,从而阻止孔的完全形成,并防止子孢子穿越到肝脏中。参见例如Jimah等人,Elife 2016年12月1日;5:e20621.doi:10.7554/eLife.20621,该文献以全文引用的方式并入本文。

[0304] 疟原虫CelTOS序列是已知的(参见例如Uniprot登录号M1ETJ8、Q53UB7、A0A2R4QLA5、A0A2R4QLI0、A0A2R4QLI5、A0A2R4QLJ1、A0A2R4QLJ4、M1ETJ8、Q53UB8、Q8I5P1)。示例性CelTOS氨基酸序列提供于SEQ ID NO:350中。

[0305] SPECT1和SPECT2(后者有时也被称为穿孔素样蛋白1(PLP1))是可能在细胞穿越中发挥作用的必需的疟原虫蛋白。参见Yang等人,Cell Rep.2017年3月28日;18(13):3105-3116.doi:10.1016/j.celre p.2017.03.017,该文献以全文引用的方式并入本文。已经显示恶性疟原虫SPECT1或SPECT2的靶向破坏降低子孢子在人源化小鼠的肝期发育中的传染性。然而,这两种蛋白质在恶性疟原虫中的细胞穿越的机制仍有待确定。参见Yang等人。

[0306] SPECT1和SPECT2被认为是有吸引力的红细胞前免疫靶标,因为它们被认为在疟疾寄生虫入侵肝细胞之前穿过真皮和肝窦壁的穿越过程中发挥关键作用。已经显示重组恶性疟原虫SPECT2以Ca^{2+}依赖性方式导致红细胞的裂解,就像PfSPECT2的MACPF/CDC结构域一样。PfSPECT2还与恶性疟原虫裂殖子从红细胞中以Ca2+依赖性方式排出有关。

[0307] 疟原虫SPECT1和SPECT2序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q8IDR4和Q9U0J9),并且示例性氨基酸序列分别提供于SEQ ID NO:353和SEQ ID NO:356中。

[0308] 输出蛋白1(EXP1)是具有在红细胞内阶段和肝期期间表达的N末端信号肽的单次跨膜蛋白(参见例如Spielmann等人,Int J Med M icrobiol.2012年10月;302(4-5):179-86,该文献以全文引用的方式并入本文)。EXP1显示最初定位于裂殖子中的致密颗粒中,然后在侵入后被转运至寄生液泡膜(PVM)(参见例如Iriko等人,Parasitol Int.2018年10月;67(5):637-639,该文献以全文引用的方式并入本文)。一旦定位于PVM,EXP1就形成同型寡聚体,其N末端暴露于寄生液泡腔,且C末端暴露于红细胞胞质溶胶(参见例如Mesén-Ramírez等人,PLoS Biol.2019年9月30日;17(9):e3000473,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0309] 已证明EXP1具有谷胱甘肽S-转移酶(GST)活性,其可保护疟原虫免受氧化损伤(参见例如Mesén-Ramírez等人,PLoS Biol 17(9)2019年9月30日;17(9):e3000473,该文献以全文引用的方式并入本文)。最近,有研究证明,EXP1通过维持PVM中的营养可渗透通道EXP2的正确定位而对于疟原虫存活具有重要性(参见例如Mesén-Ramírez等人,2020)。

[0310] 恶性疟原虫EXP1多肽序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q8IIF0、W7JTD3、

Q25840、Q548U2、Q5VKK2、Q5VKK5、Q5WRH8、Q6V9G4、Q6V9G6、Q6V9G9、Q6V9H1、Q6V9H2、Q9U590、P04923、P04926)。示例性EXP1氨基酸序列提供于SEQ ID NO:314中。

[0311] 感染性子孢子中上调的基因3(UIS3)是定位于被感染的肝细胞中的子孢子寄生液泡膜(PVM)的膜结合蛋白。UIS3显示与肝脂肪酸结合蛋白(L-FABP)相互作用,并且参与疟原虫生长阶段期间的脂肪酸和/或脂质输入(参见例如Sharma等人,J Biol Chem.2008年8月29日;283(35):24077-24088;Mikolajczak等人,Int J Parasitol.2007年4月;37(5):483-9,上述文献以全文引用的方式并入本文)。

[0312] 子孢子侵入宿主肝细胞后,会合成极其重要的疟原虫结构特征(例如,寄生液泡膜)。在肝细胞阶段期间,疟原虫依靠宿主脂肪酸来快速合成其膜(参见例如Sharma等人,J Biol Chem.2008年8月29日;283(35):24077-24088,该文献以全文引用的方式并入本文)。UIS3插入PVM为疟原虫提供了在快速子孢子生长阶段期间输入必需的脂肪酸和/或脂质的方法(参见例如Sharma等人,2008)。

[0313] 用UIS3缺陷型伯氏疟原虫子孢子进行免疫可以在啮齿动物疟疾模型中防御疟疾(参见例如Mueller等人,Nature.2005年1月13日;433(7022):164-7,该文献以全文引用的方式并入本文)。UIS3缺陷型伯氏疟原虫可以在肝脏中启动转化过程;然而,它们在转化成滋养体期间显示出严重的缺陷(参见例如Mueller等人,2005)。UIS3缺陷型伯氏疟原虫也无法发育成成熟的肝裂殖体,因此在肝脏本身内即中断了疟疾感染(参见例如Mueller等人,2005)。进一步地,先前已经证明来源于伯氏疟原虫的UIS3和来源于恶性疟原虫的UIS3表现出低的(即34%)氨基酸序列同一性(参见例如Mueller等人,2005)。

[0314] 疟原虫UIS3序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A509AR S3、A0A1C6YLP3、Q8IEU1、A0A384KLI1、A0A1G4H423、A0A077YB01、Q9NFU4)。示例性UIS3氨基酸序列提供于SEQ ID NO:359中。

[0315] 感染性子孢子中上调的基因4(UIS4)含有单个跨膜结构域,并且定位于子孢子的分泌细胞器和肝期的寄生液泡膜(PVM)。UIS4不在血液阶段或卵囊中产生的早期子孢子中表达(参见例如Mackellar等人,Eukaryot Cell.2010年5月;9(5):784-794,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0316] UIS4基因的缺失与早期肝脏发育的停滞相关(参见例如Vaughan和Kappe,Cold Spring Harb Perspect Med.2017年6月1日;7(6):a025486,该文献以全文引用的方式并入本文)。最近,有研究证明U IS4通过避开作为宿主细胞溶质防御的一部分部署的宿主肌动蛋白结构而参与伯氏疟原虫存活(参见例如Bana等人,iScience.2022年4月22日;25(5):104281.doi:10.1016/j.isci.2022.104281.eCollection2022年5月20日,该文献以全文引用的方式并入本文)。恶性疟原虫具有UIS4的直向同源物,命名为ETRAMP10.3,其不能作为约氏疟原虫UIS4的功能补体,表明其有可能在恶性疟原虫的生命周期中发挥不同的功能(参见Mackellar等人,Eukaryot.Cell 9:784-94(2010),该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0317] 恶性疟原虫早期转录膜蛋白10.3(ETRAMP10.3)是大约10kDa的蛋白质,并且是早期转录膜蛋白多基因家族的成员,该家族在疟原虫物种之中是保守的,并且包括位于寄生液泡中的蛋白质。几种ET RAMP蛋白对恶性疟原虫是特异性的,并且不见于感染其它生物体的疟原虫物种中。ETRAMP10.3是一个实例,其在肝脏和血液阶段恶性疟原虫寄生虫中均有

表达。已发现ETRAMP10.3转录在人类宿主中的恶性疟原虫血液阶段感染从环向滋养体阶段转变期间达到峰值。E TRAMP10.3定位于寄生液泡,并且在血液阶段感染期间输出到宿主红细胞。虽然有时提到ETRAMP10.3在传染性子孢子基因4(UIS4)中上调,但要理解根据同线性和结构相似性,ETRAMP10.3为UIS4的直向同源物。然而,ETRAMP10.3不是UIS4的功能直向同源物,并且可能发挥不同的生物学作用。虽然尚未完全确定ETRAMP10.3的生物学功能,但定位于宿主红细胞中的囊泡结构表明其在宿主-寄生虫相互作用或被感染的红细胞的重塑中发挥作用。ETRAMP10.3似乎在疟原虫生命周期中发挥关键作用。当ETRAMP10.3缺失时,缺失可导致小鼠肝阶段发育和无性血液阶段进展的破坏。

[0318] 虽然文献中的术语“UIS4”和“ETRAMP10.3”有时用于指不同的蛋白质,但在本公开的上下文中,术语“UIS4”和“ETRAMP10.3”可互换地指ETRAMP10.3。

[0319] 疟原虫ETRAMP10.3序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q8IJM9,其以引用的方式整体并入本文)。示例性ETRAMP10.3氨基酸序列提供于SEQ ID NO:362中。

[0320] 肝特异性蛋白1(LISP-1)在肝细胞中的疟原虫发育期间表达,并且定位于寄生液泡膜(PVM)(参见例如Ishino等人,Cell Microbiol.2009年9月;11(9):1329-1339)。LISP-1显示在晚期肝脏发育期间以高水平表达,并且参与PVM分解和随后的裂殖子释放(参见例如Ishi no等人,Cell Microbiol.2009年9月;11(9):1329-1339,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0321] LISP-1缺乏的细胞内疟原虫发育成肝裂殖子,并展示出对红细胞的正常感染性(参见例如Ishino等人,Cell Microbiol.2009年9月;11(9):1329-1339,该文献以全文引用的方式并入本文)。然而,LISP1缺乏的肝期疟原虫不破坏PVM,并且仍困于肝细胞内部(参见例如Is hino等人,2009)。

[0322] 疟原虫LISP-1序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A2I0C2X6、Q8ILR5)。示例性LISP-1氨基酸序列提供于SEQ ID NO:308中。

[0323] 肝特异性蛋白2(LISP-2)含有修饰的6-cys结构域,并且在肝细胞中的疟原虫发育期间表达(参见例如Orito等人,MolMicrobiol.2013年1月;87(1):66-79,该文献以全文引用的方式并入本文)。LISP-2显示由肝期疟原虫表达,输出至肝细胞,并且分布于整个宿主细胞中,包括细胞核(参见例如Orito等人,2013)。

[0324] 缺乏LISP2的细胞内疟原虫在裂殖子发育期间不会有效地成熟(参见例如Orito等人,2013)。

[0325] 疟原虫LISP-2序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A2I0B ZR4、Q8I1X6、Q9U0D4)。示例性LISP-2氨基酸序列提供于SEQ ID NO:311中。

[0326] 血小板反应蛋白相关粘附蛋白(TRAP)含有通常被称为血管性血友病因子A结构域的N末端结构域,尽管其最类似于整联蛋白I结构域,因为其含有结合了子孢子体外运动性和体内感染所必需的Mg^{2+}离子的金属离子依赖性粘附位点(MIDAS)(参见例如Lu等人,PLoS One.2020;15(1):e0216260,该文献以全文引用的方式并入本文)。所述I结构域被插入β-折叠带,接着是血小板反应蛋白重复序列(TSR)结构域、C末端的富脯氨酸区段、单次跨膜结构域和细胞质结构域(参见例如Lu等人,2020)。富脯氨酸区段的序列分析揭示了疟原虫TRAP中存在SH3结构域结合PxxP基序(Akhouri等人,Malar J.2008年4月22日;7:63.doi:10.1186/1475-2875-7-63,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0327] TRAP储存在微线体中,并且当寄生虫与宿主细胞发生接触时在子孢子前端暴露于表面(Akhouri等人,Malar J.2008年4月22日;7:63.doi:10.1186/1475-2875-7-63,该文献以全文引用的方式并入本文)。TRAP还通过帮助子孢子滑动运动以及识别蚊子唾液腺和肝细胞上的宿主受体而在子孢子入侵肝细胞中发挥重要作用(Akhouri等人,Malar J.2008年4月22日;7:63.doi:10.1186/1475-2875-7-63,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0328] 疟原虫TRAP序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A5Q2E XK8、A0A5Q2EZD7、A0A5Q2F1F6、A0A5Q2F2B8、A0A5Q2F2H6、A0A5Q2F4G9、O76110、P16893、Q01507、Q26020、Q76NM2、W8VNB6),并且示例性TRAP氨基酸序列提供于SEQ ID NO:287中。

[0329] 已显示肝期相关蛋白(LSAP-1)主要见于整个发育过程中的细胞内肝寄生虫的外周中,但不见于血液阶段寄生虫中,并且可能少量见于唾液腺子孢子中(参见例如Siau等人,PLoS Pathog.2008年8月8日;4(8):e1000121,该文献以全文引用的方式并入本文)。LSAP-1是唾液腺转录组中最丰富的转录本之一,但在子孢子的蛋白质组学考察中尚未被检测到。相反,仅在肝期检测到表达(参见例如Siau等人,2008)。

[0330] 疟原虫LSAP-1序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q8I632、W7JR53)。示例性LSAP-1氨基酸序列提供于SEQ ID NO:302中。

[0331] 像LSAP-1一样,LSAP-2也是唾液腺转录组中最丰富的转录本之一,但在子孢子的蛋白质组学考察中尚未被检测到。LSAP-2在与其它抗原组合时显示出作为疫苗的一些效力。参见例如Halbroth等人,Infect Immun.2020年1月22日;88(2):e00573-19.doi:10.1128/IAI.00573-19.2020年1月22日出版,该文献以全文引用的方式并入本文。

[0332] 疟原虫LSAP-2序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q8I632、W7JR53)。示例性LSAP-2氨基酸序列提供于SEQ ID NO:305中。

[0333] 肝期抗原1(LSA-1)在疟原虫已侵入肝细胞后表达,并且抗原在寄生液泡中积累(参见例如Tucker,K.等人,2016,'Pre-Erythrocytic Vaccine Candidates in Malaria',载于A.J.Rodriguez-Morales(编辑),Current Topics in Malaria,IntechOpen,London.10.5772/65592,该文献以全文引用的方式并入本文)。LSA-1的功能目前尚不清楚(参见例如Tucker,K.等人,2016)。

[0334] LSA-1是含有大中心区的230kDa前红细胞阶段蛋白,该中心区由侧接高度保守的C末端和N末端的超过八十个17个氨基酸残基重复序列单元组成(Richie,T.L.和Parekh,F.K.(2009)Malaria,载于Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases(Barrett,A.D.T.和Stanberry L.R.编辑)中,第1309-1364页,Elsevier,该文献以全文引用的方式并入本文)。LSA1仅由肝期疟原虫表达,而不由子孢子表达(Richie,T.L.和Parekh,F.K.(2009)Malaria,该文献以全文引用的方式并入本文)。载于Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases(Barrett,A.D.T.和Stanberry L.R.编辑,第1309-1364页,Elsevier,该文献以全文引用的方式并入本文)中。重复序列区导致恶性疟原虫株之间蛋白质的显著变异(参见例如Tucker,K.等人,2016)。

[0335] 疟原虫LSA-1序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q25886、Q25887、Q25893、Q26028、Q9GTX5、O96125)。示例性LSA-1氨基酸序列提供于SEQ ID NO:290中。

[0336] 肝期抗原3(LSA-3)是由侧接两个短重复序列区和一个长重复序列区的三个非重复区域(NR-A、NR-B和NR-C)组成的200-kDa蛋白质(参见例如Tucker,K.等人,2016)。非重复

序列区在地理上不同的恶性疟原虫株中是非常保守的(参见例如Tucker,K.等人,2016)。最显著的变异在重复区域中,这是由于重复亚基的组织和数目而不是重复区域的组成所致(参见例如Tucker,K.等人,2016)。

[0337] 最近,体外数据显示,针对LSA-3(特别是LSA-3的C末端部分)的抗体可提供一些保护(参见例如Morita等人,Sci Rep.2017年4月5日;7:46086.doi:10.1038/srep46086,该文献以全文引用的方式并入本文)。

[0338] 疟原虫LSA-3序列是已知的(参见例如UniProt登录号C7DU21、C7DU22、C7DU23、C7DU24、C7DU25、C7DU26、C7DU27、C7D U28、C7DU29、C7DU32、C7DU33、C7DU34、C7DU36、C7DU37、C7DU38、C7DU39、C7DU40、Q8I042、Q8I0A5、Q8I0D0、Q8IFR1、Q8IFR2、Q8IFR3、Q8IFR4、Q8IFR5、Q8IFR6、Q8IFR7、Q8IFR8、Q8IFR9、Q8IFS0、Q8IFS1、Q8IFS2、Q8IFS3、Q8IFS4、Q8IFS5、Q8IFS6、Q8IFS7、Q8IFS8、Q8IFS9、Q8IFT0、Q8IFT1、Q8IFT2、Q8IFT3、Q8IFT4、Q9U0N9、Q9U0P0、A0A2I0BVD6、A0PFM9、O96275)。示例性LSA-3氨基酸序列提供于SEQ ID NO:299中。

[0339] 富谷氨酸蛋白(GARP)是80kDA蛋白,其名称来源于其富谷氨酸氨基酸序列,该序列占所有其残基的24%。GARP主要在环阶段和滋养体中表达,并且显示在细胞培养中为非必需的基因,但在动物模型中具有高度免疫原性(Hon等人,Trends Parasitol.2020年8月;36(8):653-655,该文献以全文引用的方式并入本文)。虽然GARP在细胞培养中不是必需的,但其定位于被感染的红细胞的外周可表明其在被感染的红细胞的隔离中发挥作用。已经提出GARP参与隔离是经由与氯化物/碳酸氢根阴离子交换剂结合而发生的(Lau等人,PLoS Pathog.10,e1004135.2014,该文献以全文引用的方式并入本文)。已经提出针对GARP的抗体作为针对重度疟疾进行保护的标志,并且已经在猴子的实验性试验中显示出效力。参见例如Hon等人,Trends in Paras 2020年8月;36(8):653-655.doi:10.1016/j.pt.2020.05.012和Laue等人,Plos Path.2014 10,e1004135,上述文献以全文引用的方式并入本文。GARP序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q9GTW3、Q9U0N1),并且示例性GARP氨基酸序列提供于SEQ ID NO:341中。

[0340] 寄生虫感染的红细胞特异性蛋白2(PIESP2)(参见例如UniProt登记号Q8I488)是首先在滋养体阶段表达的高免疫原性蛋白,并且被认为对脑型疟疾的临床进展很重要。虽然这种蛋白质主要见于红细胞内,但已经显示其存在于红细胞的表面上,使它们能够粘附于脑血管的内皮细胞。已经显示针对PIESP2的抗体可防止疟原虫的血管粘附,并且可以证明在脑型疟疾进展期间预防脑中的炎症反应和血脑屏障损伤方面是有价值的(参见例如Liu等人,Int J BiolMacromol.2021年4月30日;177:535-547.doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.02.145,该文献以全文引用的方式并入本文)。PIESP2序列是已知的(参见例如UniProt登录号Q8I488),并且示例性PIESP2氨基酸序列提供于SEQ ID NO:344中。

[0341] 裂殖体排出抗原-1(SEA1)是缺乏跨膜结构域或已知的靶向信号的大的244kDA蛋白质。SEA1的功能是未知的;然而,已经显示其在啮齿动物疫苗研究中是有效的,并且甚至已经被提议作为见于儿童中的保护性抗体的靶标。SEA1之所以得名,是因为有报道称针对这种蛋白质的抗体抑制疟原虫裂殖子的排出。SEA1在核分裂期间紧密定位于着丝粒,这意味着其在复制的基本过程中发挥作用。迄今为止,各种研究已经提出,SEA1不仅在排出中发挥作用,而且也在复制期间细胞核的有丝分裂中发挥作用。(参见例如Perrin等人,mBio.2021年3月9日;12(2):e03377-20.doi:10.1128/mBio.03377-20,该文献以全文引用

的方式并入本文)。SEA1序列是已知的(参见例如UniProt登录号A0A143ZXM2),并且示例性SEA1氨基酸序列提供于SEQ ID NO:347中。

[0342] D.疟疾序列的实施方案

[0343] 来自恶性疟原虫分离株3D7的示例性全长CSP多肽氨基序列对应于SEQ ID NO:1,并且包括以下各项:分泌信号(氨基酸1-18);N末端结构域(氨基酸19-104);接合区(氨基酸93-104)、中心结构域(氨基酸105-272);和C末端结构域(氨基酸273-397)。在示例性的S EQ ID NO:1中,N末端结构域包括N末端区(氨基酸19-80);N末端端部区(氨基酸81-92);和接合区(氨基酸93-104)。在示例性的SE Q ID NO:1中,接合区包括R1区(氨基酸93-97)和位置98-104处的氨基酸ADGNPDP(SEQ ID NO:93)。在示例性的SEQ ID NO:1中,中心结构域包括次要重复序列区(氨基酸105-128)和主要重复序列区(氨基酸129-272)。在示例性的SEQ ID NO:1中,次要重复序列区包括氨基酸序列NANPNVDP(SEQ ID NO:477)的三个重复序列。在示例性的SEQ ID NO:1中,主要重复序列区包括氨基酸序列NANP(SEQ ID NO:108)的35个重复序列,其中氨基酸序列NANP的35个重复序列被分成两个连续段,且其中一个段包括氨基酸序列NAN P的17个重复序列,一个段包括氨基酸序列NANP的侧接NVDP(S EQ ID NO:105)的氨基酸序列的18个重复序列。主要重复序列区包括氨基酸序列NPNANP(SEQ ID NO:111)和NANPNA(SEQ ID N O:114)。在示例性的SEQ ID NO:1中,C末端结构域包括C末端区(氨基酸273-375)和跨膜结构域(氨基酸376-397)。在示例性的SEQ ID NO:1中,C末端区包括Th2R区(氨基酸314-327)和Th3R区(氨基酸352-363)。

[0344] 表2:示例性氨基酸序列

[0345]

SEQ ID NO:	蛋白质	SEQ ID NO:	蛋白质	SEQ ID NO:	蛋白质
1	CSP	317	EXP2 (3D7)	350	celTOS Pf (3D7)
287	TRAP	320	SPELD (3D7)	353	SPECT1 (3D7)
290	LSA-1	323	PL (3D7)	356	SPECT2
293	LSA-1a	326	P113 (3D7)	359	UIS3
296	LSA-1b	329	CyRPA (3D7)	362	ETRAMP10.3
299	LSA-3	332	RIPR (3D7)	365	RH5
302	LSAP1 (3D7)	335	E140	368	IBIS1
305	LSAP2 (3D7)	338	AMA-1	371	IBIS1
308	LISP1 (3D7)	341	GARP	374	IBIS1

[0346]

311	LISP2 (3D7)	344	PIESP2	377	PY02667
314	EXP1 (3D7)	347	SEA-1/SEP-1	380	PY03652

[0347] II.疟原虫T细胞串多肽构建体

[0348] 除其它方面外,本公开利用RNA技术作为一种模式来表达一种或多种疟原虫T细胞串多肽构建体(也称为“疟疾T细胞串多肽构建体”或“疟疾T细胞肽串构建体”),其包括来自本文所述的一种或多种疟原虫蛋白的一种或多种T细胞抗原或其一个或多个部分(例如,其一个或多个抗原性片段)。如本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体可包括来自如本文所述的一种或多种疟原虫多肽的一种或多种T细胞抗原或其一个或多个部分(例如,其一个或多个抗原性片段)。在一些实施方案中,如本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包含引发T细胞反应的一种或多种疟原虫肝期抗原。如本领域中所理解,如本文所述的“T细胞抗原”可以在受试者或模型系统中诱导T细胞反应。在一些实施方案中,靶向疟原虫感染的肝期的疟原虫T细胞串多肽构建体包括预期在被感染的肝细胞中丰度相对较高并引发T细胞反应的多肽或其抗原性部分。如本文所述编码疟原虫T细胞串多肽构建体的多核糖核苷酸以及本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体被设计用来向受试者递送多肽,并进而用于蛋白质降解和加工以在受试者体内呈递,使得受试者产生免疫反应(例如,T细胞反应)。确定T细胞反应存在的方法是本领域中熟知的,并且在实施例中进行了描述。在优选的实施方案中,如本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括来自疟原虫肝期多肽的一种以上T细胞抗原和/或表位或其一个或多个部分。在一些优选的实施方案中,一种或多种疟原虫肝期多肽或其抗原性部分包含2至20种之间的肝期多肽或其抗原性部分(例如,诱导T细胞反应的抗原性部分)。在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20种(优选4、5、6、7、8、9、10、11或12种)不同的肝期多肽或其抗原性部分(例如,其各自能够引发T细胞反应)。

[0349] 例如,在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体包括来自CSP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、TRAP、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3、LISP-1、LISP-2、LSA-3、EXP1、LSAP1的一种或多种疟原虫T细胞抗原和/或其多肽区或部分(例如,其一个或多个抗原性片段)。在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体包含约25个与约1200个之间的氨基酸,例如约25个与约1100个之间的氨基酸,例如约25个与约1000个之间的氨基酸,例如约25个与约750个之间的氨基酸,例如约25个与约500个之间的氨基酸。在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体包含约25、约50、约75、约100、约150、约200、约250、约300、约350、约400、约450、约500、约550、约600、约650、约700、约750、约800、约850、约900、约950、约1000、约1050、约1100、约1150或约1200个氨基酸。在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体另外包括一个或多个另外的氨基酸序列,如分泌信号(例如,异源分泌信号)、跨膜区(例如,异源跨膜区)、输运信号和/或接头,如本文所述。

[0350] A.T细胞抗原的选择

[0351] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体中利用的T细胞抗原包括通过以下中的一者或多者确认和/或表征的疟原虫蛋白质序列:

[0352] HLA-I或HLA-II结合(例如,与相关群体中存在的HLA等位基因);

[0353] 通过质谱法确认的HLA配体组学数据;

[0354] 相对高的表达;

[0355] 序列保守性;

[0356] 在寄生虫生命周期的早期肝期期间的表达;

[0357] 定位于寄生性液泡膜;

[0358] 血清反应性;

[0359] 免疫原性(例如,存在一个或多个B细胞和/或T细胞表位;在包括例如人、非人灵长类动物和/或小鼠在内的模型系统中诱导无菌保护的能力的证据);和

[0360] 不存在与人蛋白质组重叠的8个或更多个氨基酸的序列,除非6个或更多个氨基酸来自接头序列。

[0361] 在一些实施方案中,这类特征是通过实验或计算评估的。在一些实施方案中,这类特征是通过查阅已发表的报告评估的。

[0362] 例如,在一些实施方案中,通过实验评估HLA-I和/或HLA-II结合;在一些实施方案中,其是预测的。在一些实施方案中,采用诸如neonmhc 1和/或neonmhc 2的算法评估预测的HLA-I或HLA-II结合,所述算法分别预测和/或表征MHC I类和MHC II类结合的可能性。作为选择或另外地,在一些实施方案中,MHC-肽呈递预测算法或MHC-肽呈递预测因子是或包括NetMHCpan或NetMHCIIpan。在一些实施方案中,可以利用隐马尔可夫模型方法进行MHC-肽呈递预测和/或表征。在一些实施方案中,可以利用肽预测模型MARIA。在一些实施方案中,不利用NetMHCpan来预测或表征如本文所述的肽的MHC结合的可能性。在一些实施方案中,可以利用肽预测模型M ARIA。在一些实施方案中,不利用NetMHCIIpan来预测或表征如本文所述的肽的MHC结合的可能性。在一些实施方案中,既不利用N etMHCpan也不利用NetMHCIIpan来预测或表征如本文所述的肽的MHC结合的可能性。在一些实施方案中,MHC-肽呈递预测算法或M HC-肽呈递预测因子是或包括RECON® (肿瘤学的实时表位计算),其基于表达、加工和结合能力来提供高质量的MHC-肽呈递预测。参见例如Abelin等人,Immunity 21:315,2017;Abelin等人,Immunity 15:766,2019,上述文献中的每一者以全文引用的方式并入本文。

[0363] 在一些实施方案中,HLA结合和/或配体组学评估可以考虑要免疫的受试者的地理区域。例如,在一些实施方案中,可以考虑HLA等位基因多样性。在一些实施方案中,当一起考虑时,T细胞抗原包含预期或确定与预期或已知存在于相关区域或群体中的显著百分比(例如,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)的HLA等位基因结合的肽(例如,表位)。在一些实施方案中,当一起考虑时,T细胞抗原包含预期或确定与预期或已知存在于相关区域或群体中最普遍的(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个最普遍的,或10个最普遍中的至少1、2、3、4或5个最普遍的等)的HLA等位基因结合的肽。

[0364] 在一些实施方案中,通过实验确定表达水平(例如,在模型系统中或在被感染的人中)。在一些实施方案中,表达水平是报道的水平(例如,在发表或提交的报告中)。在一些实施方案中,表达水平以RNA来评估(例如,经由RNASeq)。在一些实施方案中(并且通常优选地),表达水平以蛋白质来评估。

[0365] 在一些实施方案中,例如使用可公开获得的序列评估软件(举例如,多重序列比对程序MAFFT、Clustal Omega等)来评估序列保守性。在一些实施方案中,通过查阅已发表的资源(例如,序列)来确定序列保守性。在一些实施方案中,序列保守性包括考虑当前或最近检测的毒株(例如,在活跃爆发中)。

[0366] 在一些实施方案中,通过参考可公开获得的数据库和/或软件来评估表面暴露。在一些实施方案中,通过参考可公开获得的数据来评估表面暴露,例如,如Swearingen等人,“Interrogating the Plasmodiu m Sporozoite Surface:Identification of Surface-

Exposed Proteins and Demonstration of Glycosylation on CSP and TRAP by Mass Spect rometry-Based Proteomics"PLoS Pathog(2016)中所述,该文献的内容出于本文所述的目的以引用的方式并入本文。

[0367] 在一些实施方案中,通过使来自被感染个体的血清样品与包括所关注的序列的多肽接触来评估血清反应性(例如,可以经由例如噬菌体展示或肽阵列等展示;参见例如Whittemore等人,PlosOne,2016,该文献以全文引用的方式并入本文)。在一些实施方案中,通过查阅文献报道和/或指示血清识别序列的数据库数据来评估血清反应性。

[0368] 在一些实施方案中,对免疫反应性和/或表位的存在的评估可以是或包括查阅免疫表位数据库(IEDB),本领域技术人员将知道该数据库是由NIAID提供资金的免费资源,其对关于抗体和T细胞表位的实验数据进行登记分类(参见iedb.org)。

[0369] 在一些实施方案中,评估诱导无菌保护的能力,例如,如以下文献中的一者或多者中所述:Schofield等人,"γ Interferon,$CD8^+$T cel ls and antibodies required for immunity to malaria sporozoites"Nat ure 330,664-666(1987);Weiss等人,(1988),"CD8+T cells(cytot oxic/suppressors)are required for protection in mice immunized wit h malaria sporozoites"Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85,573-576;Romero等人,"Cloned cytotoxic T cells recognize an epitope in the circumsporozoite protein and protect against malaria."Nature 341,323-326(1989);Rodrigues等人,(1991)"CD8+cytolytic T cell clon es derived against the Plasmodium yoelii circumsporozoite protein p rotect against malaria."Int.Immunol.3,579-585;Chakravarty等人,"CD8+T lymphocytes protective against malaria liver stages are pri med in skin-draining lymph nodes."Nat Med.2007年9月;13(9):1035-41.Epub 2007年8月19日,上述文献中的每一者以全文引用的方式并入本文)。

[0370] 在一些实施方案中,T细胞抗原的特征在于树突细胞呈递,这进而可以指示HLA结合和/或免疫原性。不希望受任何特定理论的束缚,提出了树突细胞呈递(例如,在外周淋巴结中)可诱导迁移至肝脏的C D8+T细胞,例如可消除被寄生虫感染的肝细胞。参见例如Chakrav arty等人,"CD8+T lymphocytes protective against malaria liver stag es are primed in skin-draining lymph nodes."Nat Med.2007年9月;13(9):1035-41.Epub 2007年8月19日,该文献的全部内容出于本文所述的目的并入本文。

[0371] B.示例性T细胞抗原

[0372] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一种或多种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括来自选自CSP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、TRAP、LSAP2、UIS3、IS4、LISP-1、LISP-2、LSA-3、EXP1和LSAP1的疟原虫蛋白的一种或多种疟原虫T细胞抗原。

[0373] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括2至约20种疟原虫T细胞抗原(例如,约2至约15、约2至约10、约2至约9、约2至约8、约2至约7、约2至约6或约2至约5种疟原虫T细胞抗原)。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括四种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述

的疟原虫T细胞串多肽构建体包括五种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括六种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括七种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括八种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括九种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括十种疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,本文所述的疟疾T细胞肽串构建体仅包含所包括的疟原虫T细胞抗原的一个或多个免疫原性部分。

[0374] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP,例如恶性疟原虫CSP,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫CSP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0375] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例

如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0376] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0377] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案

中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0378] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP1多肽,例如疟原虫LSAP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:302的氨基酸序列或由SEQ ID NO:302的氨基酸序列组成的LSAP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:302的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:302的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:192的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:192的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP1多肽片段包含根据SEQ ID NO:192的氨基酸或由根据SEQ ID NO:192的氨基酸组成。

[0379] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少

90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0380] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0381] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、

97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0382] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含氨基酸SEQ ID NO:234、235或236或由氨基酸SEQ ID NO:234、235或236组成。

[0383] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些

实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列组成。

[0384] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-3多肽,例如疟原虫LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:299的氨基酸序列或由SEQ ID NO:299的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:249的氨基酸或由根据SEQ ID NO:249的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列组成。

[0385] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括EXP1多肽,例如疟

原虫EXP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:314的氨基酸序列或由SEQ ID NO:314的氨基酸序列组成的EXP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:314的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:314的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的EXP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫EXP1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫EXP1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:263的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:263的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫EXP1多肽片段包含根据SEQ ID NO:263的氨基酸或由根据SEQ ID NO:263的氨基酸组成。

[0386] C.输运信号

[0387] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括输运信号。例如,在一些实施方案中,输运信号是MHC I类输运信号(MITD)。在一些实施方案中,MITD包含根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列组成。

[0388] D.分泌信号

[0389] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括分泌信号,例如在哺乳动物细胞中有功能的分泌信号。在一些实施方案中,分泌信号包括疟原虫分泌信号或由疟原虫分泌信号组成。在一些实施方案中,疟原虫分泌信号包括疟原虫CSP分泌信号或由疟原虫CSP分泌信号组成。

[0390] 在一些实施方案中,所利用的分泌信号是异源分泌信号。在一些实施方案中,异源分泌信号包括非人分泌信号或由非人分泌信号组成。在一些实施方案中,异源分泌信号包括病毒分泌信号或由病毒分泌信号组成。在一些实施方案中,病毒分泌信号包括HSV分泌信号(例如,HSV-1或HSV-2分泌信号)或由HSV分泌信号(例如,HSV-1或HSV-2分泌信号)组成。在一些实施方案中,HSV分泌信号包括HSV糖蛋白D(gD)分泌信号或由HSV糖蛋白D(gD)分泌信号组成。在一些实施方案中,分泌信号包括埃博拉病毒分泌信号或由埃博拉病毒分泌信号组成。在一些实施方案中,埃博拉病毒分泌信号包括埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号或由埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号组成。

[0391] 在一些实施方案中,分泌信号的特征在于约15至30个氨基酸的长度。

[0392] 在许多实施方案中,分泌信号位于本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体的N末端。在一些实施方案中,分泌信号优选允许将与其相关的疟原虫T细胞串多肽构建体转运到限定的细胞隔室中,优选细胞表面、内质网(ER)或内体-溶酶体隔室。

[0393] 在一些实施方案中,分泌信号选自S1S2分泌信号(aa 1-19)、免疫球蛋白分泌信号(aa 1-22)、人SPARC分泌信号、人胰岛素同种型1分泌信号、人白蛋白分泌信号等。本领域技术人员将知道其它的分泌信号,例如WO2017/081082中所公开的(例如SEQ ID NO:1-1115和1728或其片段变体),该文献以全文引用的方式并入本文。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包含分泌信号。

[0394] 在一些实施方案中,分泌信号是表3中列出的分泌信号或相对于其具有1、2、3、4或5个氨基酸差异的分泌信号。在一些实施方案中,信号序列选自下表3中包括的那些和/或由下表4中的序列编码的那些。

[0395] 表3:示例性分泌信号

[0396]

SEQ ID NO:	信号		SEQ ID NO:	信号
382	HSV-1 gD SP		412	TRIO
391	HSV-2 gD SP		414	人 Ig 重链信号肽
394	HSV-2		417	人 Ig 重链信号肽
397	Csp (分离株 3D7)		420	人 Ig 重链信号肽
388	HSV-1 gD SP		423	人 Ig 重链信号肽
400	埃博拉刺突糖蛋白 GP		426	人 Ig 重链信号肽
403	SARS-CoV-2-S		429	人 Ig 重链信号肽
406	人 Ig 重链信号肽(huSec)		432	人 Ig 重链信号肽
408	HuIgGk 信号肽		435	人 Ig 重链信号肽
409	IgE 重链 ε-1 信号肽		438	人 Ig κ 链信号肽
410	日本脑炎 PRM 信号序列		441	人 Ig κ 链信号肽
411	VSVg 蛋白质信号序列			

[0397] 表4:编码分泌信号的示例性多核苷酸序列

[0398]

SEQ ID NO:	信号		SEQ ID NO:	信号
381	HSV-1 gD SP 野生型		422	人 Ig 重链信号肽
384	HSV-1 gD SP Opt10 nt 序列		425	人 Ig 重链信号肽
402	SARS-CoV-2-S		428	人 Ig 重链信号肽
405	人 Ig 重链信号肽(huSec)		431	人 Ig 重链信号肽
413	人 Ig 重链信号肽		434	人 Ig 重链信号肽
416	人 Ig 重链信号肽		437	人 Ig κ 链信号肽
419	人 Ig 重链信号肽		440	人 Ig κ 链信号肽

[0399] E.跨膜区

[0400] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括跨膜区。在一些实施方案中,跨膜区包括疟原虫跨膜区或由疟原虫跨膜区组成。在一些实施方案中,所利用的跨膜区是通常在性质上与CSP相关的区域。在一些实施方案中,疟原虫跨膜区包含疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区或由疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区组成,例如SEQ ID NO:1的氨基酸374-397。在一些实施方案中,所利用的跨膜区是异源跨膜区。

[0401] 在一些实施方案中,跨膜区位于疟原虫T细胞串多肽构建体的N末端。在一些实施方案中,跨膜区位于疟原虫T细胞串多肽构建体的C末端。在一些实施方案中,跨膜区不位于疟原虫T细胞串多肽构建体的N末端或C末端。

[0402] 跨膜区是本领域中已知的,其中的任一者均可用在本文所述的疟原虫T细胞串多

肽构建体中。在一些实施方案中,跨膜区包含或者是流感病毒的血凝素(HA)、HIV-1的Env、马传染性贫血病毒(EIAV)、鼠白血病病毒(MLV)、小鼠乳腺肿瘤病毒、水疱性口炎病毒(VSV)的G蛋白、狂犬病病毒或七跨膜结构域受体的跨膜结构域。

[0403] 在一些实施方案中,异源跨膜区不包括血凝素跨膜区。在一些实施方案中,异源跨膜区包括非人跨膜区或由非人跨膜区组成。在一些实施方案中,异源跨膜区包括病毒跨膜区或由病毒跨膜区组成。在一些实施方案中,异源跨膜区包括HSV跨膜区或由HSV跨膜区组成,例如HSV-1或HSV-2跨膜区。在一些实施方案中,HSV跨膜区包括HSV gD跨膜区或由HSV gD跨膜区组成,例如包含根据SEQ ID NO:447的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:447的氨基酸序列组成。

[0404] 在一些实施方案中,异源跨膜区包括人跨膜区或由人跨膜区组成。在一些实施方案中,人跨膜区包含人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区或由人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区组成。在一些实施方案中,hDAF-GPI锚定区包含根据SEQ ID NO:450的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:450的氨基酸序列组成。

[0405] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包含跨膜区。

[0406] F.接头

[0407] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个接头。在一些实施方案中,接头是或包含2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个氨基酸。在一些实施方案中,接头是或包含不多于约30、25、20、15、10个或更少的氨基酸。接头可包括任何氨基酸序列,并且不限于任何特定的氨基酸。在一些实施方案中,接头包含一个或多个甘氨酸(G)氨基酸。在一些实施方案中,接头包含一个或多个丝氨酸(S)氨基酸。在一些实施方案中,接头包括基于切割预测因子选择的氨基酸,以产生高度可切割的接头。

[0408] 在一些实施方案中,接头是或包含S-G_4-S-G_4-S。在一些实施方案中,接头是或包含根据SEQ ID NO:455的氨基酸序列。在一些实施方案中,接头是或包含根据SEQ ID NO:452的氨基酸序列。在一些实施方案中,接头是根据SEQ ID NO:453、455、452、458(GGS)、459(GGGS)、456、460、454或457中的任一者的接头。在一些实施方案中,接头是或包含如WO2017/081082中所示的序列,该文献以全文引用的方式并入本文(参见SEQ ID NO:1509-1565,或其片段或变体)。

[0409] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包含两个疟原虫T细胞抗原之间的接头。

[0410] G.疟原虫T细胞串多肽构建体的实施方案

[0411] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括以下中的两者或更多者:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(iv)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(vii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;(ix)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

[0412] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括来自恶性疟原虫的一种或多种疟原虫多肽或其部分。在一些实施方案中,一种或多种疟原虫多肽或其部分是一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,一种或多种恶性疟原虫T细胞抗

原来自恶性疟原虫分离株3D7。

[0413] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括来自伯氏疟原虫的一种或多种疟原虫多肽或其部分(例如,抗原性伯氏疟原虫CSP多肽片段)。

[0414] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括细菌多肽的抗原性片段。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括抗原性卡介苗(BCG)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性BCG多肽片段包含根据SEQ ID NO:461的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括抗原性破伤风毒素(TT)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性TT多肽片段包含根据SEQ ID NO:462的氨基酸序列。

[0415] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括抗原性疟原虫子孢子富苏氨酸-天冬酰胺蛋白(STARP)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫STARP多肽片段包含根据SEQ ID NO:463的氨基酸序列。

[0416] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括如上所述的一个或多个疟原虫多肽区或其部分(例如,抗原性片段)。下面描述示例性组合。

[0417] 包括CSP、TRAP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、LSA-3、LSAP2的构建体

[0418] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSA-3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-3多肽片段)和疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0419] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ

ID NO:133的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0420] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0421] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、

92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0422] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0423] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-3多肽,例如疟原虫LSA-3多肽,例如恶性疟原虫LSA-3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:299的氨基酸序列或

由SEQ ID NO:299的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:249的氨基酸或由根据SEQ ID NO:249的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列组成。

[0424] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨

基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0425] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(iv)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;和(vi)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(iv)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;和(vi)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:3的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(iv)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;和(vi)抗原性疟原虫TRAP多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:6的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0426] 包括LSAP1、EXP1、UIS3、ETRAMP10.3、LISP-1、LISP-2的构建体

[0427] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括疟原虫LSAP1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP1多肽片段)、疟原虫EXP1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫EXP1多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)、疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段)、疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段)和疟原虫LISP-2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0428] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP1多肽,例如疟原虫LSAP1多肽,例如恶性疟原虫LSAP1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:302的氨基酸序列或由SEQ ID NO:302的氨基酸序列组成的LSAP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:302的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:302的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:192的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一

性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:192的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP1多肽片段包含根据SEQ ID NO:192的氨基酸或由根据SEQ ID NO:192的氨基酸组成。

[0429] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括EXP1多肽,例如疟原虫EXP1多肽,例如恶性疟原虫EXP1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:314的氨基酸序列或由SEQ ID NO:314的氨基酸序列组成的EXP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:314的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:314的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的EXP1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫EXP1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫EXP1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:263的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:263的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫EXP1多肽片段包含根据SEQ ID NO:263的氨基酸或由根据SEQ ID NO:263的氨基酸组成。

[0430] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0431] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0432] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列

同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0433] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽,例如恶性疟原虫LISP-2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列组成。

[0434] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫LSAP1多肽片段;(ii)抗原性疟原虫EXP1多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和(vi)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫EXP1多肽片段;(ii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫LSAP1多肽片段;(v)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(vi)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:9的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(ii)抗原性疟原虫LSAP1多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;(iv)抗原性疟原虫EXP1多肽片段;(v)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和(vi)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:12的氨基酸序列具有至少85%(例如,

至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列。

[0435] 包括CSP、TRAP、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3的构建体

[0436] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)和疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0437] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0438] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方

案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0439] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、

94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0440] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0441] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有

至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0442] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

[0443] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:57的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0444] 包括CSP、TRAP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、LSA-3、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3的构建体

[0445] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSA-3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-3多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)和疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0446] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ

ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0447] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189

或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0448] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0449] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的

氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0450] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-3多肽,例如疟原虫LSA-3多肽,例如恶性疟原虫LSA-3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:299的氨基酸序列或由SEQ ID NO:299的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:249的氨基酸或由根据SEQ ID NO:249的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列组成。

[0451] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实

施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0452] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0453] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同

一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0454] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;和(viii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;和(viii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0455] 包括CSP、TRAP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、LSAP2、UIS3、ETR AMP10.3、LISP-1、LISP-2的构建体

[0456] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)、疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段)、疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段)和疟原虫LISP-2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性

疟原虫分离株3D7。

[0457] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0458] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性

的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0459] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0460] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的

氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0461] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0462] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方

案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0463] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0464] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0465] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽,例如恶性疟原虫LISP-2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽

片段包含根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、244、245、246或246的氨基酸序列组成。

[0466] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0467] 包括CSP、TRAP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、LSAP2、UIS3、ETR AMP10.3、LISP-1的构建体

[0468] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)、疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段)和疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0469] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N

末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0470] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0471] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基

酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0472] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、

161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0473] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0474] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、

91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0475] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0476] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包

含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0477] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和(viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和(viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0478] 包括CSP、TRAP、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3、LISP-1、LISP-2的构建体

[0479] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)、疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段)、疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段)和疟原虫LISP-2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0480] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,

抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0481] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0482] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如

疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0483] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根

据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0484] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0485] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236

具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0486] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽,例如恶性疟原虫LISP-2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列组成。

[0487] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:30的氨基酸序列。

[0488] 包括CSP、TRAP、LSA-1(b)、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3、LISP-1的构建体

[0489] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个

或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)、疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段)和疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0490] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0491] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由

与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0492] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0493] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0494] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一

些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0495] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0496] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、

95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0497] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和(vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和(vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:33的氨基酸序列。

[0498] 包括CSP、TRAP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、LSA-3、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3、LISP-1、LISP-2的构建体

[0499] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段)、疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSA-3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-3多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)、疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段)、疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段)和疟原虫LISP-2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0500] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括CSP多肽,例如疟原虫CSP多肽,例如恶性疟原虫CSP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列或由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的CSP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括一个或多个抗原性疟原虫CSP多肽片段,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。

在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端端部区和接合区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端结构域和接合区。在一些实施方案中,含有N末端结构域的至少一些部分的抗原性疟原虫CSP多肽片段不含C末端区。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段不含N末端结构域。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:133的氨基酸或由根据SEQ ID NO:133的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:138、139、140、141或142具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫CSP多肽片段包含根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:138、139、140、141或142的氨基酸序列组成。

[0501] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、

188、189或190的氨基酸序列组成。

[0502] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0503] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一

性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0504] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-3多肽,例如疟原虫LSA-3多肽,例如恶性疟原虫LSA-3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:299的氨基酸序列或由SEQ ID NO:299的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:249的氨基酸或由根据SEQ ID NO:249的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或162的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或162的氨基酸序列组成。

[0505] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、

91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0506] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0507] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含

与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0508] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0509] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽,例如恶性疟原虫LISP-2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些

实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:243、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、245、246或247的氨基酸序列组成。

[0510] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;(ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,和(x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;(ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和(x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:36的氨基酸序列。

[0511] 包括LSA-1(a)、LSA-1(b)、LISP-1、LISP-2的构建体

[0512] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段)和疟原虫LISP-2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0513] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少

85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0514] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0515] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如

疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0516] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽,例如恶性疟原虫LISP-2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、

244、245、246或247的氨基酸序列组成。

[0517] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

[0518] 包括LSA-1(a)、LSA-1(b)、LSA-3、LISP-1、LISP-2的构建体

[0519] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSA-3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-3多肽片段)、疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段)和疟原虫LISP-2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0520] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0521] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0522] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-3多肽,例如疟原虫LSA-3多肽,例如恶性疟原虫LSA-3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:299的氨基酸序列或由SEQ ID NO:299的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:299的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:249的氨基酸或由根据SEQ ID NO:249的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID

NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:254、255、256、257、258、259、260、261或262的氨基酸序列组成。

[0523] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0524] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽,例如恶性疟原虫LISP-2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或

由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列组成。

[0525] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;(iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和(v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;(iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和(v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0526] 包括TRAP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3、LISP-1、LISP-2的构建体

[0527] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSA-1(a)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段)、疟原虫LSA-1(b)多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)、疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段)、疟原虫LISP-1多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-1多肽片段)和疟原虫LISP-2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LISP-2多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0528] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性

的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0529] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(a)多肽,例如疟原虫LSA-1(a)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(a)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:293的氨基酸序列或由SEQ ID NO:293的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:293的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(a)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:144的氨基酸或由根据SEQ ID NO:144的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:149、150、151、152或153具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:149、150、151、152或153的氨基酸序列组成。

[0530] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSA-1(b)多肽,例如疟原虫LSA-1(b)多肽,例如恶性疟原虫LSA-1(b)多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:296的氨基酸序列或由SEQ ID NO:296的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的

氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:296的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSA-1(b)多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:155的氨基酸或由根据SEQ ID NO:155的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:160、161、162、163、164、165、166、167、168或169的氨基酸序列组成。

[0531] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0532] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方

案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0533] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据SEQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0534] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-1多肽,例如疟原虫LISP-1多肽,例如恶性疟原虫LISP-1多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:308的氨基酸序列或由SEQ ID NO:308的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:308的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-1多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:229的氨基酸或由根据SEQ ID NO:229的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:234、235或236具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:234、235或236的氨基酸序列组成。

[0535] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LISP-2多肽,例如疟原虫LISP-2多肽,例如恶性疟原虫LISP-2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:311的氨基酸序列或由SEQ ID NO:311的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:311的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的LISP-2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LISP-2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含根据SEQ ID NO:238的氨基酸或由根据SEQ ID NO:238的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:243、244、245、246或247具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LISP-2多肽

片段包含根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:243、244、245、246或247的氨基酸序列组成。

[0536] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;(iv)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;(v)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;(vi)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;(vii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和(viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

[0537] 包括TRAP、LSAP2、UIS3、ETRAMP10.3的构建体

[0538] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括疟原虫TRAP多肽(或一个或多个抗原性疟原虫TRAP多肽片段)、疟原虫LSAP2多肽(或一个或多个抗原性疟原虫LSAP2多肽片段)、疟原虫UIS3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫UIS3多肽片段)和疟原虫ETRAMP10.3多肽(或一个或多个抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段),其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0539] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括TRAP多肽,例如疟原虫TRAP多肽,例如恶性疟原虫TRAP多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:287的氨基酸序列或由SEQ ID NO:287的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:287的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成的TRAP多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫TRAP多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:171的氨基酸或由根据SEQ ID NO:171的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85%(例如,至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基

酸序列或由与SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189或190的氨基酸序列组成。

[0540] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括LSAP2多肽,例如疟原虫LSAP2多肽,例如恶性疟原虫LSAP2多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:305的氨基酸序列或由SEQ ID NO:305的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:305的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的LSAP2多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:198的氨基酸或由根据SEQ ID NO:198的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:203、204、205、206、207、208、209或210的氨基酸序列组成。

[0541] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括UIS3多肽,例如疟原虫UIS3多肽,例如恶性疟原虫UIS3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:359的氨基酸序列或由SEQ ID NO:359的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:359的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的UIS3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫UIS3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、

91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:212的氨基酸或由根据SEQ ID NO:212的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:217具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:217的氨基酸序列组成。

[0542] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括ETRAMP10.3多肽,例如疟原虫ETRAMP10.3多肽,例如恶性疟原虫ETRAMP10.3多肽,优选来自恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含SEQ ID NO:362的氨基酸序列或由SEQ ID NO:362的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括包含与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:362的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成的ETRAMP10.3多肽。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:219的氨基酸或由根据S EQ ID NO:219的氨基酸组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫E TRAMP10.3多肽片段包含与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列或由与SEQ ID NO:224、225、226或227具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段包含根据SEQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列或由根据S EQ ID NO:224、225、226或227的氨基酸序列组成。

[0543] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括:(i)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和(iv)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体按顺序包括:(i)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;(ii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;(iii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和(iv)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,其中所述疟原虫优选为恶性疟原虫,更优选恶性疟原虫分离株3D7。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括与根据SEQ ID NO:54的氨基酸序列具有至少85％(例如,至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括SEQ ID NO:54的氨基酸序列。

[0544] H.示例性构建体序列

[0545] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体具有表5中提供的氨基酸序列,和/或由表6A或6B中提供的核苷酸序列编码。图3中也示意性地显示了示例性疟原虫T细胞串多肽构建体。

[0546] 表5:示例性构建体的氨基酸序列

[0547]

SEQ ID NO.	构建体		SEQ ID NO.	构建体
3	RNA 构建体 14		33	RNA 构建体 53
6	RNA 构建体 15		36	RNA 构建体 54
9	RNA 构建体 16		39	RNA 构建体 55
12	RNA 构建体 17		42	RNA 构建体 56
15	RNA 构建体 48		45	RNA 构建体 57
18	RNA 构建体 49		48	RNA 构建体 58
21	RNA 构建体 3C		51	RNA 构建体 65
24	RNA 构建体 50		54	RNA 构建体 66
27	RNA 构建体 51		57	RNA 构建体 67
30	RNA 构建体 52			

[0548] 表6A:示例性构建体的DNA序列

[0549]

SEQ ID NO.	构建体		SEQ ID NO.	构建体
2	RNA 构建体 14		32	RNA 构建体 53
5	RNA 构建体 15		35	RNA 构建体 54

[0550]

8	RNA 构建体 16	38	RNA 构建体 55
11	RNA 构建体 17	41	RNA 构建体 56
14	RNA 构建体 48	44	RNA 构建体 57
17	RNA 构建体 49	47	RNA 构建体 58
20	RNA 构建体 3C	50	RNA 构建体 65/MAS4h
23	RNA 构建体 50	53	RNA 构建体 66
26	RNA 构建体 51	56	RNA 构建体 67
29	RNA 构建体 52		

[0551] 表6B:示例性构建体的RNA序列

[0552]

SEQ ID NO.	构建体	SEQ ID NO.	构建体
4	RNA 构建体 14	34	RNA 构建体 53
7	RNA 构建体 15	37	RNA 构建体 54
10	RNA 构建体 16	40	RNA 构建体 55
13	RNA 构建体 17	43	RNA 构建体 56
16	RNA 构建体 48	46	RNA 构建体 57
19	RNA 构建体 49	49	RNA 构建体 58
22	RNA 构建体 3C	52	RNA 构建体 65
25	RNA 构建体 50	55	RNA 构建体 66
28	RNA 构建体 51	58	RNA 构建体 67
31	RNA 构建体 52		

[0553] III.多核糖核苷酸

[0554] A.示例性多核糖核苷酸特征

[0555] 本文所述的多核糖核苷酸编码本文所述的一种或多种疟原虫T细胞串多肽构建体。在一些实施方案中,本文所述的多核糖核苷酸可包含编码所关注的5'UTR和/或所关注

的3'UTR的核苷酸序列。在一些实施方案中,本文所述的多核苷酸可包含编码聚A尾的核苷酸序列。在一些实施方案中,本文所述的多核糖核苷酸可包含5'帽,其可在转录期间并入,或在转录后连接于多核糖核苷酸。

[0556] 1.5'帽

[0557] mRNA的一个结构特征是在五引物端(5')处的帽结构。天然真核mRNA包含经由5′至5′-三磷酸桥与mRNA连接的7-甲基鸟苷帽,产生cap0结构(m7GpppN)。在大多数真核mRNA和一些病毒mRNA中,进一步的修饰可发生在第一个和后续的核苷酸的2'-羟基(2'-OH)处(例如,2'-羟基可以被甲基化以形成2'-O-Me),分别产生"cap1"和"cap2"五引物端)。Diamond等人,(2014)Cytokine&growth Factor Reviews,25:543-550(该文献以全文引用的方式并入本文)报道称ca p0-mRNA不能像cap1-mRNA那样被有效地翻译,在后者中mRNA 5'端的倒数第二个位置的2'-O-Me的作用是决定性的。已显示2'-O-met的缺乏触发先天免疫并激活IFN反应。Daffis等人,(2010)Natu re,468:452-456;和Züst等人,(2011)Nature Immunology,12:137-143,上述文献以全文引用的方式并入本文。

[0558] RNA加帽已经被充分研究,并且例如在Decroly E等人,(2012)Nature Reviews 10:51-65;以及在Ramanathan A.等人,(2016)Nucleic Acids Res;44(16):7511-7526中有描述,上述文献中的每一者的全部内容以引用的方式特此并入。例如,在一些实施方案中,在本发明的背景下可能合适的5'-帽结构是cap0(第一个核碱基的甲基化,例如m7GpppN)、cap 1(m7GpppN的相邻核苷酸的核糖的另外的甲基化)、cap 2(m7GpppN的下游第2个核苷酸的核糖的另外的甲基化)、cap3(m7GpppN的下游第3个核苷酸的核糖的另外的甲基化)、cap4(m7GpppN的下游第4个核苷酸的核糖的另外的甲基化)、ARCA ("抗反向帽类似物")、修饰的ARCA(例如硫代磷酸酯修饰的ARCA)、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'-氟-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷和2-叠氮-鸟苷。

[0559] 如本文所用的术语"5'-帽"是指在RNA(例如,mRNA)的5'端可见的结构,并且通常包括经由5'-至5'-三磷酸键联与RNA(例如,mRNA)连接的鸟苷核苷酸(也称为Gppp或G(5')ppp(5'))。在一些实施方案中,5'帽中包括的鸟苷核苷可以被修饰,例如通过在碱基(鸟嘌呤)上的一个或多个位置(例如,在7-位置)的甲基化和/或通过在核糖的一个或多个位置的甲基化。在一些实施方案中,5'帽中包括的鸟苷核苷在核糖处包含3'O甲基化(3'OMeG)。在一些实施方案中,5'帽中包括的鸟苷核苷包含在鸟嘌呤的7-位置处的甲基化(m7G)。在一些实施方案中,5'帽中包括的鸟苷核苷包含在鸟嘌呤的7-位置处的甲基化和在核糖处的3'O甲基化(m7(3'OMeG))。将要理解的是,上文段落中使用的符号,例如"($m_2^{7,3'-O}$)G"或"m7(3'OMeG)",适用于本文所述的其它结构。

[0560] 在一些实施方案中,可以通过体外转录来实现提供具有本文公开的5'-帽的RNA,其中5'-帽以共转录方式表达到RNA链中,或者可以使用加帽酶在转录后附接于RNA。在一些实施方案中,与用适当的参考比较物进行共转录加帽相比,用所公开的帽进行共转录加帽提高了RNA的加帽效率。在一些实施方案中,提高加帽效率可增加RNA的翻译效率和/或翻译速率,和/或增加编码的多肽的表达。在一些实施方案中,多核苷酸的改变产生不可水解的帽结构,其可例如防止脱帽并增加RNA半衰期。

[0561] 在一些实施方案中,所利用的5'帽是cap0、cap1或cap2结构。参见例如Ramanathan A等人的图1和Decroly E等人的图1,上述图中的每一者以引用的方式整体并入本文。参见

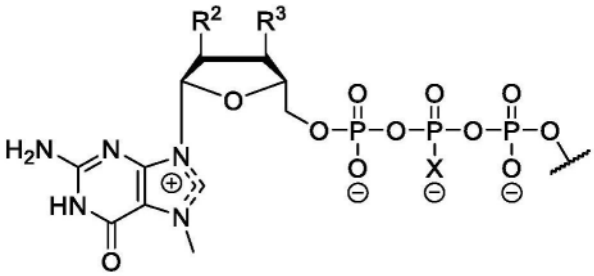
例如Ramanathan A等人的图1和Decroly E等人的图1,上述图中的每一者以引用的方式整体并入本文。在一些实施方案中,本文所述的RNA包含cap1结构。在一些实施方案中,本文所述的RNA包含cap2。

[0562] 在一些实施方案中,本文所述的RNA包含cap0结构。在一些实施方案中,cap0结构包含在鸟嘌呤的7-位置处甲基化的鸟苷核苷($(m^7)G$)。在一些实施方案中,这种cap0结构经由5'-至5'-三磷酸键联与RNA连接,并且在本文中也被称为$(m^7)Gppp$。在一些实施方案中,cap0结构包含在鸟苷的核糖的2'-位置甲基化的鸟苷核苷。在一些实施方案中,cap0结构包含在鸟苷的核糖的3'-位置甲基化的鸟苷核苷。在一些实施方案中,5'帽中包括的鸟苷核苷包含在鸟嘌呤的7-位置处和在核糖的2'-位置处的甲基化($(m_2^{7,2'-O})G$)。在一些实施方案中,5'帽中包括的鸟苷核苷包含在鸟嘌呤的7-位置处和在核糖的2'-位置处的甲基化($(m_2^{7,3'-O})G$)。

[0563] 在一些实施方案中,cap1结构包含在鸟嘌呤的7-位置甲基化($(m^7)G$)且任选在核糖的2'或3'位置甲基化的鸟苷核苷和在RNA中2'O甲基化的第一核苷酸($(m^{2'-O})N_1$)。在一些实施方案中,cap1结构包含在鸟嘌呤的7-位置($(m^7)G$)和核糖的3'位置处甲基化的鸟苷核苷以及在RNA中的2'O甲基化的第一核苷酸($(m^{2'-O})N_1$)。在一些实施方案中,cap1结构经由5'-至5'-三磷酸键联与RNA连接,并且在本文中也被称为例如($(m^7)Gppp(^{2'-O})N_1$)或$(m_2^{7,3'-O})Gppp(^{2'-O})N_1$),其中$N_1$如本文所定义和描述。在一些实施方案中,cap1结构包含第二核苷酸N_2,其在位置2处,并且选自A、G、C或U,例如$(m^7)Gppp(^{2'-O})N_1pN_2$或$(m_2^{7,3'-O})Gppp(^{2'-O})N_1pN_2$,其中$N_1$和$N_2$中的每一者如本文所定义和描述。

[0564] 在一些实施方案中,cap2结构包含在鸟嘌呤的7-位置甲基化($(m^7)G$)且任选在核糖的2'或3'位置甲基化的鸟苷核苷以及在RNA中的2'O甲基化的第一和第二核苷酸($(m^{2'-O})N_1p(m^{2'-O})N_2$)。在一些实施方案中,cap2结构包含在鸟嘌呤的7-位置($(m^7)G$)和核糖的3'位置处甲基化的鸟苷核苷以及在RNA中的2'O甲基化的第一和第二核苷酸。在一些实施方案中,cap2结构经由5'-至5'-三磷酸键联与RNA连接,并且在本文中也被称为例如($(m^7)Gppp(^{2'-O})N_1p(^{2'-O})N_2$)或$(m_2^{7,3'-O})Gppp(^{2'-O})N_1p(^{2'-O})N_2$),其中$N_1$和$N_2$中的每一者如本文所定义和描述。

[0565] 在一些实施方案中,5'帽是二核苷酸帽结构。在一些实施方案中,5'帽是包含N_1的二核苷酸帽结构,其中N_1如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5'帽是二核苷酸帽G^*N_1,其中N_1如上文和本文所定义,并且G*包含式(I)的结构:

[0566] 

(I)

[0567] 或其盐,

[0568] 其中

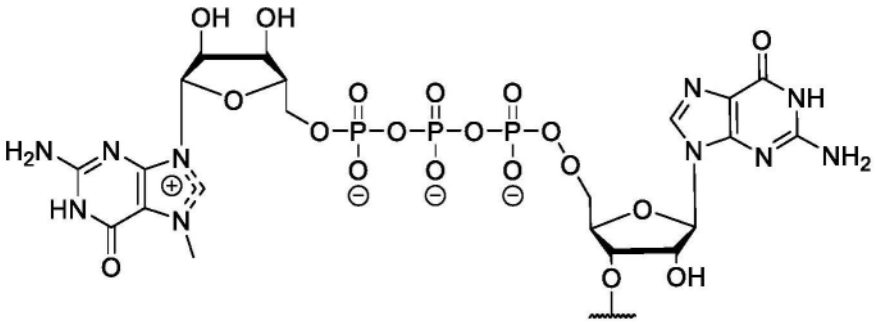
[0569] 每个R^2和R^3是-OH或-OCH_3;并且

[0570] X是O或S。

[0571] 在一些实施方案中,R^2是-OH。在一些实施方案中,R^2是-OCH_3。在一些实施方案中,R^3是-OH。在一些实施方案中,R^3是-OCH_3。在一些实施方案中,R^2是-OH并且R^3是-OH。在一些实施方案中,R^2是-OH并且R^3是-CH_3。在一些实施方案中,R^2是-CH_3并且R^3是-OH。在一些实施方案中,R^2是-CH_3并且R^3是-CH_3。

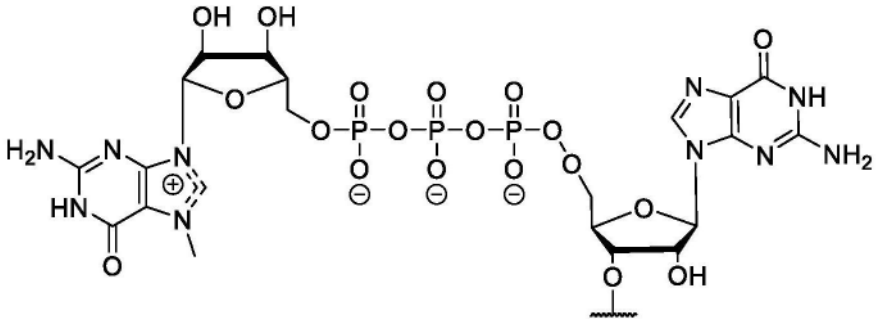
[0572] 在一些实施方案中,X是O。在一些实施方案中,X是S。

[0573] 在一些实施方案中,5'帽是二核苷酸cap0结构(例如,$(m^7)GpppN_1$、$(m_2^{7,2'-O})GpppN_1$、$(m_2^{7,3'-O})GpppN_1$、$(m^7)GppSpN_1$、$(m_2^{7,2'-O})GppSpN_1$或$(m_2^{7,3'-O})GppSpN_1$),其中N_1如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5'帽是二核苷酸cap0结构(例如,$(m^7)GpppN_1$、$(m_2^{7,2'-O})GpppN_1$、$(m_2^{7,3'-O})GpppN_1$、$(m^7)GppSpN_1$、$(m_2^{7,2'-O})GppSpN_1$或$(m_2^{7,3'-O})GppSpN_1$),其中N_1是G。在一些实施方案中,5'帽是二核苷酸cap0结构(例如,$(m^7)GpppN_1$、$(m_2^{7,2'-O})GpppN_1$、$(m_2^{7,3'-O})GpppN_1$、$(m^7)GppSpN_1$、$(m_2^{7,2'-O})GppSpN_1$或$(m_2^{7,3'-O})GppSpN_1$),其中N_1是A、U或C。在一些实施方案中,5'帽是二核苷酸cap1结构(例如,$(m^7)Gppp(m^{2'-O})N_1$、$(m_2^{7,2'-O})Gppp(m^{2'-O})N_1$、$(m_2^{7,3'-O})Gppp(m^{2'-O})N_1$、$(m^7)GppSp(m^{2'-O})N_1$、$(m_2^{7,2'-O})GppSp(m^{2'-O})N_1$或$(m_2^{7,3'-O})GppSp(m^{2'-O})N_1$),其中$N_1$如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5'帽选自由以下组成的组:$(m^7)GpppG$("Ecap0")、$(m^7)Gppp(m^{2'-O})G$("Ecap1")、$(m_2^{7,3'-O})GpppG$("ARCA"或"D1")和$(m_2^{7,2'-O})GppSpG$("β-S-ARCA")。在一些实施方案中,5'帽是$(m^7)GpppG$("Ecap0"),具有如下结构:

[0574] 

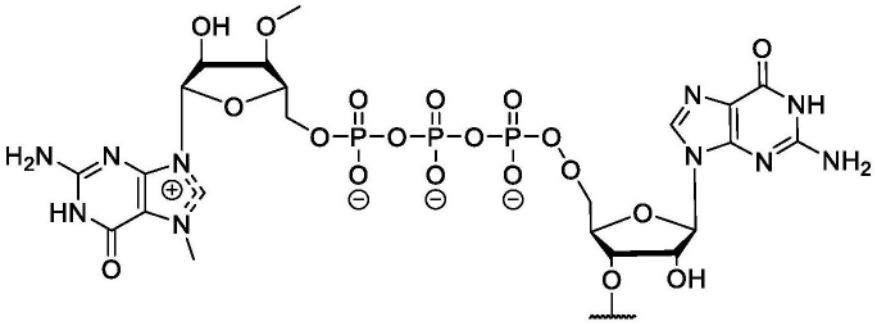
[0575] 或其盐。

[0576] 在一些实施方案中,5'帽是$(m^7)Gppp(m^{2'-O})G$("Ecap1"),具有如下结构:

[0577] 

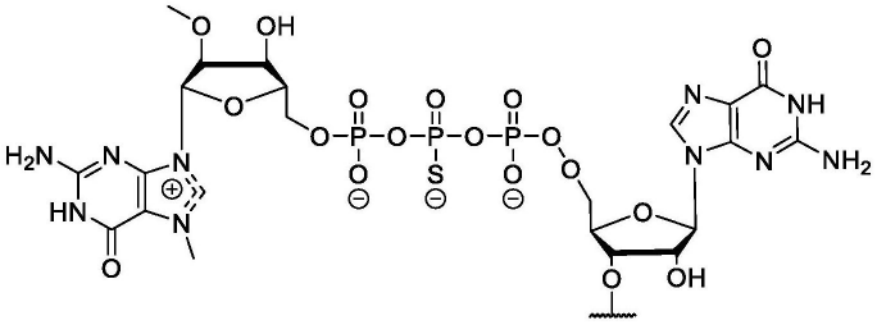
[0578] 或其盐。

[0579] 在一些实施方案中,5'帽是$(m_2^{7,3'-O})GpppG$("ARCA"或"D1"),具有如下结构:

[0580] 

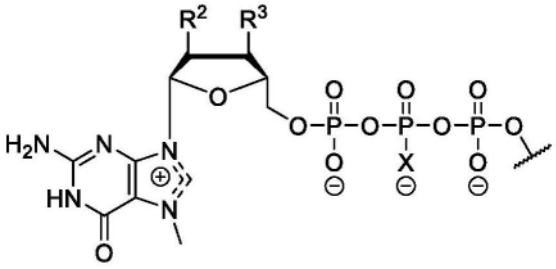
[0581] 或其盐。

[0582] 在一些实施方案中,5' 帽是($m_2^{7,2'-O}$)GppSpG("β-S-ARCA"),具有如下结构:

[0583] 

[0584] 或其盐。

[0585] 在一些实施方案中,5' 帽是三核苷酸帽结构。在一些实施方案中,5' 帽是包含N_1pN_2的三核苷酸帽结构,其中N_1和N_2如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5' 帽是二核苷酸帽G*N_1pN_2,其中N_1和N_2如上文和本文所定义,并且G*包含式(I)的结构:

[0586] 

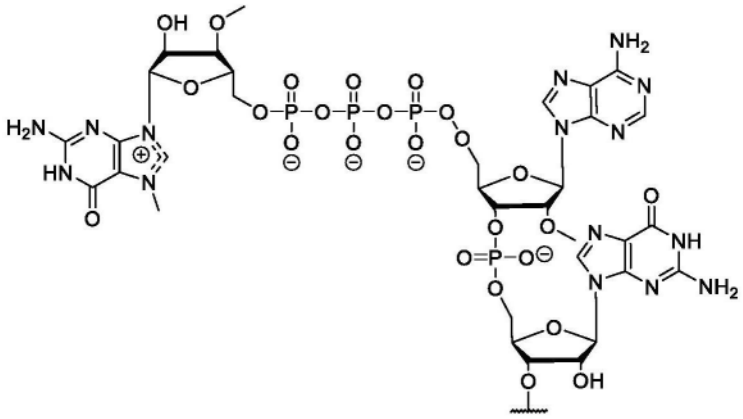
(I)

[0587] 或其盐,其中R^2、R^3和X如本文所定义和描述。

[0588] 在一些实施方案中,5' 帽是三核苷酸cap0结构(例如(m^7)GpppN_1pN_2、($m_2^{7,2'-O}$)GpppN_1pN_2或($m_2^{7,3'-O}$)GpppN_1pN_2),其中N_1和N_2如本文所定义和描述)。在一些实施方案中,5' 帽是三核苷酸cap1结构(例如,(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)N_1pN_2、($m_2^{7,2'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)N_1pN_2、($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)N_1pN_2),其中N_1和N_2如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5' 帽是三核苷酸cap2结构(例如,(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)N_1p($m^{2'-O}$)N_2、($m_2^{7,2'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)N_1p($m^{2'-O}$)N_2、($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)N_1p($m^{2'-O}$)N_2),其中N_1和N_2如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5' 帽选自由以下组成的组:($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)ApG("CleanCap AG," "CC413")、($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)GpG("CleanCap GG")、(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)ApG、(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)GpG、($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m_2^{6,2'-O}$)ApG和(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)ApU。

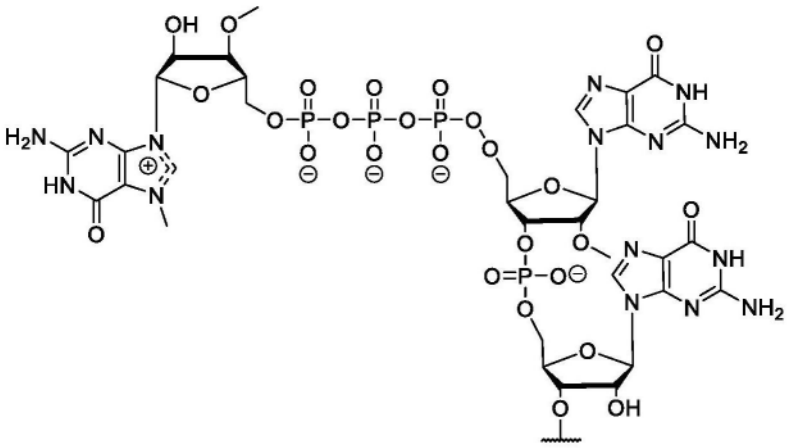
[0589] 在一些实施方案中,5' 帽是($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)ApG("CleanCap AG","CC413"),具

有如下结构：

[0590] 

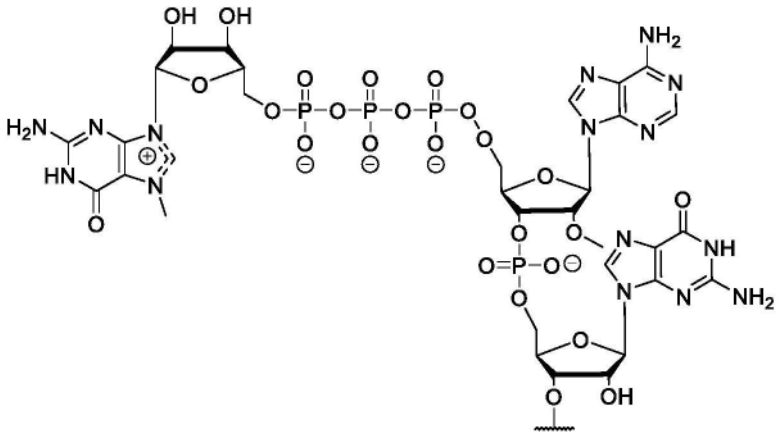
[0591] 或其盐。

[0592] 在一些实施方案中，5’帽是($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m^{2'-O}$)GpG(“CleanCap GG”)，具有如下结构：

[0593] 

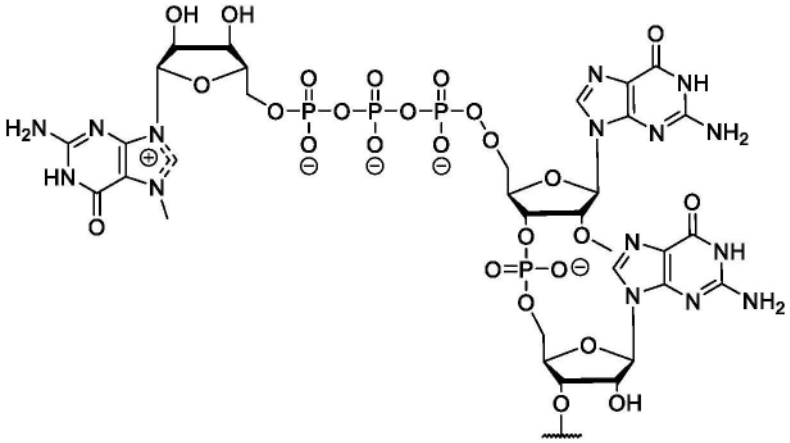
[0594] 或其盐。

[0595] 在一些实施方案中，5’帽是(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)ApG，具有如下结构：

[0596] 

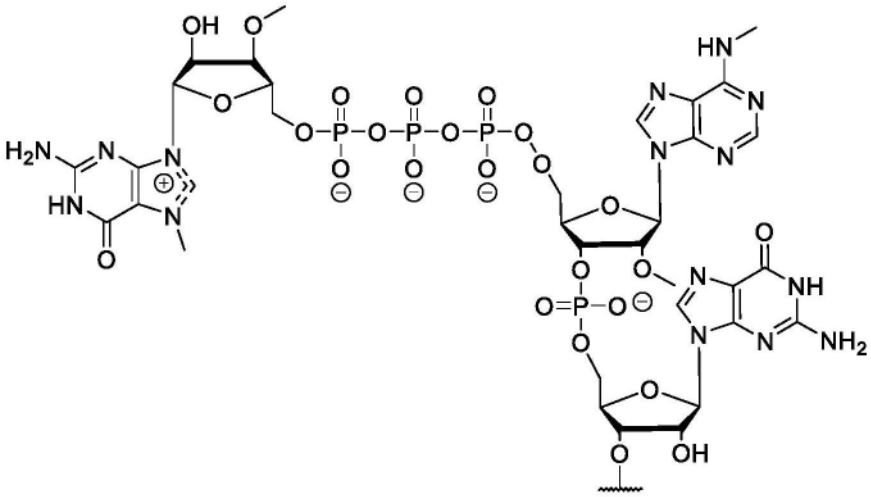
[0597] 或其盐。

[0598] 在一些实施方案中，5’帽是(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)GpG，具有如下结构：

[0599] 

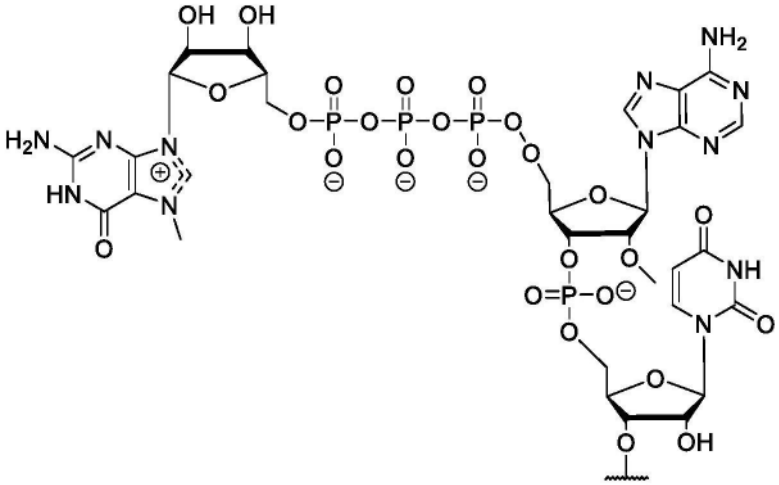
[0600] 或其盐。

[0601] 在一些实施方案中,5'帽是($m_2^{7,3'-O}$)Gppp($m_2^{6,2'-O}$)ApG,具有如下结构:

[0602] 

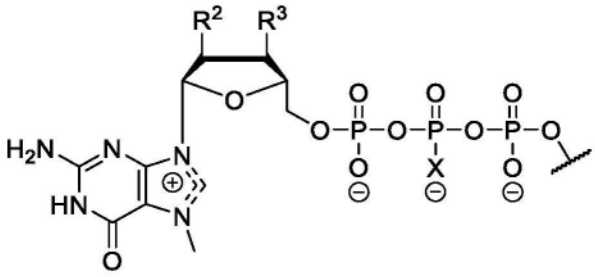
[0603] 或其盐。

[0604] 在一些实施方案中,5'帽是(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)ApU,具有如下结构:

[0605] 

[0606] 或其盐。

[0607] 在一些实施方案中,5'帽是四核苷酸帽结构。在一些实施方案中,5'帽是包含$N_1pN_2pN_3$的四核苷酸帽结构,其中N_1、N_2和N_3如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5'帽是四核苷酸帽G*$N_1pN_2pN_3$,其中N_1、N_2和N_3如上文和本文所定义,并且G*包含式(I)的结构:

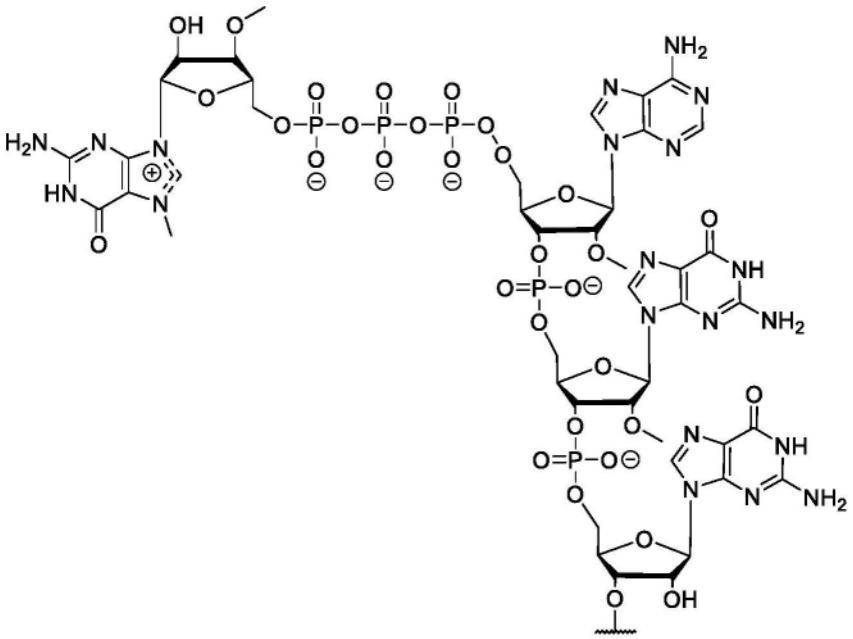
[0608] 

(I)

[0609] 或其盐,其中R^2、R^3和X如本文所定义和描述。

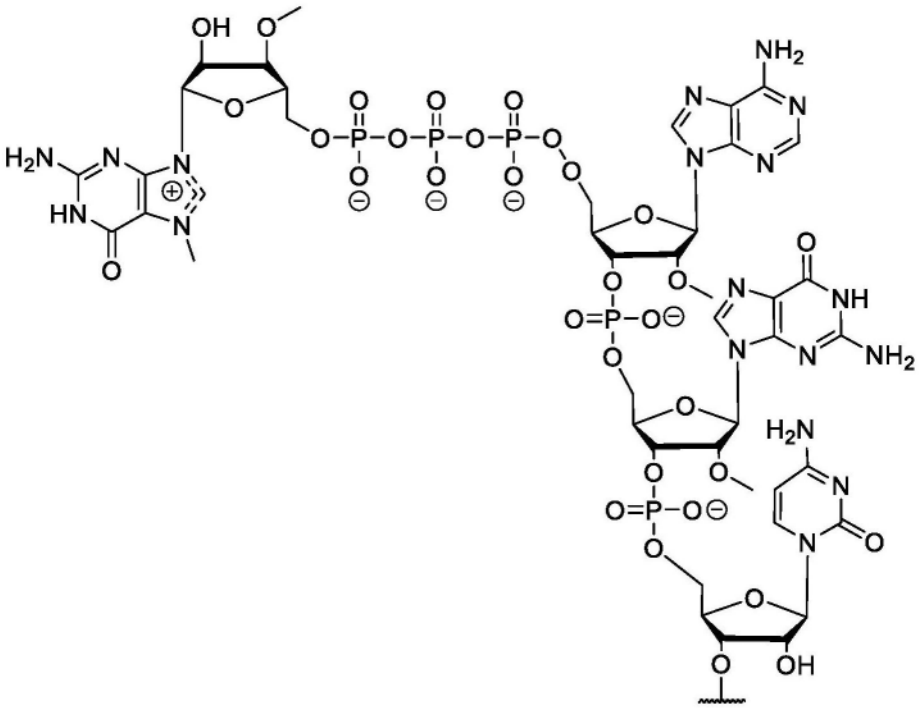
[0610] 在一些实施方案中,5'帽是四核苷酸cap0结构(例如$(m^7)GpppN_1pN_2pN_3$、$(m_2^{7,2'-0})GpppN_1pN_2pN_3$或$(m_2^{7,3'-0})GpppN_1N_2pN_3$),其中$N_1$、$N_2$和$N_3$如本文所定义和描述)。在一些实施方案中,5'帽是四核苷酸Cap1结构(例如,$(m^7)Gppp(m^{2'-0})N_1pN_2pN_3$、$(m_2^{7,2'-0})Gppp(m^{2'-0})N_1pN_2pN_3$、$(m_2^{7,3'-0})Gppp(m^{2'-0})N_1pN_2N_3$),其中$N_1$、$N_2$和$N_3$如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5'帽是四核苷酸Cap2结构(例如,$(m^7)Gppp(m^{2'-0})N_1p(m^{2'-0})N_2pN_3$、$(m_2^{7,2'-0})Gppp(m^{2'-0})N_1p(m^{2'-0})N_2pN_3$、$(m_2^{7,3'-0})Gppp(m^{2'-0})N_1p(m^{2'-0})N_2pN_3$),其中$N_1$、$N_2$和$N_3$如本文所定义和描述。在一些实施方案中,5'帽选自由以下组成的组:$(m_2^{7,3'-0})Gppp(m^{2'-0})Ap(m^{2'-0})GpG$、$(m_2^{7,3'-0})Gppp(m^{2'-0})Gp(m^{2'-0})GpC$、$(m^7)Gppp(m^{2'-0})Ap(m^{2'-0})UpA$和$(m^7)Gppp(m^{2'-0})Ap(m^{2'-0})GpG$。

[0611] 在一些实施方案中,5'帽是$(m_2^{7,3'-0})Gppp(m^{2'-0})Ap(m^{2'-0})GpG$,具有如下结构:

[0612] 

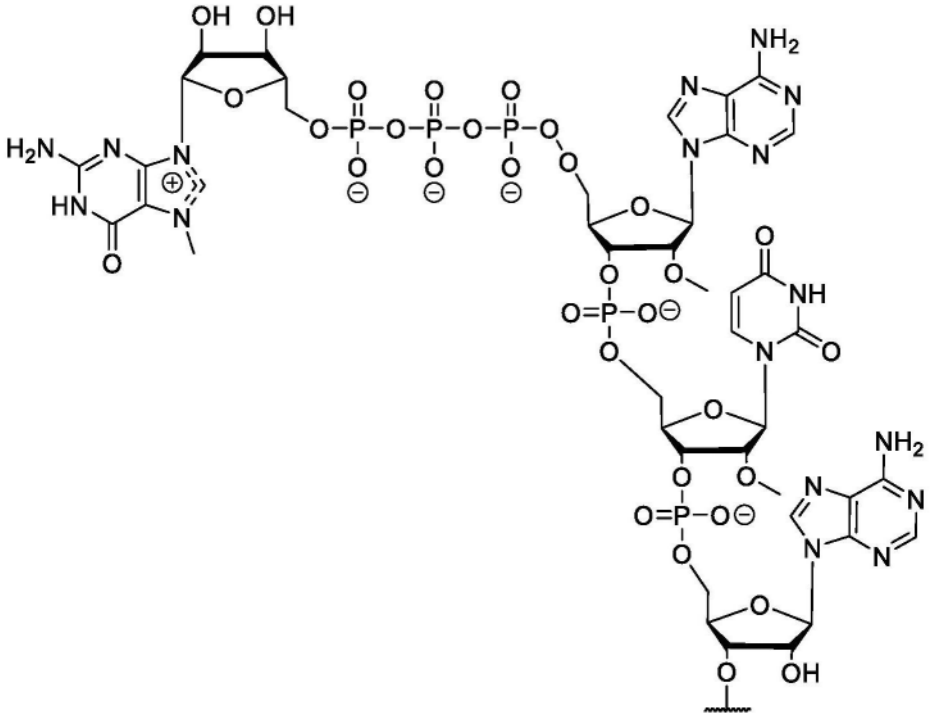
[0613] 或其盐。

[0614] 在一些实施方案中,5'帽是$(m_2^{7,3'-0})Gppp(m^{2'-0})Gp(m^{2'-0})GpC$,具有如下结构:

[0615] 

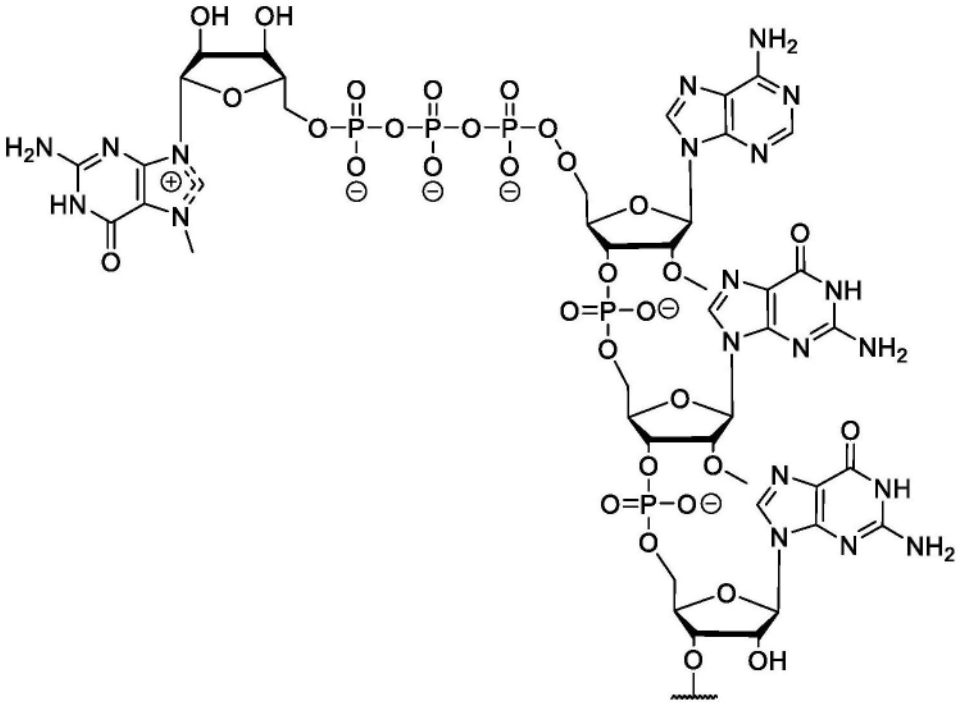
[0616] 或其盐。

[0617] 在一些实施方案中,5'帽是(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)Ap($m^{2'-O}$)UpA,具有如下结构:

[0618] 

[0619] 或其盐。

[0620] 在一些实施方案中,5'帽是(m^7)Gppp($m^{2'-O}$)Ap($m^{2'-O}$)GpG,具有如下结构:

[0621] 

[0622] 或其盐。

[0623] 2.帽近端序列

[0624] 在一些实施方案中,根据本公开利用的5'UTR包含例如本文公开的帽近端序列。在一些实施方案中,帽近端序列包含与5'帽相邻的序列。在一些实施方案中,帽近端序列包含在RNA多核苷酸的位置+1、+2、+3、+4和/或+5的核苷酸。

[0625] 在一些实施方案中,帽结构包含帽近端序列的一个或多个多核苷酸。在一些实施方案中,帽结构包含m^7鸟苷帽以及RNA多核苷酸的核苷酸+1(N_1)。在一些实施方案中,帽结构包含m^7鸟苷帽以及RNA多核苷酸的核苷酸+2(N_2)。在一些实施方案中,帽结构包含m^7鸟苷帽以及RNA多核苷酸的核苷酸+1和+2(N_1和N_2)。在一些实施方案中,帽结构包含m^7鸟苷帽以及RNA多核苷酸的核苷酸+1、+2和+3(N_1、N_2和N_3)。

[0626] 阅读本公开的本领域技术人员将了解,在一些实施方案中,帽近端序列的一个或多个残基(例如,残基+1、+2、+3、+4和/或+5中的一者或多者)可由于已被包括在帽实体(例如,cap1或cap2结构等)中而被包括在RNA中;或者,在一些实施方案中,可以酶促添加帽近端序列中的至少一些残基(例如,通过聚合酶,如T7聚合酶)。例如,在其中利用$m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG帽的某些例示性实施方案中,+1(即,N_1)和+2(即N_2)是帽的($m_1^{2'-O}$)A和G残基,且+3、+4和+5是通过聚合酶(例如,T7聚合酶)添加的。

[0627] 在一些实施方案中,5'帽是二核苷酸帽结构,其中帽近端序列包含5'帽的N_1,其中N_1是任何核苷酸,例如A、C、G或U。在一些实施方案中,5'帽是三核苷酸帽结构(例如,上文和本文所述的三核苷酸帽结构),其中帽近端序列包含5'帽的N_1和N_2,其中N_1和N_2独立地是任何核苷酸,例如A、C、G或U。在一些实施方案中,5'帽是四核苷酸帽结构(例如,上文和本文所述的三核苷酸帽结构),其中帽近端序列包含5'帽的N_1、N_2和N_3,其中N_1、N_2和N_3是任何核苷酸,例如A、C、G或U。

[0628] 在例如其中5'帽是二核苷酸帽结构的一些实施方案中,帽近端序列包含5'帽的N_1,以及N_2、N_3、N_4和N_5,其中N_1至N_5对应于RNA多核苷酸的位置+1、+2、+3、+4和/或+5。在例如

其中5’帽是三核苷酸帽结构的一些实施方案中,帽近端序列包含5’帽的N_1和N_2,以及N_3、N_4和N_5,其中N_1至N_5对应于RNA多核苷酸的位置+1、+2、+3、+4和/或+5。在例如其中5’帽是四核苷酸帽结构的一些实施方案中,帽近端序列包含5’帽的N_1、N_2和N_3,以及N_4和N_5,其中N_1至N_5对应于RNA多核苷酸的位置+1、+2、+3、+4和/或+5。

[0629] 在一些实施方案中,N_1是A。在一些实施方案中,N_1是C。在一些实施方案中,N_1是G。在一些实施方案中,N_1是U。在一些实施方案中,N_2是A。在一些实施方案中,N_2是C。在一些实施方案中,N_2是G。在一些实施方案中,N_2是U。在一些实施方案中,N_3是A。在一些实施方案中,N_3是C。在一些实施方案中,N_3是G。在一些实施方案中,N_3是U。在一些实施方案中,N_4是A。在一些实施方案中,N_4是C。在一些实施方案中,N_4是G。在一些实施方案中,N_4是U。在一些实施方案中,N_5是A。在一些实施方案中,N_5是C。在一些实施方案中,N_5是G。在一些实施方案中,N_5是U。将要理解的是,上文和本文所述的实施方案中的每一者(例如,对于N_1至N_5)可单独或组合采用,和/或可以与上文和本文所述的变量(例如,5’帽)的其它实施方案组合。

[0630] 3.5’UTR

[0631] 在一些实施方案中,根据本公开利用的核酸(例如,DNA、RNA)包含5’-UTR。在一些实施方案中,5’-UTR可包含多个不同的序列元件;在一些实施方案中,这类多个可以是或包含一个或多个特定序列元件的多个拷贝(例如,可以来自特定来源或不然已知为功能性或特征性序列元件)。在一些实施方案中,5’UTR包含多个不同的序列元件。

[0632] 术语“非翻译区”或“UTR”在本领域中通常用于DNA分子中被转录但不被翻译成氨基酸序列的区域,或RNA多核苷酸(如mRNA分子)中的相应区域。非翻译区(UTR)可存在于开放阅读框的5’(上游)(5’-UTR)和/或开放阅读框的3’(下游)(3’-UTR)。如本文所用,术语“五引物非翻译区”或“5’UTR”是指多核糖核苷酸的5’端(例如,转录起始位点)与多核糖核苷酸的编码区的起始密码子之间的多核糖核苷酸的序列。在一些实施方案中,“5’UTR”是指多核糖核苷酸的序列,其在多核糖核苷酸的5’端(例如,转录起始位点)开始,并在多核糖核苷酸的编码区的起始密码子(通常是AUG)之前的一个核苷酸(nt)结束,例如在其天然背景下。在一些实施方案中,5’UTR包含Kozak序列。5’-UTR在5’-帽(如果存在的话)的下游,例如与5’-帽直接相邻。在一些实施方案中,本文公开的5’UTR包含帽近端序列,例如,如本文所定义和描述。在一些实施方案中,帽近端序列包含与5’帽相邻的序列。

[0633] 示例性5’UTR包括人α球蛋白(hAg)5’UTR或其片段、TEV 5’UTR或其片段、HSP70 5’UTR或其片段或c-Jun 5’UTR或其片段。

[0634] 在一些实施方案中,本文公开的RNA包含hAg 5’UTR或其片段。

[0635] 在一些实施方案中,本文公开的RNA包含与具有根据SEQ ID NO:464的序列的5’UTR具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的5’UTR。在一些实施方案中,本文公开的RNA包含具有根据SEQ ID NO:464的序列的5’UTR。

[0636] 4.聚A尾

[0637] 在一些实施方案中,本文公开的多核苷酸(例如,DNA、RNA)包含聚腺苷酸(聚A)序列,例如,如本文所述。在一些实施方案中,聚A序列位于3’-UTR的下游,例如与3’-UTR相邻。

[0638] 如本文所用,术语“聚(A)序列”或“聚-A尾”是指腺苷酸残基的不间断或间断序列,其通常位于RNA多核苷酸的3’端。聚(A)序列是本领域技术人员已知的,并且可以在本文所

述的RNA中的3'-UTR之后。不间断的聚(A)序列的特征在于连续的腺苷酸残基。在自然界中,不间断的聚(A)序列是典型的。在一些实施方案中,本文公开的多核苷酸包含不间断的聚(A)序列。在一些实施方案中,本文公开的多核苷酸包含间断的聚(A)序列。在一些实施方案中,本文公开的RNA可具有在转录后通过模板非依赖性RNA聚合酶连接于RNA的游离3'端的聚(A)序列或由DNA编码并通过模板依赖性RNA聚合酶转录的聚(A)序列。

[0639] 已经证明,约120个A核苷酸的聚(A)序列对转染的真核细胞中的RNA水平以及由存在于聚(A)序列上游(5')的开放阅读框翻译的蛋白质的水平具有有益的影响(Holtkamp等人,2006,Blood,第108卷,第4009-4017页,该文献以引用的方式并入本文)。

[0640] 在一些实施方案中,根据本公开的聚(A)序列不限于特定长度;在一些实施方案中,聚(A)序列具有任意长度。在一些实施方案中,聚(A)序列包含至少20个、至少30个、至少40个、至少80个或至少100个并且最多500个、最多400个、最多300个、最多200个或最多150个A核苷酸,并且特别是约120个A核苷酸,基本上由上述个A核苷酸组成,或者由上述个A核苷酸组成。在本文中,"基本上由.....组成"意指聚(A)序列中的大多数核苷酸,聚(A)序列中以数目计通常至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的核苷酸是A核苷酸,但允许剩余的核苷酸是除A核苷酸以外的核苷酸,如U核苷酸(尿苷酸)、G核苷酸(鸟苷酸)或C核苷酸(胞苷酸)。在本文中,"由.....组成"意指聚(A)序列中的所有核苷酸,即聚(A)序列中以数目计100%的核苷酸是A核苷酸。术语"A核苷酸"或"A"是指腺苷酸。

[0641] 在一些实施方案中,基于在与编码链互补的链中包含重复dT核苷酸(脱氧胸苷酸)的DNA模板,在RNA转录期间,例如在体外转录的RNA的制备期间连接聚(A)序列。编码聚(A)序列(编码链)的DNA序列被称为聚(A)盒。

[0642] 在一些实施方案中,DNA编码链中存在的聚(A)盒基本上由dA核苷酸组成,但被四种核苷酸(dA、dC、dG和dT)的随机序列中断。这种随机序列长度可以是5至50、10至30或10至20个核苷酸。WO 2016/005324A1公开了此类盒,所述文献以引用的方式特此并入。可以根据本公开使用WO 2016/005324 A1中公开的任何poly(A)盒。涵盖基本上由dA核苷酸组成但被具有四种核苷酸(dA、dC、dG、dT)的均等分布并且长度为例如5至50个核苷酸的随机序列中断的poly(A)盒,所述poly(A)盒在DNA层面上显示出质粒DNA在大肠杆菌中的恒定繁殖,并且在RNA层面上仍然引起支持RNA稳定性和翻译效率方面的有益特性。在一些实施方案中,本文所述的RNA多核苷酸中所含的聚(A)序列基本上由A核苷酸组成,但被四种核苷酸(A、C、G、U)的随机序列中断。这种随机序列长度可以是5至50、10至30或10至20个核苷酸。

[0643] 在一些实施方案中,没有除了A核苷酸以外的核苷酸侧接聚(A)序列的3'端,即聚(A)序列在其3'端不被除了A以外的核苷酸掩蔽或跟随。

[0644] 在一些实施方案中,聚(A)序列可包含至少20个、至少30个、至少40个、至少80个或至少100个并且最多500个、最多400个、最多300个、最多200个或最多150个核苷酸。在一些实施方案中,聚(A)序列可基本上由至少20个、至少30个、至少40个、至少80个或至少100个并且最多500个、最多400个、最多300个、最多200个或最多150个核苷酸组成。在一些实施方案中,聚(A)序列可由至少20个、至少30个、至少40个、至少80个或至少100个并且最多500个、最多400个、最多300个、最多200个或最多150个核苷酸组成。在一些实施方案中,聚(A)序列包含至少100个核苷酸。在一些实施方案中,聚(A)序列包含约150个核苷酸。在一些实

施方案中,聚(A)序列包含约120个核苷酸。

[0645] 在一些实施方案中,聚A尾包含特定数目的腺苷,如约50个或更多、约60个或更多、约70个或更多、约80个或更多、约90个或更多、约100个或更多、约120个或约150个或约200个。在一些实施方案中,串构建体的聚A尾可包含200个或更少的A残基。在一些实施方案中,串构建体的聚A尾可包含约200个A残基。在一些实施方案中,串构建体的聚A尾可包含180个或更少的A残基。在一些实施方案中,串构建体的聚A尾可包含约180个A残基。在一些实施方案中,聚A尾可包含150个或更少的残基。

[0646] 在一些实施方案中,RNA包含聚(A)序列,所述聚(A)序列包含SEQ ID NO:466的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:466的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一些实施方案中,聚(A)尾包含被接头中断的多个A残基。在一些实施方案中,接头包含SEQ ID NO:468的核苷酸序列。

[0647] 5.3'UTR

[0648] 在一些实施方案中,根据本公开利用的RNA包含3'-UTR。如本文所用,术语"三引物非翻译区"、"3'非翻译区"或"3'UTR"是指在开放阅读框序列的编码区的终止密码子之后开始的mRNA分子的序列。在一些实施方案中,3'UTR紧接在开放阅读框序列的编码区的终止密码子之后开始,例如在其天然背景下。在其它实施方案中,3'UTR不紧接在开放阅读框序列的编码区的终止密码子之后开始,例如在其天然背景下。术语"3'-UTR"优选不包括聚(A)序列。因此,3'-UTR在聚(A)序列(如果存在的话)的上游,例如与聚(A)序列直接相邻。

[0649] 在一些实施方案中,本文公开的RNA包含3'UTR,所述3'UTR包含F元件和/或I元件。在一些实施方案中,3'UTR或其近端序列包含限制位点。在一些实施方案中,限制位点是BamHI位点。在一些实施方案中,限制位点是XhoI位点。

[0650] 在一些实施方案中,RNA构建体包含F元件。在一些实施方案中,F元件序列是分裂的氨基末端增强子(AES)的3'-UTR。

[0651] 在一些实施方案中,本文公开的RNA包含与具有SEQ ID NO:470的序列的3'UTR具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的3'UTR。在一些实施方案中,本文公开的RNA包含具有SEQ ID NO:470的序列的3'UTR。

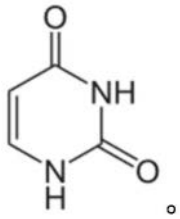
[0652] 在一些实施方案中,3'UTR是如WO2017/060314中所述的FI元件,该文献以全文引用的方式并入本文。

[0653] B.RNA形式

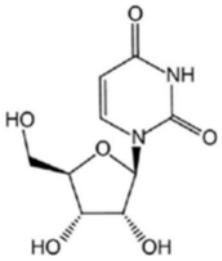
[0654] 已经开发了至少三种可用于RNA组合物(例如,药物组合物)的不同形式,即未修饰的含尿苷的mRNA(uRNA)、核苷修饰的mRNA(modRNA)和自扩增mRNA(saRNA)。这些平台中的每一者均展示出独特的特征。一般来说,在所有三种形式中,RNA都是加帽的,含有侧接非翻译区(UTR)的开放阅读框(ORF),并且在3'端具有聚A尾。uRNA和modRNA载体的ORF编码抗体剂或其部分。saRNA具有多个ORF。

[0655] 在一些实施方案中,本文所述的RNA可具有修饰的核苷。在一些实施方案中,RNA包含代替至少一个(例如,每个)尿苷的修饰的核苷。

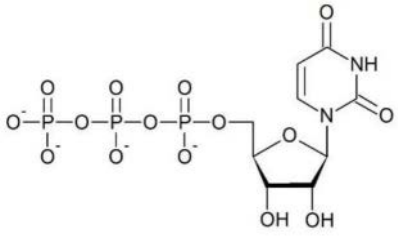
[0656] 如本文所用的术语"尿嘧啶"描述在RNA的核酸中可能出现的核碱基之一。尿嘧啶的结构为:

[0657] 

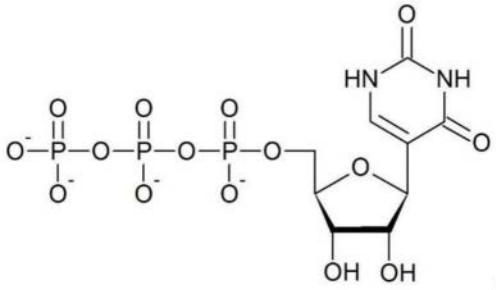
[0658] 如本文所用的术语“尿苷”描述在RNA中可能出现的核苷之一。尿苷的结构为：

[0659] 

[0660] UTP(5’-三磷酸尿苷)具有以下结构：

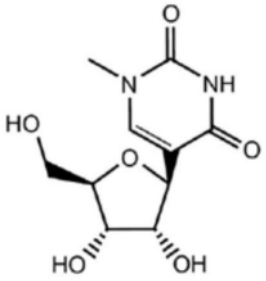
[0661] 

[0662] 假-UTP(5’-三磷酸假尿苷)具有以下结构：

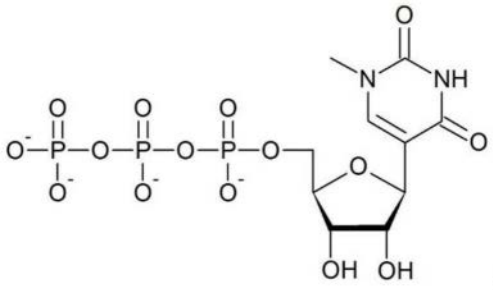
[0663] 

[0664] “假尿苷”是修饰的核苷的一个实例,其是尿苷的异构体,其中尿嘧啶经由碳-碳键而不是氮-碳糖苷键与戊糖环连接。

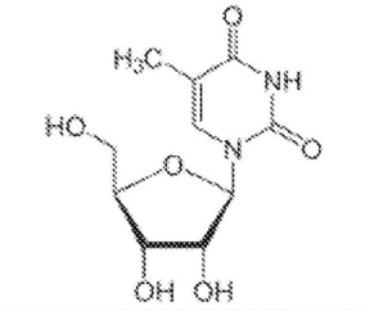
[0665] 另一种示例性的修饰的核苷是N1-甲基-假尿苷(m1Ψ),其具有如下结构：

[0666] 

[0667] N1-甲基-假-UTP具有以下结构：

[0668] 

[0669] 另一种示例性的修饰的核苷是5-甲基-尿苷(m5U),其具有如下结构:

[0670] 

[0671] 在一些实施方案中,本文所述的RNA中的一个或多个尿苷被修饰的核苷置换。在一些实施方案中,修饰的核苷是修饰的尿苷。

[0672] 在一些实施方案中,RNA包含代替至少一个尿苷的修饰的核苷。在一些实施方案中,RNA包含代替每个尿苷的修饰的核苷。

[0673] 在一些实施方案中,修饰的核苷独立地选自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些实施方案中,修饰的核苷包括假尿苷(ψ)。在一些实施方案中,修饰的核苷包括N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在一些实施方案中,修饰的核苷包括5-甲基-尿苷(m5U)。在一些实施方案中,RNA可包含多于一种类型的修饰的核苷,并且修饰的核苷独立地选自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些实施方案中,修饰的核苷包括假尿苷(ψ)和N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在一些实施方案中,修饰的核苷包括假尿苷(ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些实施方案中,修饰的核苷包括N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些实施方案中,修饰的核苷包括假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。

[0674] 在一些实施方案中,置换RNA中的一个或多个(例如,所有)尿苷的修饰的核苷可以是以下任一者或多者:3-甲基-尿苷(m3U)、5-甲氧基-尿苷(mo5U)、5-氮杂-尿苷、6-氮杂-尿苷、2-硫代-5-氮杂-尿苷、2-硫代-尿苷(s2U)、4-硫代-尿苷(s4U)、4-硫代-假尿苷、2-硫代-假尿苷、5-羟基-尿苷(ho5U)、5-氨基烯丙基-尿苷、5-卤基-尿苷(例如,5-碘-尿苷或5-溴-尿苷)、尿苷5-氧乙酸(cmo5U)、尿苷5-氧乙酸甲酯(mcmo5U)、5-羧甲基-尿苷(cm5U)、1-羧甲基-假尿苷、5-羧基羟基甲基-尿苷(chm5U)、5-羧基羟基甲基-尿苷甲酯(mchm5U)、5-甲氧羰基甲基-尿苷(mcm5U)、5-甲氧羰基甲基-2-硫代-尿苷(mcm5s2U)、5-氨基甲基-2-硫代-尿苷(nm5s2U)、5-甲基氨基甲基-尿苷(mnm5U)、1-乙基-假尿苷、5-甲基氨基甲基-2-硫代-尿苷(mnm5s2U)、5-甲基氨基甲基-2-硒代-尿苷(mnm5se2U)、5-氨基甲酰基甲基-尿苷(ncm5U)、5-羧甲基氨基甲基-尿苷(cmnm5U)、5-羧甲基氨基甲基-2-硫代-尿苷(cmnm5s2U)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-尿苷(τm5U)、1-牛磺酸甲基-假尿苷、5-牛磺酸

甲基-2-硫代-尿苷(τm5s2U)、1-牛磺酸甲基-4-硫代-假尿苷)、5-甲基-2-硫代-尿苷(m5s2U)、1-甲基-4-硫代-假尿苷(m1s4ψ)、4-硫代-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷(m3ψ)、2-硫代-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-脱氮-假尿苷、2-硫代-1-甲基-1-脱氮-假尿苷、二氢尿苷(D)、二氢假尿苷、5,6-二氢尿苷、5-甲基-二氢尿苷(m5D)、2-硫代-二氢尿苷、2-硫代-二氢假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫代-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-硫代-假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-氨基-3-羧丙基)尿苷(acp3U)、1-甲基-3-(3-氨基-3-羧丙基)假尿苷(acp3ψ)、5-(异戊烯基氨基甲基)尿苷(inm5U)、5-(异戊烯基氨基甲基)-2-硫代-尿苷(inm5s2U)、α-硫代-尿苷、2′-O-甲基-尿苷(Um)、5,2′-O-二甲基-尿苷(m5Um)、2′-O-甲基-假尿苷(ψm)、2-硫代-2′-O-甲基-尿苷(s2Um)、5-甲氧羰基甲基-2′-O-甲基-尿苷(mcm5Um)、5-氨基甲酰基甲基-2′-O-甲基-尿苷(ncm5Um)、5-羧甲基氨基甲基-2′-O-甲基-尿苷(cmnm5Um)、3,2′-O-二甲基-尿苷(m3Um)、5-(异戊烯基氨基甲基)-2′-O-甲基-尿苷(inm5Um)、1-硫代-尿苷、脱氧胸苷、2′-F-阿糖-尿苷、2′-F-尿苷、2′-OH-阿糖-尿苷、5-(2-羧甲氧基乙烯基)尿苷、5-[3-(1-E-丙烯基氨基)尿苷或本领域中已知的任何其它修饰的尿苷。

[0675] 在一些实施方案中,RNA包含其它修饰的核苷或包含进一步修饰的核苷,例如修饰的胞苷。例如,在一些实施方案中,在RNA中,5-甲基胞苷部分地或完全取代、优选完全取代胞苷。在一些实施方案中,RNA包含5-甲基胞苷和选自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)的一者或多者。在一些实施方案中,RNA包含5-甲基胞苷和N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在一些实施方案中,RNA包含代替每个胞苷的5-甲基胞苷和代替每个尿苷的N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。

[0676] 在本公开的一些实施方案中,RNA是“复制子RNA”或简称“复制子”,特别是“自复制RNA”或“自扩增RNA”。在一个特别优选的实施方案中,复制子或自复制RNA来源于或包含来源于单链(ss)RNA病毒、特别是正链ssRNA病毒(例如甲病毒)的元件。甲病毒是正链RNA病毒的典型代表。甲病毒在被感染的细胞的细胞质中复制(有关甲病毒生命周期的综述,参见José等人,Future Microbiol.,2009,第4卷,第837-856页,该文献以全文引用的方式并入本文)。许多甲病毒的总基因组长度范围通常在11,000与12,000个核苷酸之间,并且基因组RNA通常具有5’-帽和3’聚(A)尾。甲病毒的基因组编码非结构蛋白(参与病毒RNA的转录、修饰和复制以及蛋白质修饰)和结构蛋白(形成病毒颗粒)。基因组中通常有两个开放阅读框(ORF)。四种非结构蛋白(nsP1-nsP4)通常由在基因组的5’末端附近开始的第一ORF一起编码,而甲病毒结构蛋白由第二ORF一起编码,所述第二ORF见于第一ORF的下游并延伸到基因组的3’末端附近。通常,第一个ORF比第二个ORF大,比率为大约2:1。在被甲病毒感染的细胞中,只有编码非结构蛋白的核酸序列是由基因组RNA翻译而来,而编码结构蛋白的遗传信息可由亚基因组转录本翻译,亚基因组转录本是类似真核信使RNA的RNA分子(mRNA;Gould等人,2010,Antiviral Res.,第87卷,第111-124页,该文献以全文引用的方式并入本文)。感染之后,即在病毒生命周期的早期阶段,(+)链基因组RNA直接像信使RNA一样起作用,用于翻译编码非结构多聚蛋白(nsP1234)的开放阅读框。

[0677] 已经提出甲病毒来源的载体用于将外来遗传信息递送至靶标细胞或靶标生物体中。在简单的方法中,第一ORF编码甲病毒来源的RNA依赖性RNA聚合酶(复制酶),所述酶在翻译后介导RNA的自扩增。编码甲病毒结构蛋白的第二ORF被编码本文所述的疟原虫T细胞

串多肽构建体的开放阅读框置换。基于甲病毒的反式复制系统依赖于两种独立核酸分子上的甲病毒核苷酸序列元件:一种核酸分子编码病毒复制酶,并且另一种核酸分子能够通过所述复制酶反式复制(因此名称为反式复制系统)。反式复制需要在给定的宿主细胞中同时存在这两种核酸分子。能够通过复制酶反式复制的核酸分子必须包含某些甲病毒序列元件以允许识别和通过甲病毒复制酶进行RNA合成。

[0678] 未修饰的尿苷平台的特征可包括例如内在佐剂效应以及良好的耐受性和安全性中的一者或多者。修饰的尿苷(例如,假尿苷)平台的特征可包括降低的佐剂效应、钝化的免疫先天免疫传感器激活能力以及因此良好的耐受性和安全性。自扩增平台的特征可包括例如长持续时间的蛋白质表达、良好的耐受性和安全性、以非常低的疫苗剂量获得功效的可能性更高。

[0679] 本公开提供了特定的RNA构建体,所述构建体被优化以例如用于改进可制造性、封装、表达水平(和/或时间安排)等。下文讨论某些组分,并且本文举例说明某些优选的实施方案。

[0680] C.密码子优化和GC富集

[0681] 如本文所用,术语“密码子优化”是指改变核酸分子(例如,多核糖核苷酸)的编码区中的密码子以反映宿主生物体(例如,接受核酸分子(例如,多核糖核苷酸)的受试者)的典型密码子使用,而不优选改变由核酸分子编码的氨基酸序列。在本公开的背景内,在一些实施方案中,编码区被密码子优化,用于在待使用本文所述的RNA分子治疗的受试者中最佳表达。在一些实施方案中,可以进行密码子优化,使得插入频繁出现的tRNA可用的密码子来代替“稀有密码子”。在一些实施方案中,密码子优化可包括与野生型RNA的相应编码序列的鸟苷/胞嘧啶(G/C)含量相比增加本文所述的RNA的编码区的G/C含量,其中与所述氨基酸序列相比,由RNA编码的氨基酸序列优选不被修饰。

[0682] 在一些实施方案中,编码序列(也称为“编码区”)被密码子优化,用于在待施用组合物(例如,药物组合物)的受试者(例如,人)中表达。因此,在一些实施方案中,这种多核苷酸(例如,多核糖核苷酸)中的序列可能与编码相关抗原或其片段或表位的野生型序列不同,即使当所述抗原或其片段或表位的氨基酸序列是野生型时也是如此。

[0683] 在一些实施方案中,密码子优化的策略用于在相关受试者(例如,人)中表达,并且甚至在一些情况下用于在特定的细胞或组织中表达。

[0684] 多种物种对特定氨基酸的某些密码子表现出特定偏好。不希望受任一种理论的束缚,密码子偏好(生物体之间密码子使用的差异)通常与信使RNA(mRNA)的翻译效率相关,而信使RNA(mRNA)的翻译效率又被认为尤其取决于所翻译的密码子的特性和特定转移RNA(tRNA)分子的可用性。细胞中所选tRNA的优势通常可反映肽合成中最频繁使用的密码子。因此,可基于密码子优化来定制基因,以实现在给定生物体中的最佳基因表达。可例如在www.kazusa.orjp/codon/中可获得的“密码子使用数据库”中获得密码子使用表,并且这些表可以多种方式进行调整。还可获得用于对特定序列进行密码子优化以在特定受试者或其细胞中表达的计算机算法,例如Gene Forge(Aptagen;Jacobus,PA)。

[0685] 在一些实施方案中,本公开的多核苷酸(例如,多核糖核苷酸)被密码子优化,其中多核苷酸(例如,多核糖核苷酸)中的密码子针对人密码子使用进行调整(本文中被称为“人密码子优化的多核苷酸”)。编码相同氨基酸的密码子在受试者(例如,人)中以不同的频率

出现。因此,在一些实施方案中,修饰本公开的多核苷酸的编码序列,使得编码相同氨基酸的密码子的频率对应于所述密码子根据人密码子使用天然存在的频率,例如,如表7中所示。例如,在氨基酸Ala的情况下,优选以某种方式调整野生型编码序列,使得密码子“GCC”的使用频率为0.40,密码子“GCT”的使用频率为0.28,密码子“GCA”的使用频率为0.22,并且密码子“GCG”的使用频率为0.10等(参见表7)。因此,在一些实施方案中,将这种程序(如针对Ala举例说明)应用于由多核苷酸的编码序列编码的每种氨基酸,以获得针对人密码子使用进行调整的序列。

[0686] 表7:指示每种氨基酸的频率的人密码子使用表

氨基酸	密码子	频率		氨基酸	密码子	频率
Ala	GCG	0.10		Pro	CCG	0.11
Ala	GCA	0.22		Pro	CCA	0.27
Ala	GCT	0.28		Pro	CCT	0.29
Ala	GCC*	0.40		Pro	CCC*	0.33
Cys	TGT	0.42		Gin	CAG*	0.73
Cys	TGC*	0.58		Gin	CAA	0.27
Asp	GAT	0.44		Arg	AGG	0.22
Asp	GAC*	0.56		Arg	AGA*	0.21
Glu	GAG*	0.59		Arg	CGG	0.19
Glu	GAA	0.41		Arg	CGA	0.10
Phe	TTT	0.43		Arg	CGT	0.09
Phe	TTC*	0.57		Arg	CGC	0.19
Gly	GGG	0.23		Ser	AGT	0.14
Gly	GGA	0.26		Ser	AGC*	0.25
Gly	GGT	0.18		Ser	TCG	0.06
Gly	GGC*	0.33		Ser	TCA	0.15
His	CAT	0.41		Ser	TCT	0.18
His	CAC*	0.59		Ser	TCC	0.23
lle	ATA	0.14		Thr	ACG	0.12
lle	ATT	0.35		Thr	ACA	0.27
lle	ATC*	0.52		Thr	ACT	0.23
Lys	AAG*	0.60		Tor	ACC*	0.38
Lys	AAA	0.40		Val	GTG*	0.48
Leu	TTG	0.12		Val	GTA	0.10
Leu	TTA	0.06		Val	GTT	0.17
Leu	CTG*	0.43		Val	GTC	0.25
Leu	CTA	0.07		Trp	TGG*	1
Leu	CTT	0.12		Tyr	TAT	0 42
Lou	CTC	0.20		Tyr	TAC*	0.58
Met	ATG*	1		终止	TGA*	0 61

[0687]

[0688]

Asn	AAT	0.44		终止	TAG	0.17
Asn	AAC*	0.56		终止	TAA	0.22

[0689] WO2002/098443描述了用于人表达的密码子优化和/或G/C富集的某些策略,该文献以全文引用的方式并入本文。在一些实施方案中,可以使用多参数优化策略来优化编码序列。在一些实施方案中,优化参数可包括影响蛋白质表达的参数,蛋白质表达可以例如在转录水平、mRNA水平和/或翻译水平上受到影响。在一些实施方案中,示例性优化参数包括但不限于转录水平参数(包括例如GC含量、共有剪接位点、隐蔽剪接位点、SD序列、TATA盒、终止信号、人工重组位点以及它们的组合);mRNA水平参数(包括例如RNA不稳定性基序、核糖体进入位点、重复序列以及它们的组合);翻译水平参数(包括例如密码子使用、过早poly(A)位点、核糖体进入位点、二级结构以及它们的组合);或它们的组合。在一些实施方案中,可通过如以下所述的GeneOptimizer算法来优化编码序列:Fath等人"Multiparameter RNAand Codon Optimization:AStandardized Tool to Assess and Enhance Autologous Mammalian Gene Expression"PLoS ONE 6(3):e17596;Rabb等人,"The GeneOptimizer Algorithm:using a sliding window approach to cope with the vast sequence space in multiparameter DNA sequence optimization"Systems and Synthetic Biology(2010)4:215-225;以及Graft等人"Codon-optimized genes that enable increased heterologous expression in mammalian cells and elicit efficient immune responses in mice after vaccination of naked DNA"Methods Mol Med(2004)94:197-210,其中每一者的全部内容出于本文所述的目的并入本文中。在一些实施方案中,可通过如以下所述的Eurofins的改编和优化算法"GENEius"来优化编码序列:Eurofins' Application Notes:Eurofins'adaption and optimization software"GENEius"in comparison to other optimization algorithms,该文献的全部内容出于本文所述的目的以引用的方式并入。

[0690] 在一些实施方案中,与本文所述的疟疾构建体或其一部分的野生型编码序列相比,根据本公开所利用的编码序列具有增加的G/C含量。在一些实施方案中,相对于本文所述的疟疾构建体的野生型编码序列,编码区的鸟苷/胞苷(G/C)含量改变,但由多核糖核苷酸编码的氨基酸序列未改变。

[0691] 不希望受任何特定理论的束缚,有人提出GC富集可改进有效载荷序列的翻译。通常,G(鸟苷)/C(胞苷)含量增加的序列比A(腺苷)/U(尿苷)含量增加的序列更稳定。关于几个密码子编码同一种氨基酸的事实(所谓的遗传密码的简并),可以确定对稳定性最有利的密码子(所谓的替代密码子使用)。根据待由多核糖核苷酸编码的氨基酸,与野生型序列相比,核糖核酸序列的修饰有各种可能性。特别地,含有A和/或U核苷的密码子可以通过用编码相同氨基酸但不含A和/或U或含有较低含量的A和/或U核苷的其它密码子取代这些密码子来进行修饰。

[0692] 在一些实施方案中,本文所述的多核糖核苷酸的编码区的G/C含量与例如野生型RNA的编码区在密码子优化之前的G/C含量相比增加至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%或甚至更多。在一些实施方案中,本文所述的多核糖核苷酸的编码区的G/C含量与例如野生型RNA的密码子优化之前编码区的G/C含量相比减少至少1%、至少2%、至

少3%、至少4%、至少5%、至少6%或甚至更多。

[0693] 在一些实施方案中,要提高多核糖核苷酸的稳定性和翻译效率,可加入一个或多个确定有助于多核糖核苷酸的稳定性和/或翻译效率的元件;以引用的方式并入本文的PCT/EP2006/009448中例如描述了示例性的这类元件。在一些实施方案中,为增加根据本公开使用的多核糖核苷酸的表达,可以在编码区(即,编码表达的肽或蛋白质的序列)内修饰多核糖核苷酸,而不改变表达的肽或蛋白质的序列,例如以便增加GC含量,从而增加mRNA稳定性和/或进行密码子优化并且因此增强细胞中的翻译。

[0694] D.编码疟原虫T细胞串多肽构建体的多核糖核苷酸的实施方案

[0695] 在下文中,描述了编码疟原虫T细胞串多肽构建体的多核糖核苷酸的示例性实施方案,其中在描述其元件时使用的某些术语具有以下含义:

[0696] 帽:5'-帽结构,例如选自由m27,2'OG(5')ppSp(5')G(特别是其D1非对映异构体)、m27,3'OG(5')ppp(5')G和m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG组成的组。

[0697] hAg-Kozak:具有优化的"Kozak序列"以增加翻译效率的人α球蛋白mRNA的5'-UTR序列。

[0698] sec:编码分泌信号的序列。

[0699] 抗原:编码一种或多种疟原虫多肽或其部分的序列(例如,来自CSP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、TRAP、LSAP2、UIS3、IS4、LISP-1、LISP-2、LSA-3、EXP1、LSAP1的一种或多种疟原虫T细胞抗原和/或其多肽区或部分(例如,其一个或多个抗原性片段)),例如来自恶性疟原虫,优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0700] MITD:编码输运信号的序列。

[0701] 接头:编码肽接头的序列。

[0702] FI元件:3'-UTR是来源于"分裂的氨基末端增强子"(AES)mRNA(称为F)和线粒体编码的12S核糖体RNA (称为I)的两个序列元件的组合。这些是通过离体选择过程确认的,以获得赋予RNA稳定性和增加总蛋白质表达的序列。

[0703] A30L70:长度测量为110个核苷酸的聚(A)尾,由一段30个腺苷残基、接着是10个核苷酸的接头序列和另外70个腺苷残基组成,旨在增强树突细胞中的RNA稳定性和翻译效率。

[0704] 在一些实施方案中,编码本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体的多核糖核苷酸具有以下结构之一:

[0705] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0706] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0707] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0708] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0709] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0710] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0711] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-

接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0712] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0713] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0714] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0715] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0716] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0717] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0718] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0719] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0720] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0721] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0722] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0723] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0724] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0725] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0726] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0727] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0728] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0729] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0730] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0731] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;和

[0732] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗

原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70。

[0733] 在一些实施方案中,hAg-Kozak包含SEQ ID NO:473的核苷酸序列。在一些实施方案中,FI包含SEQ ID NO:475的核苷酸序列。在一些实施方案中,A30L70包含SEQ ID NO:478的核苷酸序列。

[0734] 在一些实施方案中,所利用的分泌信号是异源分泌信号。在一些实施方案中,异源分泌信号包括非人分泌信号或由非人分泌信号组成。在一些实施方案中,异源分泌信号包括病毒分泌信号或由病毒分泌信号组成。在一些实施方案中,病毒分泌信号包括HSV分泌信号(例如,HSV-1或HSV-2分泌信号)或由HSV分泌信号(例如,HSV-1或HSV-2分泌信号)组成。在一些实施方案中,HSV分泌信号包括HSV糖蛋白D(gD)分泌信号或由HSV糖蛋白D(gD)分泌信号组成。在一些实施方案中,分泌信号是HSV糖蛋白D(gD)分泌信号,并具有根据SEQ ID NO:382、SEQ ID NO:388的氨基酸序列)。在一些实施方案中,分泌信号包括埃博拉病毒分泌信号或由埃博拉病毒分泌信号组成。在一些实施方案中,埃博拉病毒分泌信号包括埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号或由埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号组成。在一些实施方案中,分泌信号是埃博拉SGP分泌信号,并具有根据SEQ ID NO:400的氨基酸序列。

[0735] 在一些实施方案中,MITD是MHCI类输运信号。在一些实施方案中,MITD包含根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列组成。

[0736] 在一些实施方案中,接头选自如SEQ ID NO:452-460、468和469中所定义的氨基酸序列。在一些实施方案中,接头具有SEQ ID NO:452的氨基酸序列。在一些实施方案中,接头具有氨基酸序列GGGS(SEQ ID NO:459)。在一些实施方案中,接头具有SEQ ID NO:456的氨基酸序列)。在一些实施方案中,接头具有SEQ ID NO:460的氨基酸序列)。

[0737] 在一些实施方案中,编码本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体的序列包含代替(部分或完全,优选完全)尿苷的修饰的核苷,其中所述修饰的核苷选自由假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷组成的组。

[0738] 在一些实施方案中,编码本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体的序列是密码子优化的。

[0739] 在一些实施方案中,与野生型编码序列相比,本文所述的编码疟原虫T细胞串多肽构建体的序列的G/C含量增加。

[0740] 在一些实施方案中,本文所述的RNA(特别是mRNA)包含:

[0741] 包含SEQ ID NO:465的核苷酸序列或与SEQ ID NO:465的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列的5'UTR;

[0742] 包含SEQ ID NO:471的核苷酸序列或与SEQ ID NO:471的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列的3'UTR;和

[0743] 包含SEQ ID NO:467的核苷酸序列的聚-A序列。

[0744] 在一些实施方案中,本文所述的RNA(特别是mRNA)包含:

[0745] 作为在mRNA的5'端的加帽结构的m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG;

[0746] 包含SEQ ID NO:465的核苷酸序列或与SEQ ID NO:465的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列的5'UTR;

[0747] 包含SEQ ID NO:471的核苷酸序列或与SEQ ID NO:471的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列的3'UTR;和

[0748] 包含SEQ ID NO:467的核苷酸序列的聚-A序列。

[0749] 在一些实施方案中,RNA是未修饰的。在一些实施方案中,RNA是修饰的。在一些实施方案中,RNA包含代替至少一个尿苷(例如,代替每个尿苷)的N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。

[0750] 在一些实施方案中,本文所述的RNA(特别是mRNA)包含:

[0751] 作为在mRNA的5'端的加帽结构的m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG;

[0752] 包含SEQ ID NO:465的核苷酸序列或与SEQ ID NO:465的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列的5'UTR;

[0753] 包含SEQ ID NO:471的核苷酸序列或与SEQ ID NO:471的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列的3'UTR;和

[0754] 包含SEQ ID NO:467的核苷酸序列的聚-A序列;和

[0755] 代替至少一个尿苷(例如,代替每个尿苷)的N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。

[0756] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括来自恶性疟原虫的一种或多种疟原虫多肽或其部分。

[0757] 在一些实施方案中,本文所述的RNA(特别是mRNA)(例如,本公开的组合物/制剂中所含的和/或本公开的方法中使用的)可作为含有作为活性物质的疫苗RNA及其它成分的产品存在,所述其它成分包括:ALC-0315((4-羟基丁基)氮烷二基)双(己烷-6,1-二基)双(2-己基癸酸酯)、ALC-0159(2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺)、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)和胆固醇。

[0758] 在一些实施方案中,本文所述的RNA(特别是mRNA)被配制或要被配制成液体、固体或其组合。

[0759] 在一些实施方案中,本文所述的RNA(特别是mRNA)被配制或要被配制成用于注射。

[0760] 在一些实施方案中,本文所述的RNA (特别是mRNA)被配制或要被配制成用于肌内施用。

[0761] 在一些实施方案中,本文所述的RNA(特别是mRNA)被配制或要被配制成组合物,例如药物组合物。

[0762] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质。

[0763] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质和一种或多种另外的脂质。在一些实施方案中,一种或多种另外的脂质选自聚合物缀合脂质、中性脂质及其组合。在一些实施方案中,中性脂质包括磷脂、类固醇脂质及其组合。在一些实施方案中,一种或多种另外的脂质是聚合物缀合脂质、磷脂和类固醇脂质的组合。

[0764] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质;聚合物缀合脂质,其为PEG缀合脂质;胆固醇;和磷脂。在一些实施方案中,磷脂是DSPC。在一些实施方案中,磷脂是DOPE。

[0765] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质;聚合物缀合脂质,其为2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺;胆固醇;和磷脂。在一些实施方案中,磷脂是DSPC。在一些实施方案中,磷脂是DOPE。

[0766] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质,其为((4-羟基丁基)氮烷二基)双(己烷-6,1-二基)双(2-己基癸酸酯);聚合物缀合脂质,其为2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺;胆固醇;和磷脂。在一些实施方案中,磷脂是DSPC。在一些实

施方案中,磷脂是DOPE。在一些实施方案中,颗粒中存在(i)RNA、(ii)阳离子可离子化的脂质和(iii)一种或多种另外的脂质(如果存在的话)的至少一部分。在一些实施方案中,颗粒是纳米颗粒,如脂质纳米颗粒(LNP)。

[0767] 在一些实施方案中,组合物(特别是药物组合物)是疫苗。

[0768] 在一些实施方案中,组合物(特别是药物组合物)进一步包含一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂。

[0769] 在一些实施方案中,RNA和/或组合物(特别是药物组合物)是试剂盒的组成部分。

[0770] 在一些实施方案中,试剂盒进一步包括使用RNA在受试者中诱导针对恶性疟原虫的免疫反应的说明书。

[0771] 在一些实施方案中,试剂盒进一步包括使用RNA在受试者中对恶性疟原虫感染进行治疗性或预防性治疗的说明书。

[0772] 在一些实施方案中,受试者是人。

[0773] 在一些实施方案中,本公开中所述的RNA(特别是mRNA,例如编码疟原虫T细胞串多肽构建体的RNA)是非免疫原性的。可以根据本公开施用编码免疫刺激剂的RNA以提供佐剂效应。编码免疫刺激剂的RNA可以是标准RNA或非免疫原性RNA。

[0774] E.多核糖核苷酸的组合

[0775] 除其它方面外,本公开利用RNA技术作为表达两种或更多种多肽构建体的方式。如本文进一步所描述,在一些实施方案中,多肽构建体可以是疟原虫T细胞串多肽构建体。在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体包括来自一种或多种疟原虫蛋白的一种或多种T细胞抗原或其一个或多个部分(例如,其一个或多个抗原性片段)。

[0776] 在一些实施方案中,两种或更多种多肽构建体包括第一多肽构建体和第二多肽构建体。在一些实施方案中,第一多肽构建体是疟原虫T细胞串多肽构建体。在一些实施方案中,这种疟原虫T细胞串多肽构建体包含来自CSP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、TRAP、LSAP2、UIS3、IS4、LISP-1、LISP-2、LSA-3、EXP1、LSAP1的一种或多种疟原虫T细胞抗原和/或其多肽区或部分(例如,其一个或多个抗原性片段)。在一些实施方案中,疟原虫T细胞串多肽构建体另外包括一个或多个另外的氨基酸序列,如分泌信号(例如,异源分泌信号)、跨膜区(例如,异源跨膜区)、输运信号和/或接头,如本文所述。

[0777] 在一些实施方案中,第二多肽构建体是疟原虫多肽构建体。如本文进一步所描述,在一些实施方案中,疟原虫多肽构建体包括一种或多种疟原虫蛋白或其一个或多个部分(例如,疟原虫多肽的免疫原性片段)。在一些实施方案中,一种或多种疟原虫蛋白或其一个或多个部分(例如,疟原虫多肽的免疫原性片段)包含一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分(例如,疟原虫CSP的免疫原性片段)或由一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分(例如,疟原虫CSP的免疫原性片段)组成。在一些实施方案中,第二多肽构建体包括一个或多个疟原虫多肽区或其部分(例如,疟原虫多肽的免疫原性片段),其中所述一个或多个疟原虫多肽区或其部分不同于来自包括在第一多肽构建体中的一种或多种疟原虫蛋白的一种或多种T细胞抗原或其一个或多个部分(例如,其一个或多个抗原性片段)。虽然所述一个或多个疟原虫多肽区或其部分不同于来自包括在第一多肽构建体中的一种或多种疟原虫蛋白的一种或多种T细胞抗原或其一个或多个部分,使得第二多肽构建体与第一多肽构建体不同,但本公开预期可能存在第一和第二多肽构建体共有的一些疟原虫多肽区或其部分。例如,如

果第一多肽构建体包含疟原虫CSP主要重复序列区部分,则第二多肽构建体除了可以包含其它疟原虫多肽区或其部分外也可以包含疟原虫CSP主要重复序列区部分。在一些实施方案中,第二多肽构建体另外包括一个或多个另外的氨基酸序列,如本文所述的分泌信号(例如,异源分泌信号)、跨膜区(例如,异源跨膜区)、辅助抗原、多聚化区和/或接头。

[0778] 在某些实施方案中,本公开提供包含两种或更多种如本文所述的多肽构建体的组合。例如,在一些实施方案中,组合包含(i)如本文所述包含一种或多种疟原虫T细胞抗原的第一多肽;和(ii)包含一种或多种疟原虫蛋白或其一个或多个部分(例如,疟原虫抗原性多肽区或其部分)的第二多肽。在一些实施方案中,组合包含(i)如本文所述包含一种或多种疟原虫T细胞抗原的第一多肽;和(ii)包含一个或多个疟原虫CSP区或其部分的第二多肽。在一些实施方案中,组合包含(i)包含一种或多种疟原虫T细胞抗原的第一多肽,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含疟原虫N末端区或其部分,但不包含疟原虫C末端区或其部分;和(ii)包含一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分的第二多肽,其中所述一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分包含疟原虫CSP C末端区或其部分,但不包含疟原虫CSP N末端区或其部分。

[0779] 根据上述内容,本公开提供包含两种或更多种各自编码多肽构建体的多核糖核苷酸的组合。例如,在一些实施方案中,如本文提供的组合可包括(i)编码第一多肽的第一多核糖核苷酸,其中所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原,如本文所述;和(ii)编码第二多肽的第二多核糖核苷酸,其中所述第二多肽包含一种或多种疟原虫蛋白或其一个或多个部分(例如,疟原虫抗原性多肽区或其部分)。在一些实施方案中,如本文提供的组合可包括(i)编码第一多肽的第一多核糖核苷酸,其中所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原,如本文所述;和(ii)编码第二多肽的第二多核糖核苷酸,其中所述第二多肽包含一个或多个疟原虫CSP区或其部分。在一些实施方案中,组合包含(i)编码第一多肽的第一多核糖核苷酸,其中所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原,且其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含疟原虫N末端区或其部分,但不包含疟原虫C末端区或其部分;和(ii)编码第二多肽的第二多核糖核苷酸,其中所述第二多肽包含一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分,且其中所述一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分包含疟原虫CSP C末端区或其部分,但不包含疟原虫CSP N末端区或其部分。

[0780] 在一些实施方案中,如本文所述的第一多核糖核苷酸编码本文所述的多肽构建体,其具有以下结构之一:

[0781] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0782] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0783] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0784] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0785] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0786] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0787] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0788] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0789] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0790] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0791] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0792] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0793] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0794] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-FI-A30L70;

[0795] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0796] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0797] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0798] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0799] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0800] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0801] 帽-hAg-Kozak-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0802] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0803] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0804] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0805] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0806] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;

[0807] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70;和

[0808] 帽-hAg-Kozak-sec-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-接头-抗原-MITD-FI-A30L70。

[0809] 在上文中,在描述其元件时使用的某些术语具有以下含义:

[0810] 帽:5'-帽结构,例如选自由m27,2'OG(5')ppSp(5')G(特别是其D1非对映异构体)、m27,3'OG(5')ppp(5')G和m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG组成的组。

[0811] hAg-Kozak:具有优化的"Kozak序列"以增加翻译效率的人α球蛋白mRNA的5'-UTR序列。

[0812] sec:编码分泌信号的序列。

[0813] 抗原:编码一种或多种疟原虫多肽或其部分的序列(例如,来自CSP、LSA-1(a)、LSA-1(b)、TRAP、LSAP2、UIS3、IS4、LISP-1、LISP-2、LSA-3、EXP1、LSAP1的一种或多种疟原虫T细胞抗原和/或其多肽区或部分(例如,其一个或多个抗原性片段)),例如来自恶性疟原虫,优选恶性疟原虫分离株3D7。

[0814] MITD:编码输运信号的序列。

[0815] 接头:编码肽接头的序列。

[0816] FI元件:3'-UTR是来源于"分裂的氨基末端增强子"(AES)mRNA(称为F)和线粒体编码的12S核糖体RNA (称为I)的两个序列元件的组合。这些是通过离体选择过程确认的,以获得赋予RNA稳定性和增加总蛋白质表达的序列。

[0817] A30L70:长度测量为110个核苷酸的聚(A)尾,由一段30个腺苷残基、接着是10个核苷酸的接头序列和另外70个腺苷残基组成,旨在增强树突细胞中的RNA稳定性和翻译效率。在一些实施方案中,hAg-Kozak包含SEQ ID NO:473的核苷酸序列。在一些实施方案中,FI包含SEQ ID NO:475的核苷酸序列。在一些实施方案中,A30L70包含SEQ ID NO:478的核苷酸序列。

[0818] 在一些实施方案中,所利用的分泌信号是异源分泌信号。在一些实施方案中,异源分泌信号包括非人分泌信号或由非人分泌信号组成。在一些实施方案中,异源分泌信号包括病毒分泌信号或由病毒分泌信号组成。在一些实施方案中,病毒分泌信号包括HSV分泌信号(例如,HSV-1或HSV-2分泌信号)或由HSV分泌信号(例如,HSV-1或HSV-2分泌信号)组成。在一些实施方案中,HSV分泌信号包括HSV糖蛋白D(gD)分泌信号或由HSV糖蛋白D(gD)分泌信号组成。在一些实施方案中,分泌信号是HSV糖蛋白D(gD)分泌信号,并具有根据SEQ ID NO:382或SEQ ID NO:388的氨基酸序列。在一些实施方案中,分泌信号包括埃博拉病毒分泌信号或由埃博拉病毒分泌信号组成。在一些实施方案中,埃博拉病毒分泌信号包括埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号或由埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号组成。在一些实施方案中,分泌信号是埃博拉SGP分泌信号,并具有根据SEQ ID NO:400的氨基酸序列。

[0819] 在一些实施方案中,MITD是MHCI类输运信号。在一些实施方案中,MITD包含根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列组成。

[0820] 在一些实施方案中,第一多肽的不同元件(例如,sec、抗原)可通过一个或多个接头连接,例如选自如SEQ ID NO:452-460、468和469中所定义的氨基酸序列的接头。在一些实施方案中,接头具有SEQ ID NO:452的氨基酸序列。在一些实施方案中,接头具有氨基酸序列GGGS(SEQ ID NO:459)。在一些实施方案中,接头具有SEQ ID NO:456的氨基酸序列。在一些实施方案中,接头具有SEQ ID NO:460的氨基酸序列。

[0821] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体包括来自恶性疟原虫的一种或多种疟原虫多肽或其部分。在一些实施方案中,一种或多种疟原虫多肽或其部分是一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原。在一些实施方案中,一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原来自恶性疟原虫分离株3D7。

[0822] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括来自伯氏疟原虫的一种或多种疟原虫多肽或其部分(例如,抗原性伯氏疟原虫CSP多肽片段)。

[0823] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括细菌多肽的抗原性片段。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括抗原性卡介苗(BCG)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性BCG多肽片段包含根据SEQ ID NO:461的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括抗原性破伤风毒素(TT)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性TT多肽片段包含根据SEQ ID NO:462的氨基酸序列。

[0824] 在一些实施方案中,本文所述的疟原虫T细胞串多肽构建体不包括抗原性疟原虫子孢子富苏氨酸-天冬酰胺蛋白(STARP)多肽片段。在一些实施方案中,抗原性疟原虫STARP多肽片段包含根据SEQ ID NO:463的氨基酸序列。

[0825] 在某些实施方案中,本公开提供包含两种或更多种如本文所述的多肽构建体的组合。例如,在一些实施方案中,组合包含(i)第一多肽,所述第一多肽包含抗原性疟原虫CSP多肽片段、抗原性疟原虫TRAP多肽片段、抗原性疟原虫UIS3多肽片段、抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段和抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,和(ii)第二多肽,所述第二多肽包含抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段、抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段、抗原性疟原虫LISP-2多肽片段和抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,第一多肽包含以下或由以下组成:与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一多肽包含与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,第二多肽包含以下或由以下组成:与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二多肽包含与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0826] 根据上述内容,本公开提供包含两种或更多种各自编码多肽构建体的多核糖核苷酸的组合。例如,在一些实施方案中,如本文提供的组合可包括(i)编码第一多肽的第一多核糖核苷酸,其中所述第一多肽包含抗原性疟原虫CSP多肽片段、抗原性疟原虫TRAP多肽片段、抗原性疟原虫UIS3多肽片段、抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段和抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,和(ii)编码第二多肽的第二多核糖核苷酸,其中所述第二多肽包含抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段、抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段、抗原性疟原虫LISP-2多肽片段和抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,第一多肽包含以下或由以下组成:与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一多肽包含与

根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有100％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有100％序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,第二多肽包含以下或由以下组成:与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或100％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二多肽包含与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有100％序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有100％序列同一性的氨基酸序列组成。

[0827] 在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸是未修饰的。在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸是修饰的。在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸包含代替至少一个尿苷(例如,代替每个尿苷)的N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸包含代替(部分或完全,优选完全)尿苷的修饰核苷,其中所述修饰核苷选自由假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷组成的组。

[0828] 在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸是密码子优化的。

[0829] 在一些实施方案中,与野生型编码序列相比,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸的G/C含量增加。

[0830] 在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸包含:

[0831] 包含SEQ ID NO:465的核苷酸序列或与SEQ ID NO:465的核苷酸序列具有至少99％、98％、97％、96％、95％、90％、85％或80％同一性的核苷酸序列的5'UTR;

[0832] 包含SEQ ID NO:471的核苷酸序列或与SEQ ID NO:471的核苷酸序列具有至少99％、98％、97％、96％、95％、90％、85％或80％同一性的核苷酸序列的3'UTR;和

[0833] 包含SEQ ID NO:467的核苷酸序列的聚-A序列。

[0834] 在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸包含:

[0835] 作为在多核糖核苷酸的5'端的加帽结构的m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG;

[0836] 包含SEQ ID NO:465的核苷酸序列或与SEQ ID NO:465的核苷酸序列具有至少99％、98％、97％、96％、95％、90％、85％或80％同一性的核苷酸序列的5'UTR;

[0837] 包含SEQ ID NO:471的核苷酸序列或与SEQ ID NO:471的核苷酸序列具有至少99％、98％、97％、96％、95％、90％、85％或80％同一性的核苷酸序列的3'UTR;和

[0838] 包含SEQ ID NO:467的核苷酸序列的聚-A序列。

[0839] 在一些实施方案中,本文所述的第一和/或第二多核糖核苷酸包含:

[0840] 作为在mRNA的5'端的加帽结构的m27,3'-OGppp(m12'-O)ApG;

[0841] 包含SEQ ID NO:465的核苷酸序列或与SEQ ID NO:465的核苷酸序列具有至少99％、98％、97％、96％、95％、90％、85％或80％同一性的核苷酸序列的5'UTR;

[0842] 包含SEQ ID NO:471的核苷酸序列或与SEQ ID NO:471的核苷酸序列具有至少99％、98％、97％、96％、95％、90％、85％或80％同一性的核苷酸序列的3'UTR;

[0843] 包含SEQ ID NO:467的核苷酸序列的聚-A序列;和

[0844] 代替至少一个尿苷(例如,代替每个尿苷)的N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。

[0845] 在一些实施方案中,可以以如本文所述的药物组合物形式施用上述组合。在一些实施方案中,可以如本文所述以分开的药物组合物形式施用如上所述的组合的两种或更多

种多核糖核苷酸。例如,在一些实施方案中,本文提供的组合包含(i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸编码第一多肽,且所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原;和(ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸编码第二多肽,且所述第二多肽包含一个或多个疟原虫抗原性多肽区或其部分。在一些实施方案中,本文提供的组合包含(i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸编码第一多肽,且所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原;和(ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸编码第二多肽,且所述第二多肽包含一个或多个疟原虫CSP区或其部分。在一些实施方案中,本文提供的组合包含(i)包含编码第一多肽的多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原,且其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含疟原虫N末端区或其部分,但不包含疟原虫C末端区或其部分;和(ii)包含编码第二多肽的多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多肽包含一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分,且其中所述一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分包含疟原虫CSP C末端区或其部分,但不包含疟原虫CSP N末端区或其部分。

[0846] 在一些实施方案中,如本文提供的组合可包括(i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸编码第一多肽,且所述第一多肽包含抗原性疟原虫CSP多肽片段、抗原性疟原虫TRAP多肽片段、抗原性疟原虫UIS3多肽片段、抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段和抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,和(ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸编码第二多肽,且所述第二多肽包含抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段、抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段、抗原性疟原虫LISP-2多肽片段和抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。在一些实施方案中,第一多肽包含以下或由以下组成:与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一多肽包含与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列组成。在一些实施方案中,第二多肽包含以下或由以下组成:与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二多肽包含与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有100%序列同一性的氨基酸序列组成。

[0847] 在一些实施方案中,如本文所述的第一或第二多核糖核苷酸(例如,本公开的组合物/制剂中所含的和/或本公开的方法中使用的)可作为含有作为活性物质的第一或第二多核糖核苷酸及其它成分的产品存在,所述其它成分包括:ALC-0315((4-羟基丁基)氮烷二基)双(己烷-6,1-二基)双(2-己基癸酸酯)、ALC-0159(2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺)、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)和胆固醇。

[0848] 在一些实施方案中,如本文所述的第一或第二多核糖核苷酸被配制或要被配制成液体、固体或其组合。

[0849] 在一些实施方案中,如本文所述的第一或第二多核糖核苷酸被配制或要被配制成用于注射。

[0850] 在一些实施方案中,如本文所述的第一或第二多核糖核苷酸被配制或要被配制成用于肌内施用。

[0851] 在一些实施方案中,如本文所述的第一或第二多核糖核苷酸被配制或要被配制成组合物,例如药物组合物。

[0852] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质。

[0853] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质和一种或多种另外的脂质。在一些实施方案中,一种或多种另外的脂质选自聚合物缀合脂质、中性脂质及其组合。在一些实施方案中,中性脂质包括磷脂、类固醇脂质及其组合。在一些实施方案中,一种或多种另外的脂质是聚合物缀合脂质、磷脂和类固醇脂质的组合。

[0854] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质;聚合物缀合脂质,其为PEG缀合脂质;胆固醇;和磷脂。在一些实施方案中,磷脂是DSPC。在一些实施方案中,磷脂是DOPE。

[0855] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质;聚合物缀合脂质,其为2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺;胆固醇;和磷脂。在一些实施方案中,磷脂是DSPC。在一些实施方案中,磷脂是DOPE。

[0856] 在一些实施方案中,组合物包含阳离子可离子化的脂质,其为((4-羟基丁基)氮烷二基)双(己烷-6,1-二基)双(2-己基癸酸酯);聚合物缀合脂质,其为2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺;胆固醇;和磷脂。在一些实施方案中,磷脂是DSPC。在一些实施方案中,磷脂是DOPE。在一些实施方案中,颗粒中存在(i)如本文所述的第一或第二多核糖核苷酸、(ii)阳离子可离子化的脂质和(iii)一种或多种另外的脂质(如果存在的话)的至少一部分。在一些实施方案中,颗粒是纳米颗粒,如脂质纳米颗粒(LNP)。

[0857] 在一些实施方案中,组合物(特别是药物组合物)是疫苗。

[0858] 在一些实施方案中,组合物(特别是药物组合物)进一步包含一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂。

[0859] IV.RNA递送技术

[0860] 可采用本领域中已知的任何适当方法递送所提供的多核糖核苷酸用于本文所述的治疗应用,包括例如作为裸RNA递送,或由病毒和/或非病毒载体、基于聚合物的载体、脂质组合物、纳米颗粒(例如,脂质纳米颗粒、聚合物纳米颗粒、脂质-聚合物混杂纳米颗粒等)和/或基于肽的载体介导的递送。参见例如Wadhwa等人,“Opportunities and Challenges in the Delivery of mRNA-Based Vaccines”Pharmaceutics(2020)102(27页),其中关于可用于递送本文所述的多核糖核苷酸的各种方法的信息的内容以引用的方式并入本文。

[0861] 在一些实施方案中,一种或多种多核糖核苷酸可以与脂质纳米颗粒一起配制用于递送(例如,施用)。

[0862] 在一些实施方案中,脂质纳米颗粒可被设计成保护多核糖核苷酸免受细胞外RNA酶的影响,和/或被工程化以将RNA全身递送至靶细胞(例如,肝细胞)。在一些实施方案中,当对受试者静脉内或肌内施用多核糖核苷酸时,这类脂质纳米颗粒特别可用于递送多核糖核苷酸。

[0863] A.脂质组合物

[0864] 1.脂质和脂质样物质

[0865] 术语“脂质”和“脂质样物质”在本文中被广义地定义为包含一个或多个疏水部分或基团且任选还包含一个或多个亲水部分或基团的分子。包含疏水部分和亲水部分的分子也常常被称为两亲分子。脂质通常难溶于水。在水性环境中,两亲性质使分子能自组装成有组织的结构和不同的相。这些相中的一个由脂质双层组成,因为它们在水性环境中存在于囊泡、多层/单层脂质体或膜中。可以通过包含极性基团来赋予疏水性,这些极性基团包括但不限于长链饱和及不饱和脂族烃基团,以及被一个或多个芳族、脂环族或杂环基团取代的这类基团。亲水基团可包括极性和/或带电基团,并且包括碳水化合物、磷酸根、羧基、硫酸根、氨基、巯基、硝基、羟基等基团。

[0866] 通常,两亲化合物具有与长的疏水尾部连接的极性头部。在一些实施方案中,极性部分可溶于水,而非极性部分不溶于水。此外,极性部分可具有形式正电荷或形式负电荷。或者,极性部分可同时具有形式正电荷和负电荷,并且是两性离子或内盐。出于本公开的目的,两亲化合物可以是但不限于一种或多种天然或非天然脂质和脂质样化合物。

[0867] “脂质样物质”是在结构和/或功能上与脂质相关、但在严格意义上可能不被认为是脂质的物质。例如,该术语包括能够形成两亲层的化合物,因为它们在水性环境中存在于囊泡、多层/单层脂质体或膜中,并且包括表面活性剂或具有亲水和疏水部分的合成化合物。一般来说,该术语是指包含具有不同结构组织的亲水和疏水部分的分子,所述结构组织可以类似于或不类似于脂质。

[0868] 可包括在两亲层中的两亲化合物的具体实例包括但不限于磷脂、氨基脂质和鞘脂。

[0869] 一般地,脂质可分为八类:脂肪酸、甘油脂质、甘油磷脂、鞘脂、糖脂、聚酮化合物(来源于酮酰基亚单位的缩合)、固醇和异戊烯醇脂质(来源于异戊二烯亚单位的缩合)。虽然术语“脂质”有时被用作脂肪的同义词,但脂肪是脂质的亚组,被称为甘油三酯。脂质还涵盖诸如脂肪酸及其衍生物(包括甘油三酯、甘油二酯、甘油单酯和磷脂)的分子以及含有固醇的代谢物如胆固醇。

[0870] 脂肪酸是由以羧酸基团为末端的烃链构成的一组不同的分子;这种排列赋予分子以极性的亲水端和不溶于水的非极性疏水端。长度通常在四个碳与24个碳之间的碳链可以是饱和的或不饱和的,并且可以与含有氧、卤素、氮和硫的官能团连接。如果脂肪酸含有双键,则存在顺式或反式几何异构的可能性,这会显著影响分子的构型。顺式双键导致脂肪酸链弯曲,链中有更多双键会加剧这种效应。脂肪酸种类中的其它主要脂质类别有脂肪酸酯和脂肪酰胺。

[0871] 甘油脂质由单、二和三取代的甘油组成,最著名的是甘油的脂肪酸三酯,被称为甘油三酯。“三酰基甘油”一词有时与“甘油三酯”同义使用。在这些化合物中,甘油的三个羟基通常被不同的脂肪酸各自酯化。甘油脂质另外的子类以糖基甘油为代表,其特征在于存在经由糖苷键联与甘油连接的一个或多个糖残基。

[0872] 甘油磷脂是两亲性分子(同时含有疏水区和亲水区),其含有通过酯键联与两个脂肪酸来源的“尾部”连接并通过磷酸酯键联与一个“头部”基团连接的甘油核心。通常被称为磷脂(尽管鞘磷脂也被归类为磷脂)的甘油磷脂的实例有磷脂酰胆碱(也被称为PC、GPCho或卵磷脂)、磷脂酰乙醇胺(PE或GPEtn)和磷脂酰丝氨酸(PS或GPSer)。

[0873] 鞘脂是共有共同结构特征(即类鞘氨醇碱基主链)的复杂家族化合物的成员。哺乳

动物中的主要类鞘氨醇碱基通常被称为鞘氨醇。神经酰胺(N-酰基-类鞘氨醇碱基)是具有酰胺连接的脂肪酸的类鞘氨醇碱基衍生物的主要子类。脂肪酸通常是饱和的或单不饱和的,链长度为16至26个碳原子。哺乳动物的主要鞘磷脂是神经鞘磷脂(神经酰胺磷酸胆碱),而昆虫主要含有神经酰胺磷酸乙醇胺,且真菌具有植物神经酰胺磷酸肌醇和含甘露糖的头部基团。鞘糖脂是由经由糖苷键与类鞘氨醇碱基连接的一个或多个糖残基组成的不同的分子家族。这些的实例有简单的和复杂的鞘糖脂,如脑苷脂和神经节苷脂。

[0874] 固醇如胆固醇及其衍生物或生育酚及其衍生物与甘油磷脂和神经鞘磷脂一起是膜脂质的重要组分。

[0875] 糖脂是脂肪酸直接与糖主链连接、从而形成与膜双层相容的结构的化合物。在糖脂中,单糖取代了甘油脂质和甘油磷脂中的甘油主链。最常见的糖脂是革兰氏阴性细菌中的脂多糖的脂质A组分的酰化葡糖胺前体。典型的脂质A分子是葡糖胺的二糖,其衍生有多达七个脂肪酰基链。在大肠杆菌中生长所需的最小脂多糖是Kdo2-脂质A,它是葡糖胺的六酰化二糖,其用两个3-脱氧-D-甘露糖-辛酮糖酸(Kdo)残基进行糖基化。

[0876] 聚酮化合物是通过经典酶以及与脂肪酸合酶共有机理特征的迭代和多模块酶聚合乙酰基和丙酰基亚单位合成的。它们包括来自动物、植物、细菌、真菌和海洋来源的大量次级代谢物和天然产物,并且具有很大的结构多样性。许多聚酮化合物是环状分子,其主链通常通过糖基化、甲基化、羟基化、氧化或其它过程被进一步修饰。

[0877] 脂质和脂质样物质可以是阳离子性、阴离子性或中性的。中性脂质或脂质样物质在选定的pH下以不带电或中性的两性离子形式存在。

[0878] 在一些实施方案中,本公开中适用的脂质或脂质样物质包括WO2020/128031和US20200163878中描述的那些,上述专利文献中的每一者的全部内容出于本文所述的目的以引用的方式并入本文。

[0879] 2.阳离子或阳离子可离子化的脂质或脂质样物质

[0880] 在一些实施方案中,本文考虑使用的阳离子或阳离子可离子化的脂质或脂质样物质包括能够静电结合核酸的任何阳离子或阳离子可离子化的脂质或脂质样物质。在一个实施方案中,本文考虑使用的阳离子或阳离子可离子化的脂质或脂质样物质可以与核酸缔合,例如通过与核酸形成复合物或形成其中封闭或包封核酸的囊泡。

[0881] 阳离子脂质或脂质样物质的特征在于它们具有净正电荷(例如,在相关的pH下)。阳离子脂质或脂质样物质通过静电相互作用结合带负电荷的核酸。一般地,阳离子脂质具有亲脂性部分,如固醇、酰基链、二酰基或更多酰基链,并且脂质的头部基团通常携带正电荷。

[0882] 在某些实施方案中,阳离子脂质或脂质样物质仅在一定的pH、特别是酸性pH下具有净正电荷,而其在不同的、优选更高的pH(如生理pH)下优选没有净正电荷,优选没有电荷,即其在不同的、优选更高的pH如生理pH下是中性的。与在生理pH下保持阳离子性的颗粒相比,这种可离子化的行为被认为通过帮助内体逃逸和降低毒性而增强功效。

[0883] 在一些实施方案中,阳离子或阳离子可离子化的脂质或脂质样物质包含头部基团,该头部基团包括至少一个带正电或能够被质子化的氮原子(N)。

[0884] 阳离子脂质的实例包括但不限于1,2-二油酰基-3-三甲基铵丙烷(DOTAP);N,N-二甲基-2,3-二油酰氧基丙胺(DODMA)、1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基铵丙烷(DOTMA)、3-(N—

(N′,N′-二甲氨基乙烷)-氨基甲酰基)胆固醇(DC-Chol)、二甲基双十八烷基铵(DDAB);1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP);1,2-二酰氧基-3-二甲基铵丙烷;1,2-二烷氧基-3-二甲基铵丙烷;双十八烷基二甲基氯化铵(DODAC)、1,2-二硬脂酰氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷(DSDMA)、2,3-二(十四氧基)丙基-(2-羟乙基)-二甲基氮鎓(DMRIE)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-乙基磷酸胆碱(DMEPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-3-三甲基铵丙烷(DMTAP)、1,2-二油酰氧基丙基-3-二甲基-羟乙基溴化铵(DORIE)和2,3-二油酰氧基-N-[2(精胺甲酰胺)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵三氟乙酸盐(DOSPA)、1,2-二亚油酰氧基-N,N-二甲氨基丙烷(DLinDMA)、1,2-二亚麻烯氧基-N,N-二甲氨基丙烷(DLenDMA)、双十八烷基酰胺基甘酰基精胺(DOGS)、3-二甲氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧代丁烷-4-氧基)-1-(顺式,顺式-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(胆甾-5-烯-3-β-氧基)-3′-氧杂戊氧基)-3-二甲基-1-(顺式,顺式-9′,12′-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDM A)、N,N-二甲基-3,4-二油基氧基苄胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油基氨基甲酰基-3-二甲氨基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亚油酰氧基-N,N-二甲基丙胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亚油基氨基甲酰基-3-二甲氨基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亚油酰氨基甲酰基-3-二甲氨基丙烷(DLinCDAP)、2,2-二亚油基-4-二甲氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-XTC2-DMA)、2,2-二亚油基-4-(2-二甲氨基乙基)-[1,3]-二氧戊环(DLin-KC2-DMA)、三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基-4-(二甲氨基)丁酸酯(DLin-MC3-DMA)、N-(2-羟乙基)-N,N-二甲基-2,3-双(十四烷氧基)-1-丙铵溴化物(DMRIE)、(±)-N-(3-氨丙基)-N,N-二甲基-2,3-双(顺式-9-十四烯氧基)-1-丙铵溴化物(GAP-DMORIE)、(±)-N-(3-氨丙基)-N,N-二甲基-2,3-双(十二烷氧基)-1-丙铵溴化物(GAP-DLRIE)、(±)-N-(3-氨丙基)-N,N-二甲基-2,3-双(十四烷氧基)-1-丙铵溴化物(GAP-DMRIE)、N-(2-氨乙基)-N,N-二甲基-2,3-双(十四烷氧基)-1-丙铵溴化物(βAE-DMRIE)、N-(4-羧苄基)-N,N-二甲基-2,3-双(油酰氧基)丙烷-1-铵(DOBAQ)、2-({8-[(3β)-胆甾-5-烯-3-基氧基]辛基}氧基)-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧基]丙烷-1-胺(Octyl-CLinDMA)、1,2-二肉豆蔻酰基-3-二甲基铵-丙烷(DM DAP)、1,2-二棕榈酰基-3-二甲基铵-丙烷(DPDAP)、N1-[2-((1S)-1-[(3-氨丙基)氨基]-4-[二(3-氨丙基)氨基]丁基甲酰胺基)乙基]-3,4-二[油酰氧基]-苯甲酰胺(MVL5)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-乙基磷酸胆碱(DOE PC)、2,3-双(十二烷氧基)-N-(2-羟乙基)-N,N-二甲基丙-1-铵溴化物(DL RIE)、N-(2-氨乙基)-N,N-二甲基-2,3-双(十四烷氧基)丙-1-铵溴化物(D MORIE)、二((Z)-壬-2-烯-1-基)8,8’-((((2(二甲氨基)乙基)硫代)羰基)氮烷二基)二辛酸酯(ATX)、N,N-二甲基-2,3-双(十二烷氧基)丙-1-胺(DLDMA)、N,N-二甲基-2,3-双(十四烷氧基)丙-1-胺(DMDMA)、二((Z)-壬-2-烯-1-基)-9-((4-(二甲氨基丁酰基)氧基)十七烷二酸酯(L319)、N-十二烷基-3-((2-十二烷基氨基甲酰基-乙基)-{2-[(2-十二烷基氨基甲酰基-乙基)-2-{(2-十二烷基氨基甲酰基-乙基)-[2-(2-十二烷基氨基甲酰基-乙氨基)-乙基]-氨基}-乙氨基)丙酰胺(类脂质98N12-5)、1-[2-[双(2-羟基十二烷基)氨基]乙基-[2-[4-[2-[双(2羟基十二烷基)氨基]乙基]哌嗪-1-基]乙基]氨基]十二烷-2-醇(类脂质C12-200)、LIPOFECTIN®(市售阳离子脂质体,包含DOTMA和1,2-二油酰基-sn-3磷酸乙醇胺(DOP E),来自GIBCO/BRL,Grand Island,N.Y.);LIPOFECTAMINE®(市售阳离子脂质体,包含N-(1-(2,3二油基氧基)丙基)-N-(2-(精胺甲酰胺基)乙基)-N,N-二甲基铵三氟乙酸盐(DOSPA)和(DOPE),来自GIBCO/BRL);和

TRANSFECTAM®(市售阳离子脂质,包含乙醇中的双十八烷基酰胺基甘酰基羧基精胺(DOGS),来自Promega Corp.,Madiso n,Wis.)或任何前述物质的任意组合。本公开中进一步适用的阳离子脂质包括WO2020/128031和US20200163878中描述的那些,上述专利文献中的每一者的全部内容出于本文所述的目的以引用的方式并入本文。本公开中进一步适用的阳离子脂质包括WO2010/053572(包括在第[00225]段描述的Cl 2-200)和WO2012/170930中描述的那些,上述两篇专利文献出于本文所述的目的以引用的方式并入本文。本公开中另外适用的阳离子脂质包括HGT4003、HGT5000、HGTS001、HGT5001、HGT5002(参见US20150140070A1,该专利文献以全文引用的方式并入本文)。

[0885] 在一些实施方案中,可用于如本文所述的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)的制剂可以包含至少一种阳离子脂质。代表性阳离子脂质包括但不限于1,2-二亚油酰氧基-3-(二甲氨基)乙酰氧基丙烷(DLin-DAC)、1,2-二亚油酰氧基-3-吗啉代丙烷(DLin-MA)、1,2-二亚油酰基-3-二甲氨基丙烷(DLinDAP)、1,2-二亚油基硫代-3-二甲氨基丙烷(DLin-S-DMA)、1-亚油酰基-2-亚油酰氧基-3-二甲氨基丙烷(DLin-2-DMAP)、1,2-二亚油酰氧基-3-三甲氨基丙烷氯化物盐(DLin-TMA.CI)、1,2-二亚油酰基-3-三甲氨基丙烷氯化物盐(DLin-TAP.CI)、1,2-二亚油酰氧基-3-(N-甲基哌嗪并)丙烷(DLin-MPZ)、3-(N,N二亚油基氨基)-1,2-丙二醇(DLinAP)、3-(N,N-二油基氨基)-1,2-丙二醇(DOAP)、1,2-二亚油基氧代-3-(2-N,N-二甲氨基)乙氧基丙烷(DLin-EG-DMA)和2,2-二亚油基-4-二甲氨基甲基-[1,3]-二氧戊环(DLin-K-DMA)、2,2-二亚油基-4-(2-二甲氨基乙基)-[1,3]-二氧戊环(DLin-KC2-DMA);二亚油基-甲基-4-二甲氨基丁酸酯(DLin-MC3-DMA);MC3(US20100324120)。

[0886] 在一些实施方案中,根据本公开有用的氨基或阳离子脂质具有至少一个可质子化或可去质子化的基团,使得脂质在等于或低于生理pH(例如pH 7.4)的pH下带正电荷,并且在优选等于或高于生理pH的第二pH下为中性。当然,将要理解的是,根据pH添加或去除质子是平衡过程,并且提到带电或中性脂质是指主要物种的性质,并不要求所有脂质都必须以带电荷或中性形式存在。不排除具有多于一个可质子化或可去质子化基团的脂质或者是两性离子的脂质,并且它们在本发明的背景下同样是合适的。

[0887] 在一些实施方案中,可质子化脂质的可质子化基团的pKa在约4至约11的范围内,例如pKa为约5至约7。

[0888] 在一些实施方案中,在一些实施方案中,阳离子脂质可占根据本公开利用的脂质组合物中存在的总脂质的约10摩尔%至约100摩尔%、约20摩尔%至约100摩尔%、约30摩尔%至约100摩尔%、约40摩尔%至约100摩尔%或约50摩尔%至约100摩尔%。

[0889] 3.另外的脂质或脂质样物质

[0890] 在一些实施方案中,根据本公开利用的制剂可包含除阳离子或阳离子可离子化的脂质或脂质样物质以外的脂质或脂质样物质,即,非阳离子脂质或脂质样物质(包括非阳离子可离子化的脂质或脂质样物质)。阴离子和中性脂质或脂质样物质在本文中统称为非阳离子脂质或脂质样物质。在一些实施方案中,除了可离子化/阳离子脂质或脂质样物质之外,还通过添加其它疏水部分如胆固醇和脂质来优化核酸颗粒的制剂可例如增强颗粒稳定性和核酸递送的功效。

[0891] 在一些实施方案中,可以掺入可能影响或不影响颗粒的总电荷的脂质或脂质样物

质。在某些实施方案中,这种脂质或脂质样物质是非阳离子脂质或脂质样物质。

[0892] 在一些实施方案中,非阳离子脂质可包括例如一种或多种阴离子脂质和/或中性脂质。“阴离子脂质”带负电荷(例如,在选定的pH下)。

[0893] “中性脂质”以不带电或中性两性离子形式存在(例如,在选定的pH下)。在一些实施方案中,制剂包含以下中性脂质组分之一:(1)磷脂,(2)胆固醇或其衍生物;或(3)磷脂和胆固醇或其衍生物的混合物。胆固醇衍生物的实例包括但不限于胆固烷醇、胆固烷酮、胆固烯酮、粪固烷醇、胆固醇基-2’-羟乙基醚、胆固醇基-4’-羟丁基醚、生育酚及其衍生物以及它们的混合物。

[0894] 可以使用的具体示例性磷脂包括但不限于磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸或鞘磷脂。这类磷脂特别包括二酰基磷脂酰胆碱,如二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、双十五酰磷脂酰胆碱、二月桂酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二花生酰磷脂酰胆碱(DAPC)、二山嵛酰磷脂酰胆碱(DBPC)、双二十三酰磷脂酰胆碱(DTPC)、二木脂酰磷脂酰胆碱(DLPC)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(18:0二醚PC)、1-油酰-2-胆固醇半琥珀酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(OChemsPC)、1-十六烷基-s n-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)和磷脂酰乙醇胺,特别是二酰基磷脂酰乙醇胺,如二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺(D MPE)、二月桂酰磷脂酰乙醇胺(DLPE)、二植烷酰磷脂酰乙醇胺(DPy PE)以及具有不同疏水链的更多磷脂酰乙醇胺脂质。

[0895] 在某些实施方案中,根据本公开利用的制剂包括DSPC或DSPC和胆固醇。

[0896] 在某些实施方案中,根据本公开利用的制剂同时包括阳离子脂质和另外的(非阳离子)脂质。

[0897] 在一些实施方案中,本文的制剂包括聚合物缀合脂质,如聚乙二醇化脂质。“聚乙二醇化脂质”包含脂质部分和聚乙二醇部分。聚乙二醇化脂质是本领域中已知的。

[0898] 不希望受理论的束缚,与制剂中其它脂质的量相比,(总)阳离子脂质的量可能会影响重要的特性,如电荷、粒度、稳定性、组织选择性和核酸的生物活性。在一些实施方案中,至少一种阳离子脂质与至少一种另外的脂质的摩尔比为约10:0至约1:9、约4:1至约1:2或约3:1至约1:1。

[0899] 在一些实施方案中,非阳离子脂质,特别是中性脂质(例如,一种或多种磷脂和/或胆固醇)可以占制剂中存在的总脂质的约0摩尔%至约90摩尔%、约0摩尔%至约80摩尔%、约0摩尔%至约70摩尔%、约0摩尔%至约60摩尔%或约0摩尔%至约50摩尔%。

[0900] 4.脂质体复合物颗粒

[0901] 在本公开的某些实施方案中,本文所述的RNA可存在于RNA脂质体复合物颗粒中。

[0902] “RNA脂质体复合物颗粒”含有脂质(特别是阳离子脂质)和RNA。带正电荷的脂质体与带负电荷的RNA之间的静电相互作用导致复合和RNA脂质体复合物颗粒的自发形成。带正电荷的脂质体通常可使用阳离子脂质如DOTMA和另外的脂质如DOPE来合成。在一个实施方案中,RNA脂质体复合物颗粒是纳米颗粒。

[0903] 在某些实施方案中,RNA脂质体复合物颗粒同时包括阳离子脂质和另外的脂质。在示例性实施方案中,阳离子脂质是DOTMA,且另外的脂质是DOPE。

[0904] 在一些实施方案中,至少一种阳离子脂质与至少一种另外的脂质的摩尔比为约10:0至约1:9、约4:1至约1:2或约3:1至约1:1。在具体实施方案中,所述摩尔比可以为约3:1、约2.75:1、约2.5:1、约2.25:1、约2:1、约1.75:1、约1.5:1、约1.25:1或约1:1。在示例性实施方案中,至少一种阳离子脂质与至少一种另外的脂质的摩尔比为约2:1。

[0905] 在一些实施方案中,RNA脂质体复合物颗粒具有的平均直径在一个实施方案中的范围是约200nm至约1000nm、约200nm至约800nm、约250nm至约700nm、约400nm至约600nm、约300nm至约500nm或约350nm至约400nm。在具体实施方案中,RNA脂质体复合物颗粒具有约200nm、约225nm、约250nm、约275nm、约300nm、约325nm、约350nm、约375nm、约400nm、约425nm、约450nm、约475nm、约500nm、约525nm、约550nm、约575nm、约600nm、约625nm、约650nm、约700nm、约725nm、约750nm、约775nm、约800nm、约825nm、约850nm、约875nm、约900nm、约925nm、约950nm、约975nm或约1000nm的平均直径。在一实施方案中,RNA脂质体复合物颗粒的平均直径范围是约250nm至约700nm。在另一实施方案中,RNA脂质体复合物颗粒的平均直径范围是约300nm至约500nm。在一示例性实施方案中,RNA脂质体复合物颗粒的平均直径为约400nm。

[0906] 本文所述的RNA脂质体复合物颗粒和包含RNA脂质体复合物颗粒的组合物可用于在肠胃外施用后、特别是在静脉内施用后将RNA递送至靶组织。可以使用脂质体来制备RNA脂质体复合物颗粒,所述脂质体可通过将脂质在乙醇中的溶液注入水或合适的水相中来获得。在一个实施方案中,水相具有酸性pH。在一个实施方案中,水相包含乙酸,例如其量为约5mM。脂质体可用于通过将脂质体与RNA混合来制备RNA脂质体复合物颗粒。在一个实施方案中,脂质体和RNA脂质体复合物颗粒包含至少一种阳离子脂质和至少一种另外的脂质。在一个实施方案中,至少一种阳离子脂质包括1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基铵丙烷(DOTMA)和/或1,2-二油酰基-3-三甲基铵丙烷(DOTAP)。在一个实施方案中,至少一种另外的脂质包括1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、胆固醇(Chol)和/或1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC)。在一个实施方案中,至少一种阳离子脂质包括1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基铵丙烷(DOTMA),且至少一种另外的脂质包括1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)。在一个实施方案中,脂质体和RNA脂质体复合物颗粒包含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基铵丙烷(DOTMA)和1,2-二-(9Z-十八烯酰基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)。

[0907] 靶向脾的RNA脂质体复合物颗粒描述于WO 2013/143683中,该专利文献以引用的方式并入本文。已经发现具有净负电荷的RNA脂质体复合物颗粒可用于优先靶向脾组织或脾细胞,如抗原呈递细胞,特别是树突细胞。因此,在施用RNA脂质体复合物颗粒之后,脾中出现RNA积累和/或RNA表达。因此,本公开的RNA脂质体复合物颗粒可用于在脾中表达RNA。在一实施方案中,在施用RNA脂质体复合物颗粒后,在肺和/或肝脏中没有或基本上没有出现RNA积累和/或RNA表达。在一个实施方案中,在施用RNA脂质体复合物颗粒后,在抗原呈递细胞(如脾中的专职抗原呈递细胞)中出现RNA积累和/或RNA表达。因此,本公开的RNA脂质体复合物颗粒可用于在这类抗原呈递细胞中表达RNA。在一个实施方案中,抗原呈递细胞是树突细胞和/或巨噬细胞。

[0908] 5.脂质纳米颗粒(LNP)

[0909] 在一些实施方案中,以脂质纳米颗粒(LNP)的形式施用本文所述的核酸,如RNA。在

一些实施方案中,LNP可包含能够形成颗粒的任何脂质,一种或多种核酸分子附着于颗粒上,或者一种或多种核酸分子被包封在颗粒中。

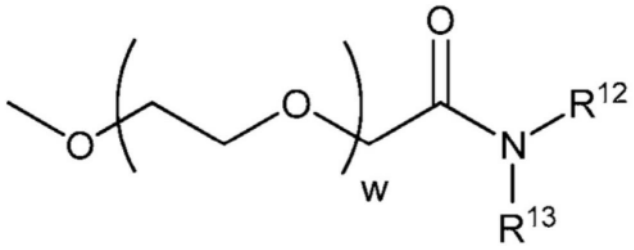
[0910] 在一些实施方案中,LNP包含一种或多种阳离子脂质和一种或多种稳定化脂质。稳定化脂质包括中性脂质和聚乙二醇化脂质。

[0911] 在一些实施方案中,LNP包含阳离子脂质、中性脂质、固醇、聚合物缀合脂质;和RNA,其包封在脂质纳米颗粒内或与脂质纳米颗粒缔合。

[0912] 在一些实施方案中,中性脂质选自由DSPC、DPPC、DMPC、DOPC、POPC、DOPE、DOPG、DPPG、POPE、DPPE、DMPE、DSPE和SM组成的组。在一些实施方案中,中性脂质选自由DSPC、DPPC、DMPC、DOPC、POPC、DOPE和SM组成的组。在一些实施方案中,中性脂质是DSPC。

[0913] 在一些实施方案中,固醇是胆固醇。

[0914] 在一些实施方案中,聚合物缀合脂质是聚乙二醇化脂质。在一些实施方案中,聚乙二醇化脂质具有以下结构:

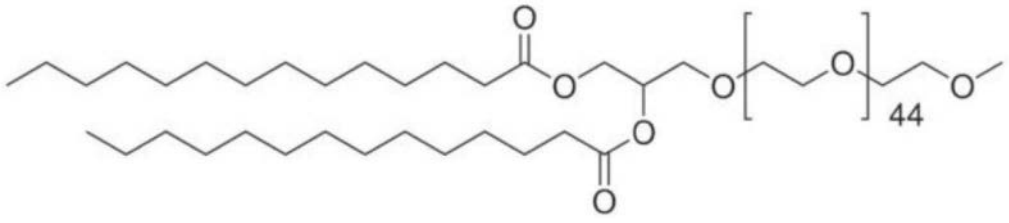
[0915] 

。

[0916] 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体,其中:

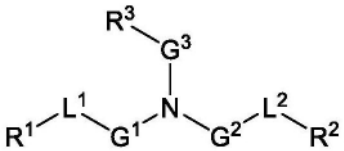
[0917] R^{12}和R^{13}各自独立地为含有10至30个碳原子的直链或支链的饱和或不饱和烷基链,其中所述烷基链任选被一个或多个酯键中断;并且w的平均值范围是30至60。在一些实施方案中,R^{12}和R^{13}各自独立地为含有12至16个碳原子的直链饱和烷基链。在一些实施方案中,w的平均值范围是40至55。在一些实施方案中,平均w为约45。在一些实施方案中,R^{12}和R^{13}各自独立地为含有约14个碳原子的直链饱和烷基链,并且w的平均值为约45。

[0918] 在一些实施方案中,聚乙二醇化脂质是DMG-PEG 2000,例如具有以下结构:

[0919] 

。

[0920] 在一些实施方案中,LNP的阳离子脂质组分具有式(III)的结构:

[0921] 

(III)

[0922] 或其药学上可接受的盐、互变异构体、前药或立体异构体,其中:

[0923] L^1或L^2之一是-O(C=O)-、-(C=O)O-、-C(=O)-、-O-、-S(O)$_x$-、-S-S-、-C(=O)S-、

SC(=O)-、-NR^{a}C(=O)-、-C(=O)NR^a-、NR^{a}C(=O)NR^a-、-OC(=O)NR^a-或-NR^{a}C(=O)O-,且L^{1}或L^{2}中的另一者是-O(C=O)-、-(C=O)O-、-C(=O)-、-O-、-S(O)$_x$-、-S-S-、-C(=O)S-、SC(=O)-、-NR^{a}C(=O)-、-C(=O)NR^a-、NR^{a}C(=O)NR^a-、-OC(=O)NR^a-或-NR^{a}C(=O)O-或直接键;

[0924] G^{1}和G^{2}各自独立地为未取代的C$_1$-C$_{12}$亚烷基或C$_1$-C$_{12}$亚烯基;

[0925] G^{3}是C$_1$-C$_{24}$亚烷基、C$_1$-C$_{24}$亚烯基、C$_3$-C$_8$亚环烷基、C$_3$-C$_8$亚环烯基;

[0926] R^{a}是H或C$_1$-C$_{12}$烷基;

[0927] R^{1}和R^{2}各自独立地为C$_6$-C$_{24}$烷基或C$_6$-C$_{24}$烯基;

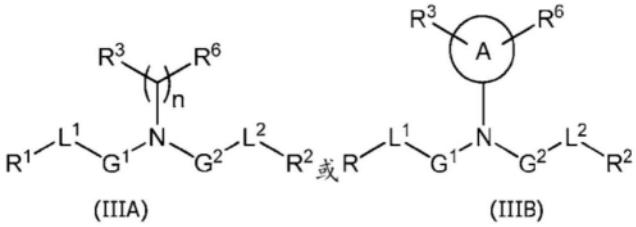
[0928] R^{3}是H、OR^5、CN、-C(=O)OR^4、-OC(=O)R^{4}或-NR^{5}C(=O)R^4;

[0929] R^{4}是C$_1$-C$_{12}$烷基;

[0930] R^{5}是H或C$_1$-C$_6$烷基;且

[0931] x是0、1或2。

[0932] 在式(III)的一些前述实施方案中,脂质具有以下结构(IIIA)或(IIIB)之一:

[0933] 

(IIIA) (IIIB)

[0934] 其中:

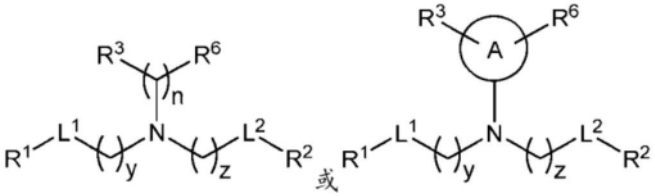
[0935] A是3至8元环烷基或亚环烷基环;

[0936] R^{6}在每次出现时独立地为H、OH或C$_1$-C$_{24}$烷基;

[0937] n是1至15的整数。

[0938] 在式(III)的一些前述实施方案中,脂质具有结构(IIIA),且在其它实施方案中,脂质具有结构(IIIB)。

[0939] 在式(III)的其它实施方案中,脂质具有以下结构(IIIC)或(IIID)之一:

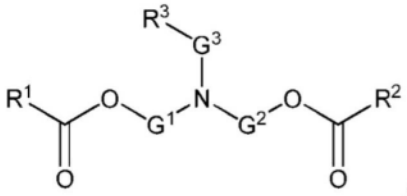
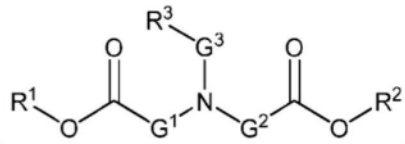
[0940] 

(IIIC) (IIID)

[0941] 其中y和z各自独立地为1至12范围内的整数。

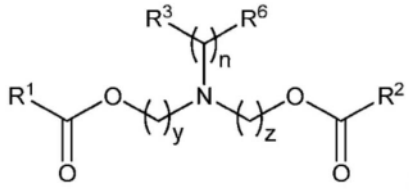
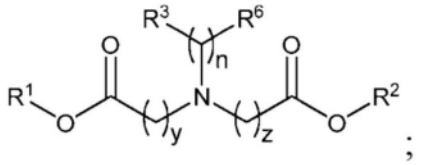
[0942] 在式(III)的任何前述实施方案中,L^{1}或L^{2}之一是-O(C=O)-。例如,在一些实施方案中,L^{1}和L^{2}中的每一者是-O(C=O)-。在任何前述的一些不同实施方案中,L^{1}和L^{2}各自独立地为-(C=O)O-或-O(C=O)-。例如,在一些实施方案中,L^{1}和L^{2}中的每一者是-(C=O)O-。

[0943] 在式(III)的一些不同实施方案中,脂质具有以下结构(IIIE)或(IIIF)之一:

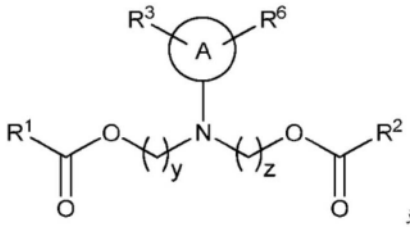
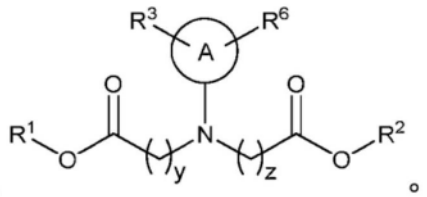
[0944]  或  。

(IIIE) (IIIF)

[0945] 在式(III)的一些前述实施方案中,脂质具有以下结构(IIIG)、(IIIH)、(IIII)或(IIIJ)之一:

 ;  ;

(IIIG) (IIIH)

[0946]  或  。

(IIII) (IIIJ)

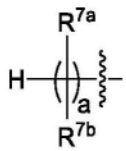
[0947] 在式(III)的一些前述实施方案中,n是2至12范围内的整数,例如2至8或2至4。例如,在一些实施方案中,n是3、4、5或6。在一些实施方案中,n是3。在一些实施方案中,n是4。在一些实施方案中,n是5。在一些实施方案中,n是6。

[0948] 在式(III)的一些其它前述实施方案中,y和z各自独立地为2至10范围内的整数。例如,在一些实施方案中,y和z各自独立地为4至9或4至6范围内的整数。

[0949] 在式(III)的一些前述实施方案中,R^6是H。在其它前述实施方案中,R^6是C_1-C_{24}烷基。在其它实施方案中,R^6是OH。

[0950] 在式(III)的一些实施方案中,G^3是未取代的。在其它实施方案中,G3是取代的。在各种不同的实施方案中,G^3是直链C_1-C_{24}亚烷基或直链C_1-C_{24}亚烯基。

[0951] 在式(III)的一些其它前述实施方案中,R^1或R^2或这两者是C_6-C_{24}烯基。例如,在一些实施方案中,R^1和R^2各自独立地具有以下结构:

[0952]  ,

[0953] 其中:

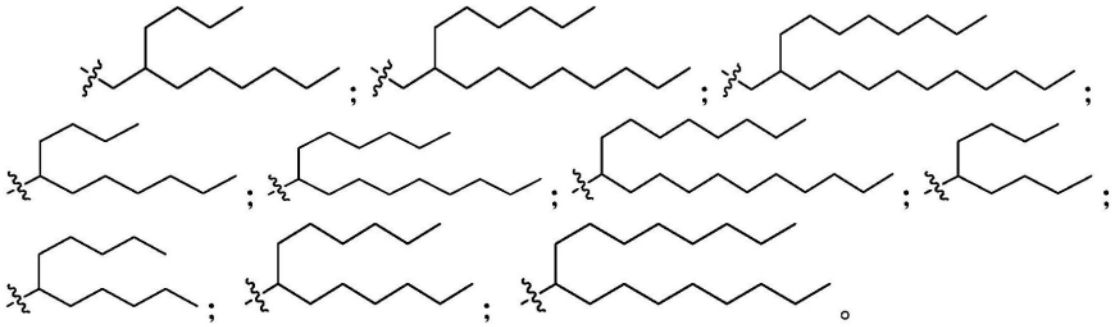
[0954] R^{7a}和R^{7b}在每次出现时独立地为H或C_1-C_{12}烷基;且

[0955] a是2至12的整数,

[0956] 其中R^{7a}、R^{7b}和a被各自选择为使得R^1和R^2各自独立地包含6至20个碳原子。例如,在一些实施方案中,a是5至9或8至12范围内的整数。

[0957] 在式(III)的一些前述实施方案中,R^{7a}在至少一次出现时是H。例如,在一些实施方案中,R^{7a}在每次出现时都是H。在前述的其它不同实施方案中,R^{7b}在至少一次出现时是C_1-C_8烷基。例如,在一些实施方案中,C_1-C_8烷基是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正己基或正辛基。

[0958] 在式(III)的不同实施方案中,R^1或R^2或这两者具有以下结构之一:

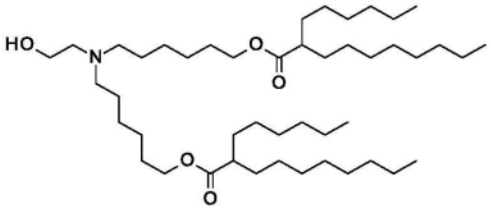
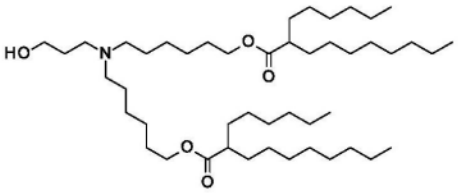
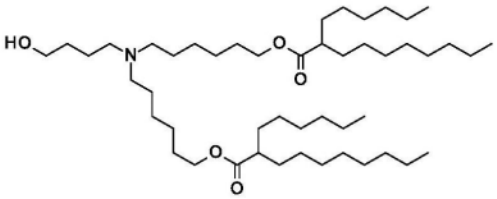
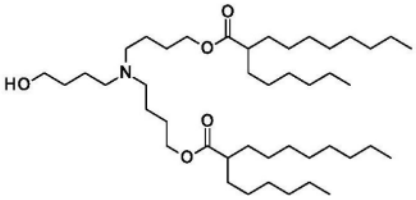
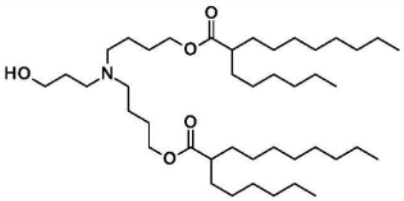
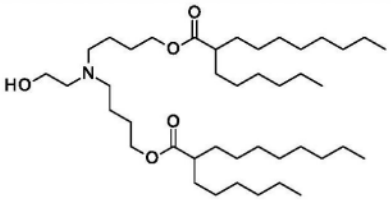
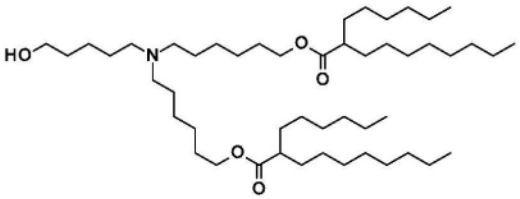
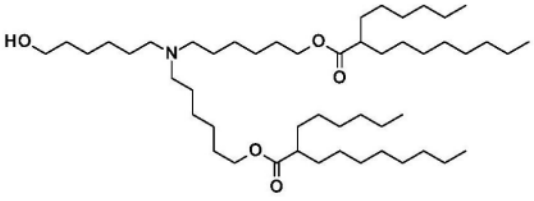
[0959] 

[0960] 在式(III)的一些前述实施方案中,R^3是OH、CN、-C(=O)OR^4、-OC(=O)R^4或-NHC(=O)R^4。在一些实施方案中,R^4是甲基或乙基。

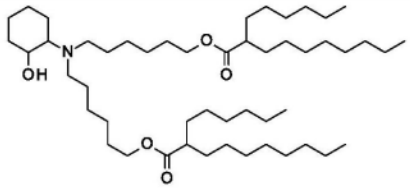
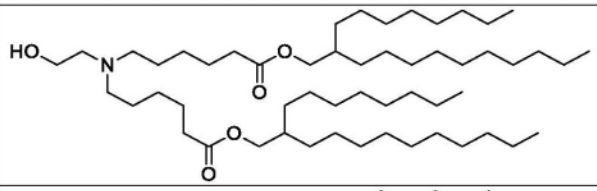
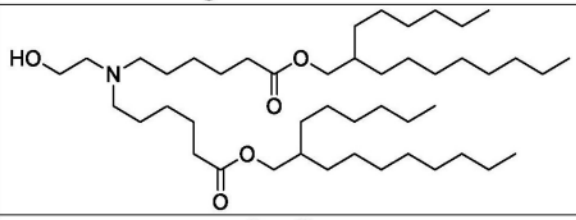
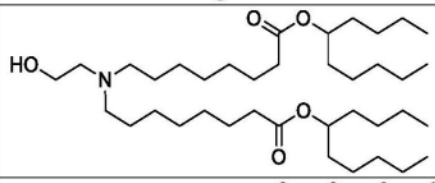
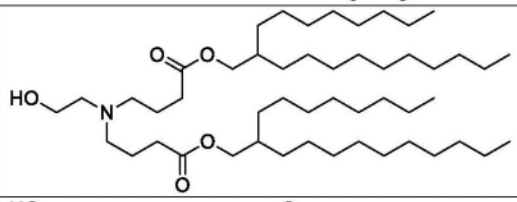
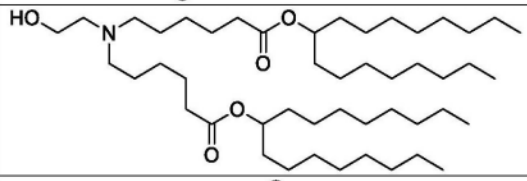
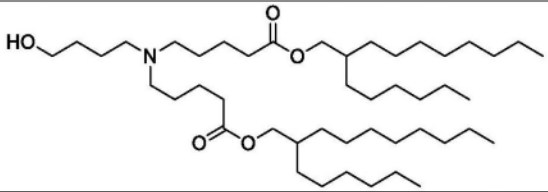
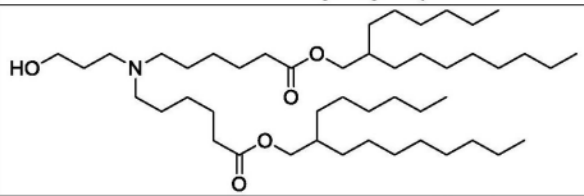
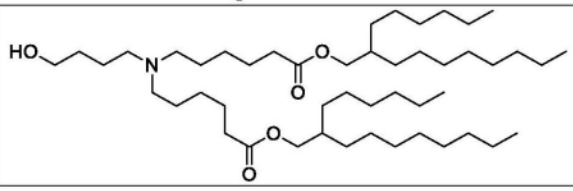
[0961] 在各种不同的实施方案中,式(III)的阳离子脂质具有下表8中所示的结构之一。

[0962] 表8:式(III)的示例性化合物

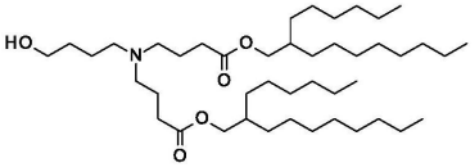
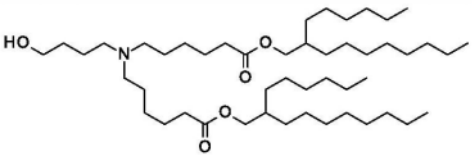
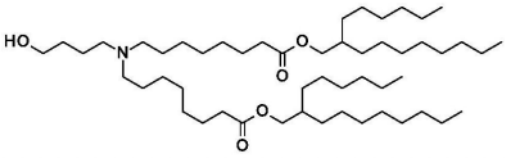
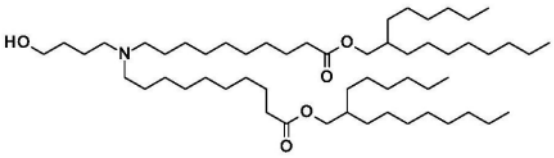
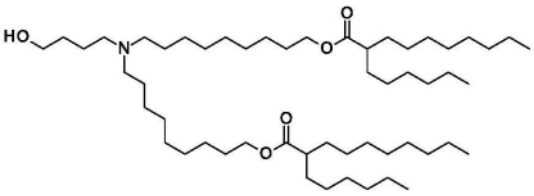
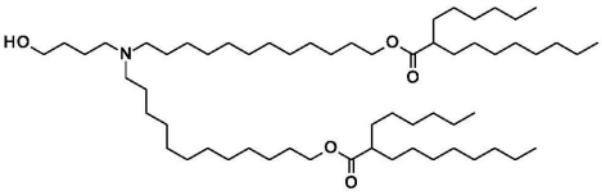
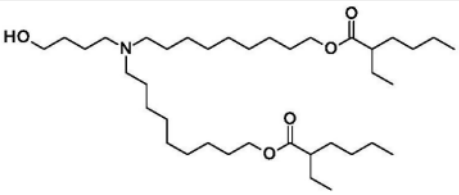
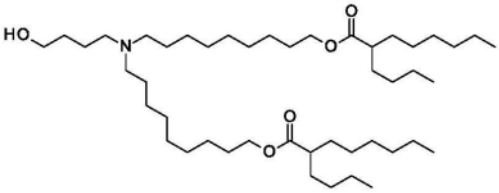
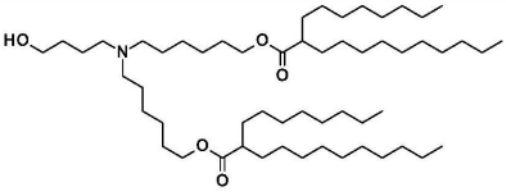
[0963]

编号	结构
III-1	
III-2	
III-3	
III-4	
III-5	
III-6	
III-7	
III-8	

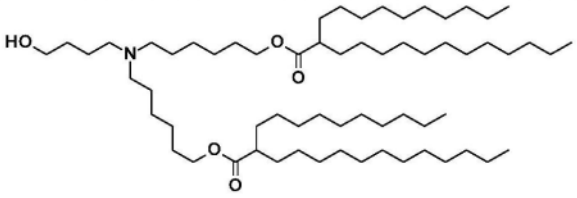
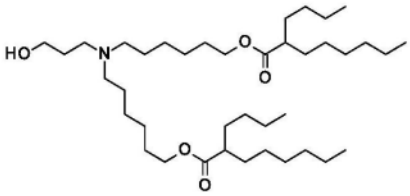
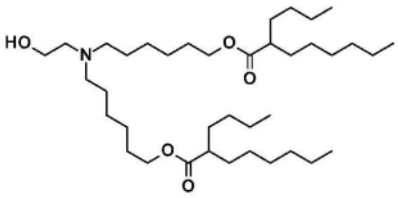
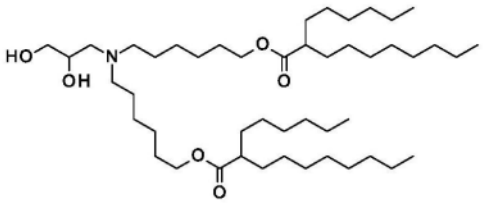
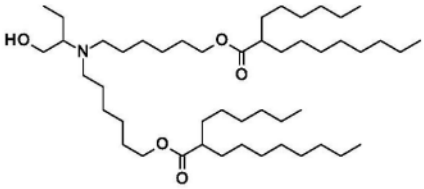
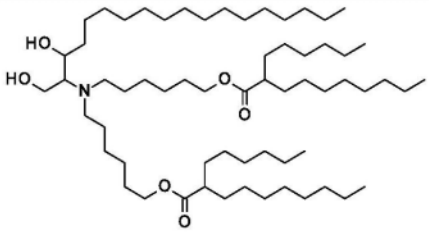
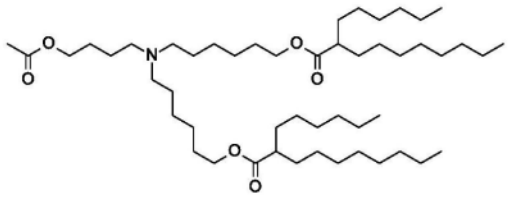
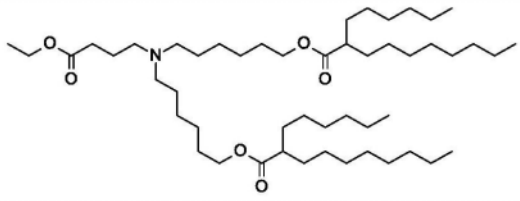
[0964]

编号	结构
III-9	
III-10	
III-11	
III-12	
III-13	
III-14	
III-15	
III-16	
III-17	

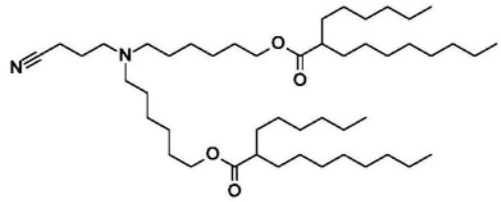
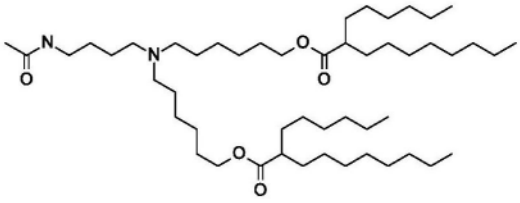
[0965]

编号	结构
III-18	
III-19	
III-20	
III-21	
III-22	
III-23	
III-24	
III-25	
III-26	

[0966]

编号	结构
III-27	
III-28	
III-29	
III-30	
III-31	
III-32	
III-33	
III-34	

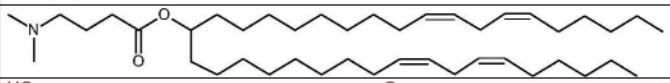
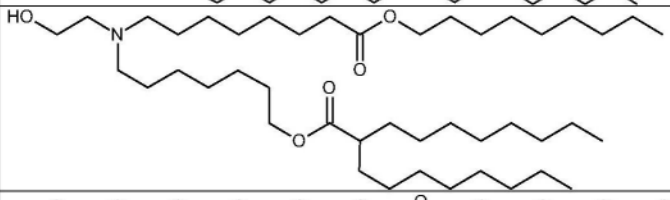
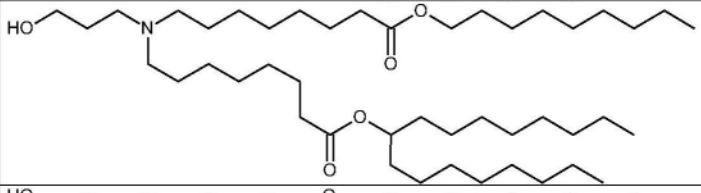
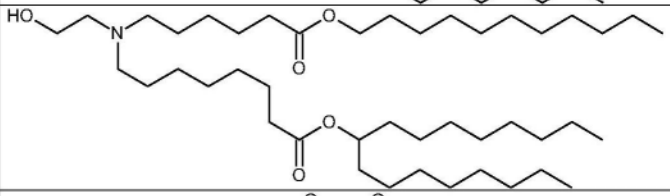
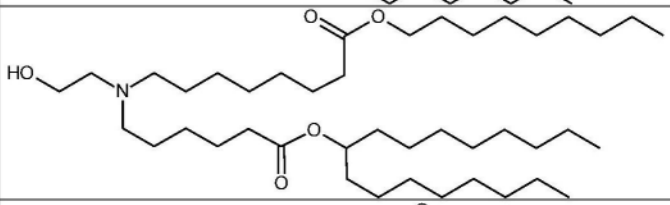
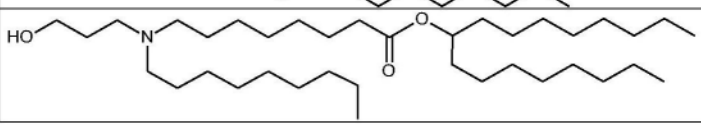
[0967]

编号	结构
III-35	
III-36	

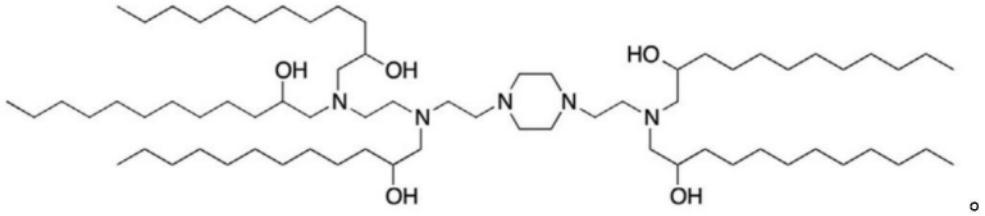
[0968] 在各种不同的实施方案中,阳离子脂质具有下表9中所示的结构之一。

[0969] 表9:示例性阳离子脂质结构

[0970]

编号	结构
A	
B	
C	
D	
E	
F	

[0971] 在一些实施方案中,LNP包含作为可离子化的脂质样物质(类脂质)的阳离子脂质。在一些实施方案中,阳离子脂质具有以下结构:

[0972] 

[0973] 在一些实施方案中,脂质纳米颗粒可具有约30nm至约150nm、约40nm至约150nm、约50nm至约150nm、约60nm至约130nm、约70nm至约110nm、约70nm至约100nm、约70nm至约90nm或约70nm至约80nm的平均尺寸(例如,平均直径)。在一些实施方案中,根据本公开的脂质纳米颗粒可具有约50nm至约100nm的平均尺寸(例如,平均直径)。在一些实施方案中,脂质纳米颗粒可具有约50nm至约150nm的平均尺寸(例如,平均直径)。在一些实施方案中,脂质纳米颗粒可具有约60nm至约120nm的平均尺寸(例如,平均直径)。在一些实施方案中,根据本公开的脂质纳米颗粒可具有约30nm、35nm、40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm或150nm的平均尺寸(例如,平均直径)。术语“平均直径”或“中值直径”是指通过动态激光散射(DLS)测量的颗粒的平均流体动力学直径,数据分析使用所谓的累积量算法,其作为结果提供具有长度尺寸的所谓Z平均值和无量纲的多分散性指数(PI)(Koppel,D.,J.Chem.Phys.57,1972,第4814-4820页,ISO 13321,该文献以引用的方式并入本文)。这里颗粒的“平均直径”、“中值直径”、“直径”或“尺寸”的使用与Z平均值同义。

[0974] 在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米颗粒可表现出小于约0.5、小于约0.4、小于约0.3或约0.2或更小的多分散性指数。举例来说,脂质纳米颗粒可表现出约0.1至约0.3或约0.2至约0.3范围内的多分散性指数。“多分散性指数”优选基于动态光散射测量通过如“平均直径”的定义中提到的所谓累积量分析来计算。在某些先决条件下,其可以被视为核糖核酸纳米颗粒(例如,核糖核酸纳米颗粒)整体的尺寸分布的量度。

[0975] 本文所述的脂质纳米颗粒可通过“N/P比”来表征,其是阳离子聚合物中的阳离子(氮)基团(N/P中的“N”)与RNA中的阴离子(磷酸根)基团(N/P中的“P”)的摩尔比。要理解的是,阳离子基团是阳离子形式(例如,N^+)的基团或可离子化成为阳离子的基团。在N/P比中使用单个数字(例如,N/P比为约5)意指该数字大于1,例如,N/P比为约5旨在表示5:1。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米颗粒具有大于或等于5的N/P比。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米颗粒的N/P比为约5、6、7、8、9或10。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米颗粒的N/P比为约10至约50。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米颗粒的N/P比为约10至约70。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米颗粒的N/P比为约10至约120。

[0976] B.制备脂质纳米颗粒的示例性方法

[0977] 包含核酸的脂质和脂质纳米颗粒以及其制备方法是本领域中已知的,包括例如以下所述:美国专利号8,569,256、5,965,542和美国专利公布号2016/0199485、2016/0009637、2015/0273068、2015/0265708、2015/0203446、2015/0005363、2014/0308304、2014/0200257、2013/086373、2013/0338210、2013/0323269、2013/0245107、2013/0195920、2013/0123338、2013/0022649、2013/0017223、2012/0295832、2012/0183581、2012/0172411、2012/0027803、2012/0058188、2011/0311583、2011/0311582、2011/0262527、2011/0216622、2011/0117125、2011/0091525、2011/0076335、2011/0060032、2010/

0130588、2007/0042031、2006/0240093、2006/0083780、2006/0008910、2005/0175682、2005/017054、2005/0118253、2005/0064595、2004/0142025、2007/0042031、1999/009076以及PCT公布号WO 99/39741、WO 2018/081480、WO 2017/004143、WO 2017/075531、WO 2015/199952、WO 2014/008334、WO 2013/086373、WO 2013/086322、WO 2013/016058、WO 2013/086373、WO2011/141705和WO 2001/07548,其全部公开内容出于本文所述的目的以全文引用的方式并入本文中。

[0978] 例如,在一些实施方案中,阳离子脂质、中性脂质(例如,DSPC和/或胆固醇)和聚合物缀合脂质可以预定的摩尔比(例如,本文所述的摩尔比)溶解于乙醇中。在一些实施方案中,以大约10:1至30:1的总脂质:多核糖核苷酸重量比制备脂质纳米颗粒(脂质纳米颗粒)。在一些实施方案中,这类多核糖核苷酸可以在乙酸盐缓冲液中稀释至0.2mg/mL。

[0979] 在一些实施方案中,使用乙醇注射技术,可如下形成包含多核糖核苷酸的胶体脂质分散液:将包含脂质(例如如阳离子脂质、中性脂质和聚合物缀合脂质)的乙醇溶液注射至包含多核糖核苷酸(例如,本文所述的多核糖核苷酸)的水溶液中。

[0980] 在一些实施方案中,脂质和多核糖核苷酸溶液可以在室温下通过将每种溶液以受控的流动速率泵入混合单元中(例如,使用活塞泵)来进行混合。在一些实施方案中,脂质溶液和RNA溶液进入混合单元中的流动速率维持在1:3的比率下。混合后,随着乙醇脂质溶液被多核糖核苷酸水溶液稀释,形成核酸-脂质颗粒。脂质溶解度降低,而携带正电荷的阳离子脂质与带负电的RNA相互作用。

[0981] 在一些实施方案中,可以通过浓度调节、缓冲液交换、配制和/或过滤中的一者或多者来处理包含RNA封装的脂质纳米颗粒的溶液。

[0982] 在一些实施方案中,可以通过过滤处理RNA包封的脂质纳米颗粒。

[0983] 在一些实施方案中,可以通过适当的技术,举例如小角X射线散射(SAXS)和/或透射电子低温显微镜检查(CryoTEM),来监测脂质纳米颗粒(含有或不含RNA)的粒度和/或内部结构。

[0984] V.药物组合物

[0985] 本公开提供了包含本文所述的一种或多种多核糖核苷酸的组合物,例如药物组合物。药物制剂可另外包含药学上可接受的赋形剂,如本文所用,所述赋形剂包括适合于所需特定剂型的任何和所有的溶剂、分散介质、稀释剂或其它液体媒介物、分散或悬浮助剂、表面活性剂、等渗剂、增稠或乳化剂、防腐剂、固体粘结剂、润滑剂等。R emington's The Science and Practice of Pharmacy,第21版,A.R.Gennaro(Lippincott,Williams& Wilkins,Baltimore,MD,2006;以引用的方式并入本文)公开了用于配制药物组合物的各种赋形剂以及用于其制备的已知技术。除非任何常规的赋形剂介质与物质或其衍生物不相容,例如通过产生任何不合需要的生物学效应或以不利的方式另外与药物组合物的任何其它组分相互作用,否则预期其使用在本公开的范围内。

[0986] 在一些实施方案中,赋形剂被批准用于人和兽医用途。在一些实施方案中,赋形剂被美国食品和药物管理局(United States Food and Drug Administration)批准。在一些实施方案中,赋形剂是药用级的。在一些实施方案中,赋形剂符合美国药典(USP)、欧洲药典(EP)、英国药典和/或国际药典的标准。

[0987] 用于制造药物组合物的药学上可接受的赋形剂包括但不限于惰性稀释剂、分散

和/或造粒剂、表面活性剂和/或乳化剂、崩解剂、粘结剂、防腐剂、缓冲剂、润滑剂和/或油。这类赋形剂可任选包括在药物制剂中。根据配方设计师的判断,组合物中可以存在赋形剂,例如可可脂和栓剂蜡、着色剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和/或芳香剂。

[0988] 有关药剂的配制和/或制造的一般考虑可见于例如Remington:T he Science and Practice of Pharmacy第21版,Lippincott Williams&Wilkins,2005(以引用的方式并入本文中)中。

[0989] 在一些实施方案中,根据常规技术,如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第21版,Lippincott Williams&Wilkins,2005(以引用的方式并入本文)中公开的那些,本文所提供的药物组合物可以与一种或多种药学上可接受的载体或稀释剂以及任何其它已知的佐剂和赋形剂一起配制。

[0990] 本文所述的药物组合物可通过本领域中已知的适当方法施用。熟练技术人员将了解,施用的途径和/或模式可取决于许多因素,包括例如但不限于本文所述的药物组合物的稳定性和/或药代动力学和/或药效动力学。

[0991] 在一些实施方案中,本文所述的药物组合物被配制用于肠胃外施用,这包括除了肠和表面施用以外的施用模式,通常通过注射,并且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、皮内、皮下、表皮下或关节内注射和输注。在优选的实施方案中,本文所述的药物组合物被配制用于静脉内、肌肉内或皮下施用。

[0992] 在一些实施方案中,本文所述的药物组合物被配制用于静脉内施用。在一些实施方案中,可用于静脉内施用的药学上可接受的赋形剂包括无菌水溶液或分散液和用于制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。

[0993] 治疗组合物通常必须在制造和存储条件下是无菌并稳定的。组合物可以被配制为溶液、微乳液、脂质纳米颗粒或适合高药物浓度的其它有序结构。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)以及其合适混合物的溶剂或分散介质。可以例如通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。在许多情况下,将优选在组合物中包括等渗剂,例如糖、多元醇(例如甘露醇、山梨醇)或氯化钠。在一些实施方案中,可以通过在组合物中包括延迟吸收的剂(例如,单硬脂酸盐和明胶)来实现可注射组合物的延长吸收。

[0994] 可如下制备无菌可注射溶液:将所需量的活性化合物与上文列举的成分之一或组合根据需要并入适当的溶剂中,接着进行灭菌和/或微滤。在一些实施方案中,可以如本文所述和/或本领域中已知的方法来制备药物组合物。在一些实施方案中,可以如本文所述和/或本领域中已知的方法来制备药物组合物。在一些实施方案中,药物组合物包括ALC-0315;ALC-0159;DSPC;胆固醇;蔗糖;NaCl;KCl;Na_2HPO_4;KH_2PO_4;注射用水。在一些实施方案中,使用生理盐水(等渗0.9%NaCl)作为稀释剂。

[0995] 这些组合物也可以含有佐剂,如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。可以通过灭菌程序以及通过包括各种抗细菌剂和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸等)来确保防止微生物的存在。也可能期望在本文所述的药物组合物中包括等渗剂,例如糖、氯化钠等。此外,也可以通过包括延迟吸收的剂(例如单硬脂酸铝和明胶)来实现可注射药物形式的延长吸收。

[0996] 可以通过药理学领域中已知或今后开发的任何方法来制备本文所述的药物组合

物的制剂。一般说来,这类制备方法包括以下步骤:使活性成分与稀释剂或另一种赋形剂和/或一种或多种其它辅助成分结合,然后如有必要和/或需要,使产品成型和/或将产品包装成所需的单剂量或多剂量单位。

[0997] 根据本公开的药物组合物可作为单一单位剂量和/或作为多个单一单位剂量进行批量制备、包装和/或销售。如本文所用,“单位剂量”是包含预定量的至少一种使用本文所述的系统和/或方法产生的RNA产品的药物组合物的个别量。

[0998] 脂质纳米颗粒中封装的多核糖核苷酸、药学上可接受的赋形剂和/或药物组合物中的任何另外的成分的相对量可以变化,这取决于待治疗的受试者、靶标细胞、疾病或病症,并且还可以进一步取决于待施用组合物的途径。

[0999] 在一些实施方案中,通过本领域技术人员已知的常规方法将本文所述的药物组合物配制成药学上可接受的剂型。本文所述的药物组合物中的活性组分(例如,封装于脂质纳米颗粒中的多核糖核苷酸)的实际剂量水平可以变化,以便获得对于特定患者、组合物和施用方式有效实现所需治疗反应并且对患者无毒的活性成分的量。所选剂量水平将取决于多种药代动力学因素,包括本公开所采用的特定组合物的活性、施用途径、施用时间、所采用的特定化合物的排泄速率、治疗的持续时间、与所采用的特定组合物组合使用的其它药物、化合物和/或物质、所治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康情况和既往病史以及医学领域中众所周知的类似因素。

[1000] 具有本领域普通技能的医生可以很容易地确定所需药物组合物的有效量并开具处方。例如,医生可以以低于实现所需治疗效果所需的水平开始进行药物组合物中所采用的活性成分(例如,包封在脂质纳米颗粒中的多核糖核苷酸)的给药,并且逐渐增加剂量,直至达到所需效果。

[1001] 在一些实施方案中,配制药物组合物(例如但不限于用于静脉内、肌内或皮下施用)以递送约5mg RNA/kg的剂量。

[1002] 在一些实施方案中,本文所述的药物组合物还可包含一种或多种添加剂,例如在一些实施方案中可增强这种组合物在某些条件下的稳定性的添加剂。添加剂的实例可包括但不限于盐、缓冲物质、防腐剂和载体。例如,在一些实施方案中,药物组合物可还包含冷冻保护剂(例如,蔗糖)和/或缓冲水溶液,其在一些实施方案中可包括一种或多种盐,包括例如碱金属盐或碱土金属盐,举例如钠盐、钾盐和/或钙盐。

[1003] 在一些实施方案中,本文提供的药物组合物是用于静脉内或肌内施用的在水性缓冲液中不含防腐剂的无菌RNA-脂质纳米颗粒分散体。

[1004] 尽管对本文所提供的药物组合物的描述主要针对适合施用于人的药物组合物,但熟练技术人员应理解,这类组合物通常适合施用于所有种类的动物。为了使适合施用于人的药物组合物适合施用于各种动物而进行修改是很好理解的,并且普通熟练的兽医药理学家仅用普通的实验(如果有的话)就可以设计和/或进行这种修改。

[1005] VI.患者群体

[1006] 在一些方面,本公开的技术用于治疗和/或预防目的。在一些实施方案中,本公开的技术用于治疗和/或预防疟疾寄生虫感染。本公开的预防目的包括暴露前预防和/或暴露后预防。在一些这类实施方案中,疟疾寄生虫是例如恶性疟原虫、诺氏疟原虫、卵形疟原虫、猿猴疟原虫、间日疟原虫、三日疟原虫、柯氏卵形疟原虫(Plasmodium ovale curtisi)、沃

氏卵形疟原虫(Plasmodium ovale wallikeri)和/或伯氏疟原虫。

[1007] 在一些实施方案中,本公开的技术用于治疗和/或预防与这种感染有关的病症。与这种感染有关的病症包括例如疟疾感染的典型症状和/或并发症。

[1008] 在一些实施方案中,所提供的组合物(例如,是疟原虫抗原或包含疟原虫抗原)可用于检测和/或表征抗疟疾免疫反应的一种或多种特征(例如,通过检测来自被感染的受试者的血清与所提供的抗原的结合)。

[1009] 在一些实施方案中,所提供的组合物(例如,是疟原虫抗原或包含疟原虫抗原)可用于产生针对其中包括的一个或多个表位的抗体;这类抗体本身可能是有用的,例如用于检测或治疗疟疾寄生虫或由此引起的感染。

[1010] 本公开提供了编码核酸(例如,DNA或RNA)用来产生编码抗原的用途和/或DNA构建体用来产生RNA的用途。

[1011] 在一些实施方案中,在不受限制的受试者群体中利用本公开的技术;在一些实施方案中,在特定的受试者群体中利用本公开的技术。

[1012] 在一些实施方案中,受试者群体包括成人群体。在一些年实施方案中,成人群体包括年龄在约19岁与年龄约60岁之间(例如,年龄约20、25、30、35、40、45、50、55或60岁)的受试者。在一些年实施方案中,成人群体包括年龄在约19岁与年龄约60岁之间(例如,年龄约20、25、30、35、40、45、50、55或60岁)的受试者。在一些年实施方案中,成人群体包括年龄在约18岁与年龄约55岁之间(例如,年龄约20、25、30、35、40、45、50、55或60岁)的受试者。

[1013] 在一些实施方案中,受试者群体包括老年人群体。在一些实施方案中,老年人群体包括年龄约60岁、年龄约70岁或更老(例如,年龄约65、70、75、80、85、90、95或100岁)的受试者。

[1014] 在一些实施方案中,受试者群体包括儿科群体。在一些实施方案中,儿科群体包括约18岁或更小的受试者。在一些这类实施方案中,儿科群体包括年龄在约1岁与约18岁之间(例如,年龄为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18岁)的受试者。

[1015] 在一些实施方案中,受试者群体包括新生儿群体。在一些实施方案中,新生儿群体包括约12个月或更小(例如,12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1个月或更小)的受试者。在一些实施方案中,要利用本文所述的技术治疗的受试者群体包括母亲在怀孕期间未接受本文所述的这类技术的婴儿(例如,约12个月或更小)。在一些实施方案中,要利用本文所述的技术治疗的受试者群体可包括孕妇;在一些实施方案中,母亲在怀孕期间用所公开的技术治疗(例如,接受至少一个剂量,或者仅接受两个剂量)的婴儿在出生后前几周、几个月或甚至几年(例如,1、2、3、4、5、6、7、8周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24个月或更长时间,或1、2、3、4、5年或更长时间)未接种疫苗。作为选择或另外地,在一些实施方案中,母亲在怀孕期间用所公开的技术治疗(例如,接受至少一个剂量,或者仅接受两个剂量)的婴儿在出生后,例如出生后前几周、几个月或甚至几年(例如,1、2、3、4、5、6、7、8周或更长时间,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24个月或更长时间,或1、2、3、4、5年或更长时间),减少接受用所公开的技术治疗(例如,较低剂量和/或较少的施用次数-例如,加强剂-和/或给定时间段内较低的总暴露量),或者可能需要减少的疫苗接种(例如,较低剂量和/或较少的施用次数-例如,加强剂-给定时间段内),在一些实施方案中,对不包括孕妇的受试者群体施用如本文提

供的组合物。

[1016] 在一些实施方案中,受试者群体是或包括年龄为6周直到年龄为17个月的儿童。

[1017] 在一些实施方案中,受试者的体重指数在15kg/m^{2}以上和40kg/m^{2}以下。在一些实施方案中,受试者的体重指数在18.5kg/m^{2}以上和35kg/m以下。在一些实施方案中,受试者的体重指数是在初诊时医疗专业人员确定的。在一些实施方案中,当施用如本文所述的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)的第一剂量时确定受试者的体重指数。

[1018] 在一些实施方案中,受试者体重为至少40kg。在一些实施方案中,受试者体重为至少45kg。在一些实施方案中,受试者的体重是在初诊时医疗专业人员确定的。在一些实施方案中,当施用如本文所述的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)的第一剂量时确定受试者的体重。

[1019] 在一些实施方案中,受试者的体重指数在15kg/m^{2}以上和40kg/m^{2}以下,并且体重为至少40kg。在一些实施方案中,受试者的体重指数在18.5kg/m^{2}以上和35kg/m^{2}以下,并且体重为至少45kg。在一些实施方案中,受试者的体重指数和体重是在初诊时医疗专业人员确定的。在一些实施方案中,当施用如本文所述的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)的第一剂量时确定受试者的体重指数和体重。

[1020] 在一些实施方案中,受试者群体包括感染(例如,疟疾)风险高的群体。在一些这类实施方案中,由于局部流行或全球大流行的原因,某个群体可能被视为具有高感染风险。在一些这类实施方案中,由于受试者群体的地理区域原因,某个群体可能被视为具有高感染风险。在一些实施方案中,受试者群体包括已经暴露于感染(例如,疟疾)的受试者。

[1021] 在受试者群体是孕妇或包括孕妇的一些实施方案中,所提供的技术具有中断疟疾传播周期的特别优点,包括例如在一些实施方案中通过减少或消除从怀孕的母亲向她们的胎儿的传播。

[1022] 在一些实施方案中,受试者群体是免疫功能低下的个体或包括免疫功能低下的个体。在一些实施方案中,受试者群体不包括免疫功能低下的个体。

[1023] 在一些实施方案中,所提供的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)可以与另一种药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)或治疗干预组合施用(即,使得受试者同时暴露于两者),例如以治疗或预防疟疾或另一种疾病、病症或病状。

[1024] 在一些实施方案中,所提供的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)可以与蛋白质疫苗、DNA疫苗、RNA疫苗、细胞疫苗、缀合物疫苗等一起施用。在一些实施方案中,所提供的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)的一个或多个剂量可以与另一种疫苗或其它疗法共同施用(例如,在单次就诊中)。

[1025] 在一些实施方案中,可以对已经暴露于或预期已经暴露于疟疾的受试者施用所提供的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)。在一些实施方案中,可以对没有疟疾感染的症状的受试者施用所提供的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)。

[1026] VII.治疗方法

[1027] 在一些实施方案中,可以根据特定的给药方案对受试者实施本公开的技术。在一些实施方案中,给药方案可涉及单次施用;在一些实施方案中,给药方案可包括初次施用后的一次或多次“加强”施用。在一些实施方案中,初始剂量和加强剂量是相同的量;在一些实施方案中,它们不同。在一些实施方案中,施用两个或更多个加强剂量。在一些实施方案中,

以规则的间隔施用多个剂量。在一些实施方案中,剂量之间的时间段变得更长。在一些实施方案中,如果甚至出现或检测到特定的临床状况(例如,中和抗体水平降低)或情况(例如,新毒株的局部出现),则施用一个或多个后续剂量。

[1028] 在一些实施方案中,所施用的包含编码疟原虫T细胞串多肽构建体的RNA构建体的药物组合物(例如,免疫原性组合物,例如疫苗)以约0.1μg至约300μg、约0.5μg至约200μg或约1μg至约100μg(如约1μg、约3μg、约10μg、约30μg、约50μg或约100μg)的RNA剂量施用。在一些实施方案中,saRNA构建体以比modRNA或uRNA构建体更低的剂量(例如,1/2、1/4、1/5、1/10或更低)施用。

[1029] 在一些实施方案中,在初始剂量的约六个月内并且优选在约5、4、3、2或1个月内施用第一次加强剂量。在一些实施方案中,在第一次剂量后约1、2、3或4周开始并在第一次剂量的约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12周结束的时间段(例如,在第一次剂量后约1周与约12周之间,或在第一次剂量后约2或3周与约5和6周之间,或在第一次剂量后约3周或约4周)施用第一次加强剂量。

[1030] 在一些实施方案中,在第一次剂量的6个月内或第一次剂量的12个月内施用多次加强剂量(例如,2、3或4次)。

[1031] 在一些实施方案中,第一剂量和第二剂量的施用间隔约6周、约7周、约8周、约9周或约10周。换句话说,在一些实施方案中,在第一剂量后约6、约7、约8、约9或约10周施用第二剂量。

[1032] 在一些实施方案中,在第二剂量后约15、约16、约17、约18、约19或约20周施用第三剂量。

[1033] 在一些实施方案中,在第一剂量后约8周施用第二剂量,并且在第二剂量后约18周施用第三剂量。

[1034] 在一些实施方案中,需要3个剂量或更少的剂量来实现有效的疫苗接种(例如,大于60%,并且在一些实施方案中大于约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或更多),降低感染或严重疾病的风险。在一些实施方案中,需要不超过两个的剂量。在一些实施方案中,单个剂量是足够的。在一些实施方案中,RNA剂量是约60μg或更低、50μg或更低、40μg或更低、30μg或更低、20μg或更低、10μg或更低、5μg或更低、2.5μg或更低或者1μg或更低。在一些实施方案中,RNA剂量是约0.25μg、至少0.5μg、至少1μg、至少2μg、至少3μg、至少4μg、至少5μg、至少10μg、至少20μg、至少30μg或至少40μg。在一些实施方案中,RNA剂量是约0.25μg至60μg、0.5μg至55μg、1μg至50μg、5μg至40μg,或者每个剂量可施用10μg至30μg。在一些实施方案中,RNA剂量是约30μg。在一些实施方案中,施用至少两个这样的剂量。例如,可以在施用第一次剂量之后约21天施用第二次剂量。在一些实施方案中,在初始剂量后约一个月施用第一次加强剂量。在一些这类实施方案中,以一个月的间隔施用至少一次进一步的加强剂。在一些实施方案中,在2或3次加强剂后,引入更长的间隔,并且至少6、9、12、18、24个月或更长时间不施用进一步的加强剂。在一些实施方案中,在约18个月后施用一次进一步的加强剂。在一些实施方案中,除非例如观察到临床或环境状况的实质性变化,否则不需要进一步的加强剂。

[1035] 在一些实施方案中,可以在施用本文提供的药物组合物的一个或多个剂量之后评估一种或多种结果。示例性结果包括但不限于:注射部位的局部反应(例如,疼痛、红斑/发

红、硬结/肿胀等)、注射部位非自发的局部反应(例如,疼痛、红斑/发红、硬结/肿胀等)的频率、全身反应(例如,呕吐、腹泻、头痛、疲劳、肌肉/关节疼痛、发烧等)、非自发的全身反应(例如,呕吐、腹泻、头痛、疲劳、肌肉/关节疼痛、发烧等)的频率、不良事件、需接受医疗处理的不良事件、严重不良事件、受试者发生至少一种不良事件的频率、受试者发生至少一种需接受医疗处理的不良事件的频率、受试者发生至少一种严重不良事件的频率、受保护而免受血液阶段寄生虫血症伤害的受试者的数量、受保护而免受血液阶段寄生虫血症伤害的受试者的比例及其组合。

[1036] 在一些实施方案中,可通过PCR(例如,qPCR)来评估血液阶段寄生虫血症。

[1037] 在一些实施方案中,可以在施用本文提供的药物组合物的一个或多个剂量之后获得评估时间点的抗体水平的统计数据。时间点可以包括已知或疑似疟疾暴露之后或已知或疑似疟疾感染之后在第一剂量时、第二剂量时、第三剂量时。

[1038] VIII.制备方法

[1039] 可通过本领域中已知的方法产生单独的多核糖核苷酸。例如,在一些实施方案中,可以通过体外转录产生多核糖核苷酸,例如使用DNA模板。用作体外转录的模板以产生本文所述的多核糖核苷酸的质粒DNA也在本公开的范围内。

[1040] DNA模板用于在适当的RNA聚合酶(例如重组RNA聚合酶,例如T7 RNA聚合酶)与三磷酸核糖核苷酸(例如,ATP、CTP、GTP、U TP)存在下进行体外RNA合成。在一些实施方案中,可以在修饰的三磷酸核糖核苷酸存在下合成多核糖核苷酸(例如,本文所述的多核糖核苷酸)。仅举例来说,在一些实施方案中,可以使用假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)或5-甲基-尿苷(m5U)代替三磷酸尿苷(UTP)。在一些实施方案中,可以使用假尿苷(ψ)代替三磷酸尿苷(UTP)。在一些实施方案中,可以使用N1-甲基-假尿苷(m1ψ)代替三磷酸尿苷(UTP)。在一些实施方案中,可以使用5-甲基-尿苷(m5U)代替三磷酸尿苷(UTP)。

[1041] 本领域技术人员应清楚,在体外转录期间,RNA聚合酶(例如,如本文所述和/或采用)通常按3'→5'方向穿越单链DNA模板的至少一部分,从而按5'→3'方向产生单链互补RNA。

[1042] 在其中多核糖核苷酸包含聚A尾的一些实施方案中,本领域技术人员应了解,这种聚A尾可以在DNA模板中编码,例如通过使用适当加尾的PCR引物,或者可以在体外转录后将其添加至多核糖核苷酸中,例如通过酶处理(例如使用聚(A)聚合酶,如大肠杆菌聚(A)聚合酶)。合适的聚(A)尾描述于上文中。例如,在一些实施方案中,聚(A)尾包含SEQ ID NO:466的核苷酸序列。在一些实施方案中,聚(A)尾包含被接头中断的多个A残基。在一些实施方案中,接头包含SEQ ID NO:468的核苷酸序列。

[1043] 在一些实施方案中,本领域技术人员应了解,给RNA(例如,mRNA)添加5'帽可促进RNA识别和连接于核糖体,从而启动翻译并增强翻译效率。本领域技术人员还应了解,5'帽还可以保护RNA产物免于5'外切核酸酶介导的降解,并因此增加半衰期。用于加帽的方法是本领域中已知的;本领域的普通技术人员应了解,在一些实施方案中,加帽可以在加帽系统(例如基于酶的加帽系统,例如痘苗病毒的加帽酶)存在下在体外转录后进行。在一些实施方案中,可以在体外转录期间引入帽,连同多个三磷酸核糖核苷酸,使得帽在转录期间并入多核糖核苷酸中(也称为共转录加帽)。在一些实施方案中,可以使用在反应过程中进行多次添加的GTP分批补料程序来维持低浓度的GTP,以便有效地对RNA加帽。合适的5'帽描述于

上文中。例如,在一些实施方案中,5'帽包含m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA)pG。

[1044] 在RNA转录之后,DNA模板被消化。在一些实施方案中,可以在适当的条件下使用DNA酶I来实现消化。

[1045] 在一些实施方案中,体外转录的多核糖核苷酸可以在缓冲溶液中,例如在诸如HEPES、磷酸盐缓冲溶液、柠檬酸盐缓冲溶液、乙酸盐缓冲溶液的缓冲液中提供;在一些实施方案中,这种溶液可以被缓冲至例如约6.5至约7.5范围内的pH;在一些实施方案中被缓冲至大约7.0。在一些实施方案中,多核糖核苷酸的产生还可以包括以下步骤中的一者或多者:纯化、混合、过滤和/或填充。

[1046] 在一些实施方案中,可以纯化多核糖核苷酸(例如,在一些实施方案中,在体外转录反应后),例如以去除在产生过程中采用或形成的组分,像例如蛋白质、DNA片段和/或核苷酸。根据本公开,可以使用本领域中已知的各种核酸纯化。某些纯化步骤可以是或包括例如以下一者或多者:沉淀、柱色谱法(包括例如但不限于阴离子、阳离子、疏水相互作用色谱法(HIC))、基于固体基质的纯化(例如,基于磁珠的纯化)。在一些实施方案中,可以使用基于磁珠的纯化来纯化多核糖核苷酸,所述纯化在一些实施方案中可以是或包含基于磁珠的色谱法。在一些实施方案中,可以使用疏水相互作用色谱法(HIC)和/或渗滤来纯化多核糖核苷酸。在一些实施方案中,可以使用HIC、接着是渗滤来纯化多核糖核苷酸。

[1047] 在一些实施方案中,可以在体外转录期间获得作为副产物的dsRNA。在一些这类实施方案中,可以进行第二纯化步骤以去除dsRNA污染。例如,在一些实施方案中,可以使用纤维素材料(例如,微晶纤维素)来去除dsRNA污染,例如在一些实施方案中以色谱的形式。在一些实施方案中,可以对纤维素材料(例如,微晶纤维素)进行预处理以灭活潜在的RNA酶污染,例如在一些实施方案中通过高压灭菌,接着与碱性水溶液(例如,NaOH)一起温育。在一些实施方案中,纤维素材料可用于根据WO 2017/182524中描述的方法纯化多核糖核苷酸,该文献以引用的方式并入本文。

[1048] 在一些实施方案中,一批多核糖核苷酸可通过一个或多个过滤和/或浓缩步骤进一步处理。例如,在一些实施方案中,多核糖核苷酸例如在移除dsRNA污染后可进一步进行渗滤(例如,在一些实施方案中通过切向流过滤),例如以将多核糖核苷酸的浓度调节至期望的RNA浓度和/或将缓冲液交换为药物物质缓冲液。

[1049] 在一些实施方案中,多核糖核苷酸可以在它们被填充到适当的容器中之前通过0.2μm过滤进行处理。

[1050] 在一些实施方案中,可以根据如本文所述或如本领域中另外已知的方法制造多核糖核苷酸以及其组合物。

[1051] 在一些实施方案中,可以大规模制造多核糖核苷酸以及其组合物。例如,在一些实施方案中,可以大于1g、大于2g、大于3g、大于4g、大于5g、大于6g、大于7g、大于8g、大于9g、大于10g、大于15g、大于20g或更大的规模制造一批多核糖核苷酸。

[1052] 在一些实施方案中,可以在多核糖核苷酸和/或包含多核糖核苷酸的组合物的产生过程期间的任何时间进行和/或监测RNA质量控制。例如,在一些实施方案中,可在多核糖核苷酸制造过程的每个或某些步骤之后(例如,在体外转录之后和/或每个纯化步骤之后)评估和/或监测RNA质量控制参数,包括RNA身份(例如,序列、长度和/或RNA性质)、RNA完整性、RNA浓度、残留DNA模板和残留dsRNA中的一个或多个。

[1053] 在一些实施方案中,可以在各种测试储存条件下评估多核糖核苷酸(例如,通过体外转录产生的)和/或包含多核糖核苷酸的组合物的稳定性,例如,在室温与冰箱或零下温度下在一段时间内(例如,至少3个月、至少6个月、至少9个月、至少12个月或更长时间)。在一些实施方案中,多核糖核苷酸(例如,本文所述的多核糖核苷酸)和/或其组合物可以在冰箱温度(例如,约4℃至约10℃)下稳定储存至少1个月或更长时间,包括至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少7个月、至少8个月、至少9个月、至少10个月、至少11个月或至少12个月或更长时间。在一些实施方案中,多核糖核苷酸(例如,本文所述的多核糖核苷酸)和/或其组合物可以在零下温度(例如,-20℃或以下)下稳定储存至少1个月或更长时间,包括至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少7个月、至少8个月、至少9个月、至少10个月、至少11个月或至少12个月或更长时间。在一些实施方案中,多核糖核苷酸(例如,本文所述的多核糖核苷酸)和/或其组合物可以在室温(例如,在约25℃)下稳定储存至少1个月或更长时间。

[1054] 在一些实施方案中,可以在多核糖核苷酸的制造或其它制备或使用期间采用一项或多项评估(例如,作为释放测试)。

[1055] 在一些实施方案中,可以评估一个或多个质量控制参数,以确定本文所述的多核糖核苷酸是否满足或超过验收标准(例如,用于后续配制和/或释放以供分配)。在一些实施方案中,这类质量控制参数可包括但不限于RNA完整性、RNA浓度、残留DNA模板和/或残留dsRNA。某些用于评估RNA质量的方法是本领域中已知的;例如,本领域技术人员将认识到,在一些实施方案中,一种或多种分析测试可用于RNA质量评估。这类某些分析测试的实例可包括但不限于凝胶电泳、UV吸收和/或PCR分析。

[1056] 在一些实施方案中,可以评估一批多核糖核苷酸的如本文所述的一种或多种特征,以确定接下来的措施步骤。例如,如果RNA质量评估表明一批多核糖核苷酸满足或超过相关的验收标准,则可以指定这样的一批多核糖核苷酸用于制备和/或配制和/或分配的一个或多个进一步的步骤。否则,如果这样的一批多核糖核苷酸不满足或超过验收标准,则可以采取替代行动(例如,丢弃所述批次)。

[1057] 在一些实施方案中,满足评估结果的一批多核糖核苷酸可用于制造和/或配制和/或分配的一个或多个进一步的步骤。

[1058] IX.DNA构建体

[1059] 除其它方面以外,本公开还提供了DNA构建体,所述DNA构建体例如可编码如本文所述的一种或多种抗体剂或其组分。在一些实施方案中,由本公开提供和/或根据本公开采用的DNA构建体包含于载体中。

[1060] 载体的非限制性实例包括质粒载体、粘粒载体、噬菌体载体(例如λ噬菌体)、病毒载体(例如逆转录病毒、腺病毒或杆状病毒载体)或人工染色体载体(例如细菌人工染色体(BAC)、酵母人工染色体(YAC)或P1人工染色体(PAC))。在一些实施方案中,载体是表达载体。在一些实施方案中,载体是克隆载体。一般来说,载体是可以接收或以其它方式变成连接至所关注的核酸元件的核酸构建体(例如,是或编码有效载荷的构建体,或赋予特定功能性的构建体,等等)。

[1061] 可以是质粒或病毒或其它载体的表达载体通常包括所关注的可表达序列(例如,编码序列),其与一种或多种控制元件(例如,启动子、增强子、转录终止子等)功能性连接。

通常,选择这类控制元件用于在所关注的系统中表达。在一些实施方案中,系统是离体的(例如,体外转录系统);在一些实施方案中,系统是体内的(例如,细菌、酵母、植物、昆虫、鱼、脊椎动物、哺乳动物细胞或组织等)。

[1062] 克隆载体通常用于修饰、工程化和/或复制(例如通过体内复制,例如在诸如细菌或酵母的简单系统中,或体外复制,例如通过诸如聚合酶链反应的扩增或其它扩增过程)。在一些实施方案中,克隆载体可缺乏表达信号。

[1063] 在许多实施方案中,载体可包括复制元件,例如引物结合位点和/或复制起点。在许多实施方案中,载体可包括插入或修饰位点,例如限制性核酸内切酶识别位点和/或引导RNA结合位点等。

[1064] 在一些实施方案中,载体是病毒载体(例如,AAV载体)。在一些实施方案中,载体是非病毒载体。在一些实施方案中,载体是质粒。

[1065] 本领域技术人员知晓多种技术可用于产生如本文所述的重组多核苷酸(例如,DNA或RNA)。例如,限制性消化、逆转录、扩增(例如,通过聚合酶链反应)、Gibson组装等是被充分确认并且可用的工具和技术。或者或另外,某些核酸可以通过化学和/或酶促合成来制备或组装。在一些实施方案中,采用已知方法的组合来制备重组多核苷酸。

[1066] 在一些实施方案中,本公开的多核苷酸包括在易于转录和/或翻译的DNA构建体(例如,载体)中。

[1067] 在一些实施方案中,表达载体包含编码本公开的蛋白质和/或多肽的多核苷酸,其可操作地连接至一个或多个控制表达的序列(例如,启动子、起始信号、终止信号、聚腺苷酸化信号、激活子、阻遏子等)。在一些实施方案中,选择一个或多个控制表达的序列以实现所需表达水平。在一些实施方案中,采用多于一个控制表达的序列(例如,启动子)。在一些实施方案中,采用多于一个控制表达的序列(例如,启动子)来实现编码多种蛋白质和/或多肽的多种多核苷酸的所需表达水平。在一些实施方案中,多种重组蛋白和/或多肽由同一载体(例如,双顺反子载体、三顺反子载体、多顺反子载体)表达。在一些实施方案中,表达多种多肽,其中每一者由独立的载体表达。

[1068] 在一些实施方案中,包含本公开的多核苷酸的表达载体用于在宿主细胞中产生RNA和/或蛋白质和/或多肽。在一些实施方案中,宿主细胞可以是体外的(例如,细胞系),例如适合产生本公开的多核苷酸以及由所述多核苷酸编码的蛋白质和/或多肽的细胞或细胞系(例如,人胚肾(HEK细胞)、中国仓鼠卵巢细胞等)。

[1069] 在一些实施方案中,表达载体是RNA表达载体。在一些实施方案中,RNA表达载体包含用于在无细胞酶混合物中产生RNA的多核苷酸模板。在一些实施方案中,包含多核苷酸模板的RNA表达载体在体外转录之前被酶促线性化。在一些实施方案中,通过PCR产生多核苷酸模板作为线性多核苷酸模板。在一些实施方案中,线性化多核苷酸与适合RNA合成、RNA加帽和/或纯化的酶混合。在一些实施方案中,所得RNA适合产生由所述RNA编码的蛋白质。

[1070] 本领域中已知将表达载体引入宿主细胞中的多种方法。在一些实施方案中,可以使用转染将载体引入宿主细胞中。在一些实施方案中,例如使用磷酸钙转染、脂质转染或聚乙烯亚胺介导的转染完成转染。在一些实施方案中,可以使用转导将载体引入宿主细胞中。

[1071] 在一些实施方案中,在将载体引入宿主细胞中之后培养转化的宿主细胞,以允许表达所述重组多核苷酸。在一些实施方案中,将转化的宿主细胞培养至少12小时、16小时、

20小时、24小时、28小时、32小时、36小时、40小时、44小时、48小时、52小时、56小时、60小时、64小时、68小时、72小时或更长时间。在根据所选择的宿主细胞的要求的生长条件(例如,温度、二氧化碳水平、生长培养基)下培养转化的宿主细胞。熟练技术人员将认识到,所选择的宿主细胞的培养条件是本领域中众所周知的。

[1072] 示例性编号的实施方案

[1073] 实施方案1.一种编码多肽的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原。

[1074] 实施方案2.实施方案1的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包括至少2种且至多10种疟原虫T细胞抗原。

[1075] 实施方案3.实施方案1或2的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含至少25个氨基酸且至多1100个氨基酸。

[1076] 实施方案4.实施方案实施方案1-3中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含至少25个氨基酸且至多500个氨基酸。

[1077] 实施方案5.实施方案1-4中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含以下中的两者或更多者:

[1078] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1079] (ii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[1080] (iii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[1081] (iv)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1082] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[1083] (vi)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1084] (vii)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[1085] (viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;

[1086] (ix)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[1087] (x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

[1088] 实施方案6.实施方案1-5中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1089] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1090] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1091] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1092] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;和

[1093] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段。

[1094] 实施方案7.实施方案6的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:15的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1095] 实施方案8.实施方案1-6中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1096] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1097] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1098] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1099] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[1100] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[1101] (vi)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段;

[1102] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;和

[1103] (viii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段。

[1104] 实施方案9.实施方案8的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1105] 实施方案10.实施方案1-6中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1106] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1107] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1108] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1109] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[1110] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[1111] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[1112] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[1113] (viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[1114] (ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[1115] 实施方案11.实施方案10的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1116] 实施方案12.实施方案1-6中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1117] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1118] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1119] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1120] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[1121] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[1122] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[1123] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和

[1124] (viii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[1125] 实施方案13.实施方案12的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1126] 实施方案14.实施方案1-6中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1127] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1128] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1129] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1130] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[1131] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[1132] (vi)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[1133] (vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[1134] 实施方案15.实施方案14的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1135] 实施方案16.实施方案1-6中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1136] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1137] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1138] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1139] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[1140] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[1141] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;和

[1142] (vii)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[1143] 实施方案17.实施方案16的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:33的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1144] 实施方案18.实施方案1-6中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1145] (i)抗原性疟原虫CSP多肽片段;

[1146] (ii)抗原性疟原虫TRAP多肽片段;

[1147] (iii)抗原性疟原虫UIS3多肽片段;

[1148] (iv)抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段;

[1149] (v)抗原性疟原虫LSAP2多肽片段;

[1150] (vi)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[1151] (vii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[1152] (viii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;

[1153] (ix)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和

[1154] (x)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

[1155] 实施方案19.实施方案18的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1156] 实施方案20.实施方案1-5中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1157] (i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[1158] (ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[1159] (iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;

[1160] (iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段;和

[1161] (v)抗原性疟原虫LSA-3多肽片段。

[1162] 实施方案21.实施方案20的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:48的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1163] 实施方案22.实施方案1-5中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含:

[1164] (i)抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段;

[1165] (ii)抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段;

[1166] (iii)抗原性疟原虫LISP-2多肽片段;和

[1167] (iv)抗原性疟原虫LISP-1多肽片段。

[1168] 实施方案23.实施方案22的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含与根据SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:45的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1169] 实施方案24.实施方案1-6、8、10、12、14、16和18中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫CSP多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段包含疟原虫CSP N末端区。

[1170] 实施方案25.实施方案24的多核糖核苷酸,其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段进一步包含疟原虫CSP N末端端部区。

[1171] 实施方案26.实施方案24或25的多核糖核苷酸,其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段进一步包含疟原虫CSP接合区。

[1172] 实施方案27.实施方案24-26中任一项的多核糖核苷酸,其中所述抗原性疟原虫CSP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1173] 实施方案28.实施方案1-6、8、10、12、14、16、18和24-27中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原不包含抗原性伯氏疟原虫CSP多肽片段。

[1174] 实施方案29.实施方案1-5、8、10、12、18、20和22中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSA-1(a)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:144的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1175] 实施方案30.实施方案1-5、8、10、12、16、18、20和22中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSA-1(b)多肽片段包含与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:155的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1176] 实施方案31.实施方案1-6、8、10、12、14、16和18中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫TRAP多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫TRAP多肽片段包含与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1177] 实施方案32.实施方案1-6、8、10、12、14、16和18中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSAP2多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSAP2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:198的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1178] 实施方案33.实施方案1-6、8、10、12、14、16和18中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫UIS3多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫UIS3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:212的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1179] 实施方案34.实施方案1-6、8、10、12、14、16和18中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫ETRAMP10.3多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫ETRAMP 10.3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:219的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1180] 实施方案35.如实施方案1-5、10、12、14、16、18、20和22中任一项所述的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LISP-1多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LISP-1多肽片段包含与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:229的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1181] 实施方案36.实施方案1-5、10、14、18、20和22中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LISP-2多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LISP-2多肽片段包含与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:238的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1182] 实施方案37.实施方案1-5、8、18和20中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含抗原性疟原虫LSA-3多肽片段,且其中所述抗原性疟原虫LSA-3多肽片段包含与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列或由与根据SEQ ID NO:249的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的氨基酸序列组成。

[1183] 实施方案38.实施方案1-37中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原各自包含一个或多个T细胞表位。

[1184] 实施方案39.实施方案1-38中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽不包含细菌多肽的抗原性片段。

[1185] 实施方案40.实施方案1-39中任一项的多核糖核苷酸,其中多肽不包含抗原性卡

介苗(BCG)多肽片段,任选其中所述抗原性BCG多肽片段包含根据SEQ ID NO:461的氨基酸序列。

[1186] 实施方案41.实施方案1-40中任一项的多核糖核苷酸,其中多肽不包含抗原性破伤风毒素(TT)多肽片段,任选其中所述抗原性TT多肽片段包含根据SEQ ID NO:462的氨基酸序列。

[1187] 实施方案42.实施方案1-41中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原不包含抗原性疟原虫子孢子富苏氨酸-天冬酰胺蛋白(STARP)多肽片段,任选其中所述抗原性疟原虫STARP多肽片段包括根据SEQ ID NO:463的氨基酸序列。

[1188] 实施方案43.实施方案1-42中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸进一步包含MHC I类输运信号(MITD)。

[1189] 实施方案44.实施方案43的多核糖核苷酸,其中所述MITD包含根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:479的氨基酸序列组成。

[1190] 实施方案45.实施方案1-44中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含分泌信号。

[1191] 实施方案46.实施方案45的多核糖核苷酸,其中所述分泌信号包括疟原虫分泌信号或由疟原虫分泌信号组成。

[1192] 实施方案47.实施方案46的多核糖核苷酸,其中所述疟原虫分泌信号包括疟原虫CSP分泌信号或由疟原虫CSP分泌信号组成。

[1193] 实施方案48.实施方案47的多核糖核苷酸,其中所述疟原虫CSP分泌信号包含根据SEQ ID NO:397的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:397的氨基酸序列组成。

[1194] 实施方案49.实施方案45的多核糖核苷酸,其中所述分泌信号包括异源分泌信号或由异源分泌信号组成。

[1195] 实施方案50.实施方案49的多核糖核苷酸,其中所述异源分泌信号包括非人分泌信号或由非人分泌信号组成。

[1196] 实施方案51.实施方案49或50的多核糖核苷酸,其中所述异源分泌信号包括病毒分泌信号或由病毒分泌信号组成。

[1197] 实施方案52.实施方案51的多核糖核苷酸,其中所述病毒分泌信号包括HSV分泌信号或由HSV分泌信号组成。

[1198] 实施方案53.实施方案52的多核糖核苷酸,其中所述HSV分泌信号包括HSV-1或HSV-2分泌信号或由HSV-1或HSV-2分泌信号组成。

[1199] 实施方案54.实施方案52或53的多核糖核苷酸,其中所述HSV分泌信号包括HSV糖蛋白D(gD)分泌信号或由HSV糖蛋白D(gD)分泌信号组成。

[1200] 实施方案55.实施方案54的多核糖核苷酸,其中所述HSV gD分泌信号包含根据SEQ ID NO:382的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:382的氨基酸序列组成。

[1201] 实施方案56.实施方案54的多核糖核苷酸,其中所述HSV gD分泌信号包含根据SEQ ID NO:388的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:388的氨基酸序列组成。

[1202] 实施方案57.实施方案51的多核糖核苷酸,其中所述分泌信号包括埃博拉病毒分泌信号或由埃博拉病毒分泌信号组成。

[1203] 实施方案58.实施方案57的多核糖核苷酸,其中所述埃博拉病毒分泌信号包括埃

博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号或由埃博拉病毒刺突糖蛋白(SGP)分泌信号组成。

[1204] 实施方案59.实施方案58的多核糖核苷酸,其中所述埃博拉病毒SGP分泌信号包含根据SEQ ID NO:400的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:400的氨基酸序列组成。

[1205] 实施方案60.实施方案45-59中任一项的多核糖核苷酸,其中所述分泌信号位于所述多肽的N末端。

[1206] 实施方案61.实施方案1-60中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含跨膜区。

[1207] 实施方案62.实施方案61的多核糖核苷酸,其中所述跨膜区包括疟原虫跨膜区或由疟原虫跨膜区组成。

[1208] 实施方案63.实施方案62的多核糖核苷酸,其中所述疟原虫跨膜区包含疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区或由疟原虫CSP糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定区组成。

[1209] 实施方案64.实施方案63的多核糖核苷酸,其中所述疟原虫CSP GPI锚定区包含根据SEQ ID NO:444的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:444的氨基酸序列组成。

[1210] 实施方案65.实施方案61的多核糖核苷酸,其中所述跨膜区包括异源跨膜区或由异源跨膜区组成。

[1211] 实施方案66.实施方案65的多核糖核苷酸,其中所述异源跨膜区不包括血凝素跨膜区。

[1212] 实施方案67.实施方案65或66的多核糖核苷酸,其中所述异源跨膜区包括非人跨膜区或由非人跨膜区组成。

[1213] 实施方案68.实施方案65或67的多核糖核苷酸,其中所述异源跨膜区包括病毒跨膜区或由病毒跨膜区组成。

[1214] 实施方案69.实施方案65-68中任一项的多核糖核苷酸,其中所述异源跨膜区包括HSV跨膜区或由HSV跨膜区组成。

[1215] 实施方案70.实施方案69的多核糖核苷酸,其中所述HSV跨膜区包括HSV-1或HSV-2跨膜区或由HSV-1或HSV-2跨膜区组成。

[1216] 实施方案71.实施方案69或70的多核糖核苷酸,其中所述HSV跨膜区包括HSV gD跨膜区或由HSV gD跨膜区组成。

[1217] 实施方案72.实施方案71的多核糖核苷酸,其中所述HSV gD跨膜区包含根据SEQ ID NO:447的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:447的氨基酸序列组成。

[1218] 实施方案73.实施方案65或66的多核糖核苷酸,其中所述跨膜区包括人跨膜区或由人跨膜区组成。

[1219] 实施方案74.实施方案73的多核糖核苷酸,其中所述人跨膜区包括人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区或由人衰变加速因子糖基磷脂酰肌醇(hDAF-GPI)锚定区组成。

[1220] 实施方案75.实施方案74的多核糖核苷酸,其中所述hDAF-GPI锚定区包含根据SEQ ID NO:450的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:450的氨基酸序列组成。

[1221] 实施方案76.实施方案1-44和61-75中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽不包含分泌信号。

[1222] 实施方案77.实施方案1-60中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽不包含跨膜区。

[1223] 实施方案78.实施方案1-77中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含一个或多个接头。

[1224] 实施方案79.实施方案78的多核糖核苷酸,其中所述一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:452的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:452的氨基酸序列组成。

[1225] 实施方案80.实施方案78的多核糖核苷酸,其中所述一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:459的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:459的氨基酸序列组成。

[1226] 实施方案81.实施方案78的多核糖核苷酸,其中所述一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:456的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:456的氨基酸序列组成。

[1227] 实施方案82.实施方案78的多核糖核苷酸,其中所述一个或多个接头包含根据SEQ ID NO:460的氨基酸序列或由根据SEQ ID NO:460的氨基酸序列组成。

[1228] 实施方案83.实施方案1-82中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多肽包含在两个疟原虫T细胞抗原之间的接头。

[1229] 实施方案84.实施方案1-83中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原是一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原。

[1230] 实施方案85.实施方案84的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种恶性疟原虫T细胞抗原来自恶性疟原虫分离株3D7。

[1231] 实施方案86.实施方案1-85中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原来自能够感染人的疟原虫物种。

[1232] 实施方案87.实施方案1-86中任一项的多核糖核苷酸,其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原中的每一者包含至少21个氨基酸。

[1233] 实施方案88.实施方案1-87中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸是分离的多核糖核苷酸。

[1234] 实施方案89.实施方案1-88中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸是工程化的多核糖核苷酸。

[1235] 实施方案90.实施方案1-89中任一项的多核糖核苷酸,其中所述多核糖核苷酸是密码子优化的多核糖核苷酸。

[1236] 实施方案91.一种RNA构建体,其按5’至3’顺序包含:

[1237] (i)5’UTR,其包括修饰的人α球蛋白5’-UTR或由修饰的人α球蛋白5’-UTR组成;

[1238] (ii)实施方案1-82中任一项的多核糖核苷酸;

[1239] (iii)包含第一序列和第二序列或由第一序列和第二序列组成的3’UTR,所述第一序列来自分裂的氨基末端增强子(AES)信使RNA,所述第二序列来自线粒体编码的12S核糖体RNA;和

[1240] (iv)聚A尾序列。

[1241] 实施方案92.实施方案91的RNA构建体,其中所述5’UTR包含根据SEQ ID NO:465的核糖核酸序列或由根据SEQ ID NO:465的核糖核酸序列组成。

[1242] 实施方案93.实施方案91或92的RNA构建体,其中所述3’UTR包含根据SEQ ID NO:471的核糖核酸序列或由根据SEQ ID NO:471的核糖核酸序列组成。

[1243] 实施方案94.实施方案91-93中任一项的RNA构建体,其中所述聚A尾序列是分裂聚A尾序列。

[1244] 实施方案95.实施方案94的RNA构建体,其中所述分裂聚A尾序列包含根据SEQ ID NO:467的核糖核酸序列或由根据SEQ ID NO:467的核糖核酸序列组成。

[1245] 实施方案96.实施方案91-95中任一项的RNA构建体,其进一步包含5'帽。

[1246] 实施方案97.实施方案91-96中任一项的RNA构建体,其进一步包含帽近端序列,所述帽近端序列包含多核糖核苷酸的位置+1、+2、+3、+4和+5。

[1247] 实施方案98.实施方案96或97的RNA构建体,其中所述5'帽包含m7(3'OMeG)(5')ppp(5')(2'OMeA_1)pG_2或由其组成,其中A_1是多核糖核苷酸的位置+1,且G_2是多核糖核苷酸的位置+2。

[1248] 实施方案99.实施方案96-98中任一项的RNA构建体,其中所述帽近端序列包含Cap1结构的A_1和G_2以及分别在多核糖核苷酸的位置+3、+4和+5包含$A_3A_4U_5$(SEQ ID NO:480)的序列。

[1249] 实施方案100.一种组合物,其包含实施方案1-90中任一项的一种或多种多核糖核苷酸。

[1250] 实施方案101.一种组合物,其包含实施方案91-99中任一项的一种或多种RNA构建体。

[1251] 实施方案102.实施方案100或101的组合物,其中所述组合物进一步包含脂质纳米颗粒、多聚复合物(PLX)、脂质化多聚复合物(LPLX)或脂质体,其中所述一种或多种多核糖核苷酸被完全或部分地包封在所述脂质纳米颗粒、多聚复合物(PLX)、脂质化多聚复合物(LPLX)或脂质体内。

[1252] 实施方案103.实施方案100-102中任一项的组合物,其中所述组合物进一步包含脂质纳米颗粒,其中所述一种或多种多核糖核苷酸被包封在所述脂质纳米颗粒内。

[1253] 实施方案104.实施方案102或103的组合物,其中所述脂质纳米颗粒靶向肝细胞。

[1254] 实施方案105.实施方案102或103的组合物,其中所述脂质纳米颗粒靶向次级淋巴样器官细胞。

[1255] 实施方案106.实施方案102-105中任一项的组合物,其中所述脂质纳米颗粒是阳离子脂质纳米颗粒。

[1256] 实施方案107.实施方案102-106中任一项的组合物,其中所述脂质纳米颗粒各自包含:

[1257] (a)聚合物缀合脂质;

[1258] (b)阳离子可离子化的脂质;和

[1259] (c)一种或多种中性脂质。

[1260] 实施方案108.实施方案107的组合物,其中所述聚合物缀合脂质包括PEG缀合脂质。

[1261] 实施方案109.实施方案107或108的组合物,其中所述聚合物缀合脂质包括2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-双十四烷基乙酰胺。

[1262] 实施方案110.实施方案107-109中任一项的组合物,其中所述一种或多种中性脂质包括1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPSC)。

[1263] 实施方案111.实施方案107-110中任一项的组合物,其中所述一种或多种中性脂质包括胆固醇。

[1264] 实施方案112.实施方案107-111中任一项的组合物,其中所述阳离子可离子化的脂质包括[(4-羟基丁基)氮烷二基]二(己烷-6,1-二基)双(2-己基癸酸酯)。

[1265] 实施方案113.实施方案107-112中任一项的组合物,其中所述脂质纳米颗粒具有约50-150nm的平均直径。

[1266] 实施方案114.一种药物组合物,其包含实施方案100-113中任一项的组合物和至少一种药学上可接受的赋形剂。

[1267] 实施方案115.实施方案114的药物组合物,其中所述药物包含冷冻保护剂,任选其中所述冷冻保护剂是蔗糖。

[1268] 实施方案116.实施方案114或115的药物组合物,其中所述药物包含水性缓冲溶液,任选其中所述水性缓冲溶液包含Tris碱、Tris HCl、NaCl、KCl、Na_2HPO_4和KH_2PO_4中的一者或多者。

[1269] 实施方案117.一种组合,其包含:

[1270] (i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸编码第一多肽,且所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原;和

[1271] (ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸编码第二多肽,且所述第二多肽包含一个或多个疟原虫抗原性多肽区或其部分。

[1272] 实施方案118.实施方案117的组合,其中所述第一多核糖核苷酸是根据实施方案1-88中任一项的多核糖核苷酸。

[1273] 实施方案119.实施方案117或118的组合,其中所述第二多肽的一个或多个疟原虫抗原性多肽区或其部分包括一个或多个疟原虫CSP区或其部分。

[1274] 实施方案120.一种组合,其包含:

[1275] (i)第一药物组合物,其包含编码第一多肽的多核糖核苷酸,其中所述第一多肽包含一种或多种疟原虫T细胞抗原,且其中所述一种或多种疟原虫T细胞抗原包含疟原虫N末端区或其部分,但不包含疟原虫C末端区或其部分;和

[1276] (ii)第二药物组合物,其包含编码第二多肽的多核糖核苷酸,其中所述第二多肽包含一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分,且其中所述一个或多个疟原虫CSP多肽区或其部分包含疟原虫CSP C末端区或其部分,但不包含疟原虫CSP N末端区或其部分。

[1277] 实施方案121.实施方案117-120中任一项的组合,其中在同一天施用所述第一药物组合物和所述第二药物组合物。

[1278] 实施方案122.一种组合,其包含:

[1279] (i)包含第一多核糖核苷酸的第一药物组合物,其中所述第一多核糖核苷酸是根据实施方案6或7的多核糖核苷酸;和

[1280] (ii)包含第二多核糖核苷酸的第二药物组合物,其中所述第二多核糖核苷酸是根据实施方案22或23的多核糖核苷酸。

[1281] 实施方案123.一种方法,包括对受试者施用根据实施方案1-90中任一项的多核糖核苷酸。

[1282] 实施方案124.一种方法,包括对受试者施用根据实施方案91-99中任一项的RNA构建体。

[1283] 实施方案125.一种方法,包括对受试者施用根据实施方案100-116中任一项的组

合物。

[1284] 实施方案126.一种方法,包括对受试者施用一个或多个剂量的实施方案114-116中任一项的药物组合物。

[1285] 实施方案127.实施方案114-116中任一项的药物组合物,其用于治疗疟疾感染,包括对受试者施用一个或多个剂量的所述药物组合物。

[1286] 实施方案128.实施方案114-116中任一项的药物组合物,其用于预防疟疾感染,包括对受试者施用一个或多个剂量的所述药物组合物。

[1287] 实施方案129.实施方案126的方法或供实施方案127或128使用的药物组合物,包括对受试者施用两个或更多个剂量的所述药物组合物。

[1288] 实施方案130.实施方案126或129的方法或供实施方案127-129中任一项使用的药物组合物,包括对受试者施用三个或更多个剂量的所述药物组合物。

[1289] 实施方案131.供实施方案130使用的方法或药物组合物,其中在对所述受试者施用所述三个或更多个剂量中的第一剂量后至少4周对所述受试者施用所述三个或更多个剂量中的第二剂量。

[1290] 实施方案132.供实施方案130或131使用的方法或药物组合物,其中在对所述受试者施用所述三个或更多个剂量中的第二剂量后至少4周对所述受试者施用所述三个或更多个剂量中的第三剂量。

[1291] 实施方案133.实施方案126或129-132中任一项的方法或供实施方案127-129中任一项使用的药物组合物,包括对受试者施用第四剂量的所述药物组合物。

[1292] 实施方案134.供实施方案133使用的方法或药物组合物,其中在对所述受试者施用所述三个或更多个剂量中的第三剂量后至少一年对所述受试者施用第四剂量。

[1293] 实施方案135.一种方法,包括对受试者施用实施方案117-122中任一项的组合。

[1294] 实施方案136.实施方案135的方法,其中在同一天施用所述第一药物组合物和所述第二药物组合物。

[1295] 实施方案137.实施方案135的方法,其中在不同日施用所述第一药物组合物和所述第二药物组合物。

[1296] 实施方案138.实施方案135-137中任一项的方法,其中在所述受试者身体的不同位置对所述受试者施用所述第一药物组合物和所述第二药物组合物。

[1297] 实施方案139.实施方案135-138中任一项的方法,其中所述方法是治疗疟疾感染的方法。

[1298] 实施方案140.实施方案135-139中任一项的方法,其中所述方法是预防疟疾感染的方法。

[1299] 实施方案141.实施方案135-140中任一项的方法,其中所述受试者患有疟疾感染或有患疟疾感染的风险。

[1300] 实施方案142.实施方案135-141中任一项的方法,其中所述受试者是人。

[1301] 实施方案143.实施方案126和129-142中任一项的方法,其中施用在所述受试者中诱导抗疟疾免疫反应。

[1302] 实施方案144.实施方案143的方法,其中所述受试者中的抗疟疾免疫反应包括适应性免疫反应。

[1303] 实施方案145.实施方案143或144的方法,其中所述受试者中的抗疟疾免疫反应包括T细胞反应。

[1304] 实施方案146.实施方案145的方法,其中所述T细胞反应是或包括CD4+T细胞反应。

[1305] 实施方案147.实施方案145或146的方法,其中所述T细胞反应是或包括CD8+T细胞反应。

[1306] 实施方案148.实施方案143-147中任一项的方法,其中所述抗疟疾免疫系统反应包括B细胞反应。

[1307] 实施方案149.实施方案143-148中任一项的方法,其中所述抗疟疾免疫系统反应包括产生针对所述一种或多种疟原虫抗原的抗体。

[1308] 实施方案150.实施方案114-116中任一项的药物组合物在治疗疟疾感染中的用途。

[1309] 实施方案151.实施方案114-116中任一项的药物组合物在预防疟疾感染中的用途。

[1310] 实施方案152.实施方案114-116中任一项的药物组合物在诱导受试者的抗疟疾免疫反应中的用途。

[1311] 实施方案153.一种多肽,其由实施方案1-90中任一项的多核糖核苷酸编码。

[1312] 实施方案154.一种多肽,其由实施方案91-99中任一项的RNA构建体编码。

[1313] 实施方案155.一种宿主细胞,其包含实施方案1-90中任一项的多核糖核苷酸。

[1314] 实施方案156.一种宿主细胞,其包含实施方案91-99中任一项的RNA构建体。

[1315] 实施方案157.一种宿主细胞,其包含实施方案153或154的多肽。

[1316] 范例

[1317] 实施例1:MHC呈递的预测和/或表征

[1318] 本实施例描述了可用作如本文所述的抗原或可用在如本文所述的抗原中(即,作为其一部分)的某些疟原虫蛋白序列的确认、选择和/或表征。

[1319] 图1展示用于确认、表征和/或选择某些疟原虫蛋白序列(例如,特定变体)和/或其片段或表位的方法的流程图,其在本发明的实践中可能是特别有用的。如图所描绘,考虑转录组学(即,RNA表达水平)和/或蛋白质组学(即,表达的蛋白质水平)数据,例如通过文献综述确认在肝细胞浸润之前表达并且包括预期或已知与宿主细胞质交界的一个或多个部分的蛋白质。考虑了候选蛋白在恶性疟原虫株中(例如,在相关地理区域中)的保守程度。

[1320] 考虑了各种实验室和野外分离株用于评估保守蛋白质和T细胞表位。

[1321] 全基因组单核苷酸多态性(SNP)与全球临床株的比较显示,尽管经历了长期的培养适应,但三种实验室株(NF54、7G8、NF135/5.C10)仍然具有其地理起源(撒哈拉以南非洲、南美洲和东南亚)的代表性。参见Moder等人,Genome Med,12:6,2020,该文献以全文引用的方式并入本文。还考虑了保守蛋白质的免疫原性,例如通过文献综述和/或应用如本文所述的预测算法。

[1322] 根据本实施例,以下疟原虫蛋白中的每一者被确认为特别关注的:CSP、TRAP、LSAP1、LSAP2 UIS3、ETRAMP10.3、LISP1、LISP2、LSA-3、LSA-1、CelTOS、EXP1、AMA1、RH5及其组合。

[1323] 图2A-2K显示十一种疟原虫蛋白(具体地,CSP、TRAP、EXP1、UIS3、ETRAMP10.3、

LISP-1、LISP-2、LSA-1、LSA-3、LSAP1和LSAP2)的免疫学表征,并且还描绘了选择用于在根据本公开使用的抗原(例如,串构建体抗原)中包含的片段。对于每种疟原虫蛋白,图的上图显示公开的HLAI类表位为浅绿色点,且预测的HLA I类表位为深绿色点;第二图显示预测的II类表位(即,结合),第三图显示上面列出的十六种株范围内的进化保守性,且第四图显示蛋白质的结构特征,包括疏水性(其中较暗的条纹代表更疏水的残基)。每个图上的蓝色条表示本文确认为包括可用于疫苗抗原的序列的蛋白质部分。

[1324] 实施例2:示例性肽串RNA构建体48和57的免疫原性研究

[1325] 本实施例记录了本公开提供的某些T细胞肽串构建体诱导T细胞反应的能力,如在小鼠中所评估。

[1326] 可以评估所提供的T细胞肽串构建体诱导T细胞介导的免疫反应的能力。在一些实施方案中,如果来自用这种构建体免疫的受试者(例如,小鼠)的脾细胞在如本文所述的酶联免疫斑点(ELISpot)中与如本文所述的肽一起温育之后表现出促炎细胞因子(例如,IFN-γ)的分泌,则确定T细胞肽串构建体诱导有用的免疫反应。

[1327] 将HLA-A2.1小鼠分成接受治疗的多个组(如图4A中所描绘),并用2.5μg或5μg的T细胞肽串构建体或注射媒介物进行肌内(IM)免疫。在实验结束时(第7天),收获脾细胞并冷冻保存。按照制造商的说明,使用小鼠IFN-γELISpot试剂盒(R&D Systems,EL485)将脾细胞与构建体特异性抗原肽池(参见表10和表11)一起温育过夜,并评估IFN-γ反应。具体地,将脾细胞与单独的抗原肽池(抗原池内每种肽为0.3μM)一起在200μl无血清培养基(X-VIVO/1% Pen-Strep/1%Glutamax)中于37C下在封闭的预包被ELISpot板上以一式三份孔温育20小时。阴性对照包括与无血清培养基和DMSO(与肽池匹配的体积)一起温育,且阳性对照包括与0.3μM伴刀豆球蛋白A(ConA)一起温育。温育后,将板用PBS/Tween洗涤,并将检测抗体(生物素化的抗IFN-γ)添加到孔中,以在4C下温育过夜。在与检测抗体一起温育之后,将板用PBS/Tween洗涤,并在室温下与链霉亲和素-AP一起温育2小时。然后将板用PBS/Tween洗涤,并将100μl的BCIP/NBT色原底物添加到每个孔中,并在室温下避光温育45分钟。将色原溶液从板中倾析出来,用蒸馏水冲洗孔,并将板风干。使用CTL免疫斑点读数器记录每孔的细胞计数。

[1328] 表10:ELISpot测定中用于脾细胞刺激的肽

[1329]

靶标	肽池#	SEQ ID NO.:	靶标	肽池#	SEQ ID NO.:	靶标	肽池#	SEQ ID NO.:
CSP	1	481	LISP2	3	602	LSAP2	6	764
CSP	1	482	LISP2	3	603	LSAP2	6	765
CSP	1	483	LISP2	3	604	LSAP2	6	766
CSP	1	484	LISP2	3	605	LSAP2	6	767
CSP	1	485	LISP2	3	606	LSAP2	6	768
CSP	1	486	LISP2	3	607	LSAP2	6	769
CSP	1	487	LISP2	3	608	LSAP2	6	770
CSP	1	488	LISP2	3	609	LSAP2	6	771
CSP	1	489	LISP2	3	610	LSAP2	6	772

[1330]

CSP	1	490	LISP2	3	611	LSAP2	6	773
CSP	1	491	LISP2	3	612	LSAP2	6	774
CSP	1	492	LISP2	3	613	LSAP2	6	775
CSP	1	493	LISP2	3	614	LSAP2	6	776
CSP	1	494	LISP2	3	615	LSAP2	6	777
CSP	1	495	LISP2	3	616	LSAP2	6	778
CSP	1	496	LISP2	3	617	LSAP2	6	779
CSP	1	497	LISP2	3	618	LSAP2	6	780
CSP	1	498	LISP2	3	619	LSAP2	6	781
CSP	1	499	LISP2	3	620	LSAP2	6	782
CSP	1	500	LISP2	3	621	LSAP2	6	783
CSP	1	501	LISP2	3	622	LSAP2	6	784
CSP	1	502	LISP2	3	623	LSAP2	6	785
LISP1	2	513	LISP2	3	624	LSAP2	6	786
LISP1	2	514	LISP2	3	625	LSAP2	6	787
LISP1	2	515	LISP2	3	626	LSAP2	6	788
LISP1	2	516	LISP2	3	627	LSAP2	6	789
LISP1	2	517	LISP2	3	628	LSAP2	6	790
LISP1	2	518	LISP2	3	629	LSAP2	6	791
LISP1	2	519	LISP2	3	630	LSAP2	6	792
LISP1	2	520	LISP2	3	631	LSAP2	6	793
LISP1	2	521	LISP2	3	632	LSAP2	6	794
LISP1	2	522	LISP2	3	633	LSAP2	6	795
LISP1	2	523	LISP2	3	634	LSAP2	6	796
LISP1	2	524	LISP2	3	635	LSAP2	6	797
LISP1	2	525	LISP2	3	636	TRAP	7	798
LISP1	2	526	LISP2	3	637	TRAP	7	799
LISP1	2	527	LSA-1a	4	638	TRAP	7	800
LISP1	2	528	LSA-1a	4	639	TRAP	7	801
LISP1	2	529	LSA-1a	4	640	TRAP	7	802
LISP1	2	530	LSA-1a	4	641	TRAP	7	803
LISP1	2	531	LSA-1a	4	642	TRAP	7	804
LISP1	2	532	LSA-1a	4	643	TRAP	7	805
LISP1	2	533	LSA-1a	4	644	TRAP	7	806
LISP1	2	534	LSA-1a	4	645	TRAP	7	807
LISP1	2	535	LSA-1a	4	646	TRAP	7	808
LISP1	2	536	LSA-1a	4	647	TRAP	7	809
LISP1	2	537	LSA-1a	4	648	TRAP	7	810
LISP1	2	538	LSA-1a	4	649	TRAP	7	811
LISP1	2	539	LSA-1a	4	650	TRAP	7	812
LISP1	2	540	LSA-1a	4	651	TRAP	7	813
LISP1	2	541	LSA-1a	4	652	TRAP	7	814
LISP1	2	542	LSA-1a	4	653	TRAP	7	815

[1331]

LISP1	2	543
LISP1	2	544
LISP1	2	545
LISP1	2	546
LISP1	2	547
LISP1	2	548
LISP1	2	549
LISP1	2	550
LISP1	2	551
LISP1	2	552
LISP1	2	553
LISP1	2	554
LISP1	2	555
LISP1	2	556
LISP1	2	557
LISP1	2	558
LISP1	2	559
LISP1	2	560
LISP1	2	561
LISP1	2	562
LISP1	2	563
LISP1	2	564
LISP1	2	565
LISP1	2	566
LISP1	2	567
LISP1	2	568
LISP1	2	569
LISP1	2	570
LISP1	2	571
LISP1	2	572
LISP1	2	573
LISP1	2	574
LISP1	2	575
LISP1	2	576
LISP1	2	577
LISP1	2	578
LISP1	2	579
LISP1	2	580
LISP1	2	581
LISP1	2	582
LISP1	2	583
LISP1	2	584

LSA-1a	4	654
LSA-1a	4	655
LSA-1a	4	656
LSA-1a	4	657
LSA-1a	4	658
LSA-1a	4	659
LSA-1a	4	660
LSA-1a	4	661
LSA-1a	4	662
LSA-1a	4	663
LSA-1a	4	664
LSA-1a	4	665
LSA-1a	4	666
LSA-1a	4	667
LSA-1a	4	668
LSA-1a	4	669
LSA-1a	4	670
LSA-1a	4	671
LSA-1a	4	672
LSA-1a	4	673
LSA-1a	4	674
LSA-1a	4	675
LSA-1a	4	676
LSA-1b	5	677
LSA-1b	5	678
LSA-1b	5	679
LSA-1b	5	680
LSA-1b	5	681
LSA-1b	5	682
LSA-1b	5	683
LSA-1b	5	684
LSA-1b	5	685
LSA-1b	5	686
LSA-1b	5	687
LSA-1b	5	688
LSA-1b	5	689
LSA-1b	5	690
LSA-1b	5	691
LSA-1b	5	692
LSA-1b	5	693
LSA-1b	5	694
LSA-1b	5	695

TRAP	7	816
TRAP	7	817
TRAP	7	818
TRAP	7	819
TRAP	7	820
TRAP	7	821
TRAP	7	822
TRAP	7	823
TRAP	7	824
TRAP	7	825
TRAP	7	826
TRAP	7	827
TRAP	7	828
TRAP	7	829
TRAP	7	830
TRAP	7	831
TRAP	7	832
TRAP	7	833
TRAP	7	834
TRAP	7	835
TRAP	7	836
TRAP	7	837
TRAP	7	838
TRAP	7	839
TRAP	7	840
TRAP	7	841
TRAP	7	842
TRAP	7	843
TRAP	7	844
TRAP	7	845
UIS3	8	846
UIS3	8	847
UIS3	8	848
UIS3	8	849
UIS3	8	850
UIS3	8	851
UIS3	8	852
UIS3	8	853
UIS3	8	854
UIS3	8	855
ETRAMP 10.3	9	856
ETRAMP 10.3	9	857

[1332]

LISP1	2	585	LSA-1b	5	696	ETRAMP 10.3	9	858
LISP1	2	586	LSA-1b	5	697	ETRAMP 10.3	9	859
LISP1	2	587	LSA-1b	5	698	ETRAMP 10.3	9	860
LISP1	2	588	LSA-1b	5	699	ETRAMP 10.3	9	861
LISP2	3	589	LSA-1b	5	700	ETRAMP 10.3	9	862
LISP2	3	590	LSA-1b	5	701	ETRAMP 10.3	9	863
LISP2	3	591	LSA-1b	5	702	ETRAMP 10.3	9	864
LISP2	3	592	LSA-1b	5	703	ETRAMP 10.3	9	865
LISP2	3	593	LSA-1b	5	704	ETRAMP 10.3	9	866
LISP2	3	594	LSA-1b	5	705	ETRAMP 10.3	9	867
LISP2	3	595	LSA-1b	5	706	ETRAMP 10.3	9	868
LISP2	3	596	LSA-1b	5	707	ETRAMP 10.3	9	869
LISP2	3	597	LSAP2	6	759	ETRAMP 10.3	9	870
LISP2	3	598	LSAP2	6	760	ETRAMP 10.3	9	871
LISP2	3	599	LSAP2	6	761	ETRAMP 10.3	9	872
LISP2	3	600	LSAP2	6	762			
LISP2	3	601	LSAP2	6	763			

[1333] 表12:针对每种T细胞肽串测试的肽池

[1334]

	CSP	LISP1	LISP2	LSA1a	LSA1b	LSAP2	TRAP	UIS3	ETRAMP10.3
RNA 构建体 50	X	X	X	X	X	X	X	X	X
RNA 构建体 51	X	X		X	X	X	X	X	X
RNA 构建体 52	X	X	X			X	X	X	X
RNA 构建体 53	X	X			X	X	X	X	X
RNA 构建体 48	X					X	X	X	X
RNA 构建体 57		X	X	X	X				

[1335] 如图4C中所示,在用构建体特异性抗原肽池刺激后,在来自用T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞中检测到产生IFN-γ的细胞。来自用2.5μg或5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约1000个斑点。来自用2.5μg或5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LISP2肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约250个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫

的小鼠的脾细胞在用LISP2肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约500个斑点,而来自用2.5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LSA1a肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约500个斑点。来自用2.5μg或5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LSA1b肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约250个斑点。相比之下,在用构建体特异性抗原肽池刺激检测到产生IFN-γ的细胞后,在来自用媒介物处理的小鼠的脾细胞中几乎检测不到产生IFN-γ的细胞。如图4F中所示,在用构建体特异性抗原肽池刺激后,在来自用2.5μg或5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞中检测到的产生IFN-γ的细胞之间存在近似线性的关系。这些实验表明,IFN-γ反应可以在较低剂量(即,2.5μg)的T细胞肽串RNA构建体57下诱导。

[1336] 如图4D中所示,在用构建体特异性抗原肽池刺激后,在来自用T细胞肽串RNA构建体48免疫的小鼠的脾细胞中检测到产生IFN-γ的细胞。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约100个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48免疫的小鼠的脾细胞在用LSAP2肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约400个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48免疫的小鼠的脾细胞在用TRAP肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约600个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48免疫的小鼠的脾细胞在用UIS3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约400个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48免疫的小鼠的脾细胞在用ETRAMP10.3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约100个斑点。相比之下,在用构建体特异性抗原肽池刺激后,在来自用媒介物处理的小鼠的脾细胞中几乎检测不到产生IFN-γ的细胞。

[1337] 如图4E中所示,在用构建体特异性抗原肽池刺激后,在来自用T细胞肽串RNA构建体48和57的组合免疫的小鼠的脾细胞中检测到产生IFN-γ的细胞。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用CSP肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约100个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约1500个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LISP2肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约500个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LSA1a肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约100个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LSA1b肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约1000个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LSAP2肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约1000个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用TRAP肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约500个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用UIS3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约500个斑点。来自用5μg T细胞肽串RNA构建体48和5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用ETRAMP10.3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约100个斑点。相比之下,在用构建体特异性抗原肽池刺激后,在来自用媒介物处理的小鼠的脾细胞中几乎检测不到产生IFN-γ的细胞。如图4G中所示,在用构建体特异性抗原肽池刺激后,在来自用T细胞肽串RNA构建体的组合(即,48和57)或单独的T细胞肽串RNA构

建体(即,48或57)免疫的小鼠的脾细胞中检测到产生IFN-γ的细胞是类似的。

[1338] 因此,本实施例证明,某些T细胞肽串构建体有效地诱导免疫反应,所述免疫反应的特征在于分泌促炎细胞因子(例如,IFN-γ)的T细胞的激活,例如采用ELISpot测定所评估。

[1339] 实施例3:示例性另外的肽串的免疫原性研究

[1340] 本发明进一步证明了本公开提供的某些T细胞肽串构建体诱导T细胞反应的能力,如在小鼠中所评估。

[1341] 将HLA-A2.1小鼠分成接受治疗的多个组(如图5A中所描绘),并用2.5μg或5μg的T细胞肽串构建体或注射媒介物进行肌内(IM)免疫。在实验结束时(第7天),收获脾细胞并冷冻保存。按照制造商的说明,使用小鼠IFN-γELISpot试剂盒(R&D Systems,EL485)将脾细胞与构建体特异性抗原肽池(列于表10和表11中)一起温育过夜,并评估IFN-γ反应(参见实施例4)。

[1342] 如图5C中所示,在用CSP、LISP1、LISP2、LSA1a、LSA1b、LSAP2、TRAP、UIS3或ETRAMP10.3肽池刺激后,在来自用媒介物处理的小鼠的脾细胞中没有检测到产生IFN-γ的细胞。如果在用构建体特异性肽池刺激后,与来自用媒介物处理的小鼠的脾细胞相比,在检测到产生IFN-γ的细胞方面有显著差异(如通过至少0.05的p值所确定),则来自用测试的T细胞肽串构建体免疫的小鼠的脾细胞被认为具有反应性。

[1343] 如图5D中所示,在用LISP1、LISP2、LSA1b、LSAP2、TRAP或UIS3肽池刺激后,在来自用5μg T细胞肽串RNA构建体50免疫的小鼠的脾细胞中检测到统计学上显著的产生IFN-γ的细胞,但用CSP、LSA1a或ETRAMP10.3刺激后则没有检测到。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体50免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1、LISP2、LSA1b、LSAP2、TRAP和UIS3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^2个斑点。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体50免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1刺激后具有最高的反应,每百万个脾细胞的斑点平均为约10^3个。

[1344] 如图5E中所示,在用LISP1、LSAP2、TRAP或UIS3肽池刺激后,在来自用5μg T细胞肽串RNA构建体51免疫的小鼠的脾细胞中检测到统计学上显著的产生IFN-γ的细胞,但用CSP、LSA1a、LSA1b或ETRAMP10.3刺激后则没有检测到。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体51免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1、LSAP2、TRAP和UIS3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^2个斑点。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体51免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1刺激后具有最高的反应,每百万个脾细胞的斑点平均为约10^3个。

[1345] 如图5F中所示,在用LISP1、LISP2、LSAP2、TRAP或UIS3肽池刺激后,在来自用5μg T细胞肽串RNA构建体52免疫的小鼠的脾细胞中检测到统计学上显著的产生IFN-γ的细胞,但用CSP或ETRAMP10.3刺激后则没有检测到。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体52免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1、LISP2、LSAP2、TRAP和UIS3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^2个斑点。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体52免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1刺激后具有最高的反应,每百万个脾细胞的斑点平均为约10^3个。

[1346] 如图5G中所示,在用所有包括的抗原肽池刺激后,在来自用5μg T细胞肽串RNA构建体53免疫的小鼠的脾细胞中检测到统计学上显著的产生IFN-γ的细胞。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体53免疫的小鼠的脾细胞在用CSP、LISP1、LSA1b、LSAP2、TRAP、UIS3或ETRAMP10.3肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^2个斑点。来自用测试的T细胞肽

串RNA构建体53免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1刺激后具有最高的反应,每百万个脾细胞的斑点平均为约10^3个。

[1347] 如图5H中所示,在用LSAP2和TRAP肽池刺激后,在来自用2.5μg T细胞肽串RNA构建体55免疫的小鼠的脾细胞中检测到统计学上显著的产生IFN-γ的细胞,但用CSP、UIS3或ETRAMP10.3刺激后则没有检测到。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体55免疫的小鼠的脾细胞在用LSAP2和TRAP肽池刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^2个斑点。

[1348] 如图5I中所示,在用LISP1、LISP2、LSA1b肽池刺激后,在来自用2.5μg T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞中检测到统计学上显著的产生IFN-γ的细胞,但用LSA1a肽池刺激后没有检测到。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1或LSA1b刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^3个斑点。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用LISP2刺激后每百万个脾细胞具有平均约10^2个斑点。

[1349] 如图5J中所示,在用所有包括的抗原肽池刺激后,在来自用2.5μg T细胞肽串RNA构建体55和2.5μg RNA构建体57的组合免疫的小鼠的脾细胞中检测到统计学上显著的产生IFN-γ的细胞。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体55和57的组合免疫的小鼠的脾细胞在用LISP1、LISP2或LSA1b刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^3个斑点。来自用测试的T细胞肽串RNA构建体55和57的组合免疫的小鼠的脾细胞在用CSP、LSA1a、LSAP2、TRAP、UIS3或ETRAMP10.3刺激后每百万个脾细胞具有平均至少约10^2个斑点。如图6A中所示,来自用T细胞肽串RNA构建体55和57的组合或单独用RNA构建体55或RNA构建体57免疫的小鼠的脾细胞在用CSP、LISP1、LISP2、LSA1a、LSA1b、LSAP2、TRAP、UIS3或ETRAMP10.3刺激后表现出类似的反应。如图7A中所示,来自用较短T细胞肽串RNA构建体(55和57)的组合免疫的小鼠的脾细胞与来自用较长T细胞肽串RNA构建体(50)免疫的小鼠的脾细胞(包括与组合的RNA构建体55和57中相同的抗原含量)相比在用CSP、LISP1、LISP2、LSA1a、LSA1b、LSAP2、TRAP、UIS3或ETRAMP10.3刺激后表现出增强的反应。

[1350] 因此,本实施例证明,某些T细胞肽串构建体有效地诱导免疫反应,所述免疫反应的特征在于分泌促炎细胞因子(例如,IFN-γ)的T细胞的激活,例如采用ELISpot测定所评估。

[1351] 总之,实施例2和3的体内免疫原性研究证实,RNA构建体55和57的组合内或RNA构建体48和57的组合内的所有抗原区段均引发T细胞反应。

[1352] 实施例4:编码肽串的示例性多核糖核苷酸的体外表达

[1353] 利用MS读数的体外表达研究表明RNA构建体55和57在转染到人细胞系中后表达。

[1354] 简言之,将HEK293T细胞用2.5μg的每种RNA构建体55和57共转染,并在24h后收获。将细胞在8M尿素中裂解,将样品的总蛋白质含量标准化,并使二硫键被还原和烷基化。在C18清除和通过MS进行平行反应监测分析之前,用LysC和胰蛋白酶消化裂解物中的蛋白质。在分析之前将重同位素标记的胰蛋白酶肽添加到样品中以帮助确认RNA构建体55和57来源的胰蛋白酶肽。

[1355] 在将组合转染到HEK293T细胞中后检测到RNA构建体55和57两者(图8)。

[1356] 总之,体外表达(图8)和免疫肽组学(图2L和2K)研究已经证实,RNA构建体55和57在转染到人细胞系中时被表达,并产生在HLA复合物上呈递的表位。

[1357] 实施例5:施用编码疟原虫T细胞串多肽构建体的示例性多核糖核苷酸之后在人体中的体内免疫原性

[1358] 本实施例证明,如本文所述,编码不同疟疾多肽的示例性多核糖核苷酸可以在人体中具有体内免疫原性。具体地,本实施例提供了随机的剂量递增试验,用于评估如本文提供的配制的RNA构建体及其组合的安全性、耐受性和免疫原性("A部分")。本实施例还提供了随机的剂量递增试验,用于评估如本文提供的配制的RNA构建体及其组合的功效("B部分")。

[1359] 本实施例中要评估的示例性配制的RNA构建体包括RNA构建体55和RNA构建体57的组合。

[1360] 纳入标准-A部分

[1361] 要纳入如本实施例中所述的试验的A部分的受试者:

[1362] i.年龄为18至55岁。

[1363] ii.体重指数在18.5kg/m^2以上和35kg/m^2以下,且初诊时体重为至少45kg("第0次就诊")。

[1364] iii.根据医疗从业人员(例如试验研究人员)基于报告的病史数据、体格检查、12导联心电图(ECG)、生命体征和临床实验室测试结果进行临床判断是健康的。可以包括患有预先存在的稳定疾病(例如,肥胖症、高血压等)的健康受试者,所述疾病被定义为疾病,但在第0次就诊前的三个月(例如,90天)期间不需要在治疗上显著改变或因疾病恶化而住院。

[1365] iv.同意从第0次就诊开始并直到接受配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后12周不参加另一项研究性药品("IMP")的试验。

[1366] v.从第0次就诊前6个月开始并连续直到接受配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后28天,没有旅行到并同意不前往根据疾病控制和预防中心(CDC)定义的疟疾流行地区旅行。

[1367] vi.在第0次就诊时人免疫缺陷病毒(HIV)-1和-2血液检测结果均呈阴性。

[1368] vii.在第0次就诊时乙肝表面抗原(HBsAg)检测结果为阴性,并且抗丙肝病毒(抗HCV)抗体为阴性,或者如果第0次就诊时抗HCV为阳性,则HCV PCR检测结果为阴性。

[1369] viii.如果受试者具有生育潜力,则受试者在第0次就诊时的血清β-人绒毛膜促性腺激素(β-HCG)妊娠检测结果为阴性,并且在每次施用配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合前的尿液妊娠检测结果为阴性。出生时为女性且已绝经或永久绝育的受试者不被认为具有生育潜力。

[1370] ix.如果受试者具有生育潜力,则受试者同意从第0次就诊开始实施高效形式的避孕措施,并连续直到接受配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后90天。

[1371] x.如果受试者具有生育潜力,则受试者同意从第0次就诊开始在试验期间不出于辅助生殖的目的捐献或冷冻保存卵子(卵细胞、卵母细胞),并连续直到接受配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后90天。

[1372] xi.如果受试者是男性,没有进行过输精管结扎术,并且与有生育潜力的伴侣性生活活跃,则同意从第0次就诊开始在试验期间使用避孕套,并与其具有生育潜力的性伴侣实施高效形式的避孕措施,并连续直到接受配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后90天。

[1373] xii.如果受试者是男性,则将从第0次就诊开始避免捐献精子,并连续直到接受配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后90天。

[1374] 排除标准-A部分

[1375] 具有以下情况的受试者被排除在本实施例描述的试验的A部分之外:

[1376] i.基于受试者报告的病史,有疟原虫寄生虫血症(任何种类)病史。

[1377] ii.在一生当中的任何时候曾经在根据CDC定义的疟疾流行地区连续居住超过6个月。

[1378] iii.从第0次就诊开始并连续直到接受配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后90天参与母乳喂养或打算怀孕或生孩子。

[1379] iv.对疫苗或对疫苗成分(如脂质)有任何严重不良反应的病史,并且包括过敏反应和相关症状(如荨麻疹、呼吸困难、血管性水肿和/或腹痛)的病史(不排除参与:作为儿童对百日咳疫苗有过敏性不良反应的受试者)。

[1380] v.以下医疗状况的存在或病史:

[1381] a.不受控制或中度或重度的呼吸系统疾病(例如,哮喘、慢性阻塞性肺病);如美国国家哮喘教育和预防计划专家小组报告,2020年中定义的哮喘严重程度的症状-例如,排除如下志愿者:

[1382] i.每天使用短效救援吸气器(通常为β2激动剂),或

[1383] ii.使用高剂量吸入的皮质类固醇(根据美国过敏哮喘和免疫学学会),或

[1384] iii.在过去的一年里有以下情况中的任一种:

[1385] 1.用口服/肠胃外皮质类固醇治疗的症状加重超过一次;或

[1386] 2.因哮喘需要住院或插管;

[1387] b.1型或2型糖尿病,包括单纯通过饮食控制或筛查时升高的血红蛋白A1C(HbA1c)≥6.5%(不排除:有孤立的妊娠期糖尿病史);

[1388] c.高血压:

[1389] i.如果一个人有高血压病史,或者在筛查期间检测到血压升高,则排除血压控制不好的情况。控制良好的血压定义为无论是否服用药物,收缩压始终≤140mm Hg,且舒张压始终≤90mm Hg,只有孤立短暂的较高读数的情况,这种情况在筛查和入选时必须是收缩压≤150mm Hg和舒张压≤100mm Hg;

[1390] d.筛查5年内的恶性肿瘤,不包括局部基底或鳞状细胞皮肤癌;

[1391] e.任何当前或历史的心血管疾病(例如,心肌炎、心包炎、心肌梗塞、充血性心力衰竭、心肌病变或有临床意义的心律失常),除非医疗从业人员(例如,研究人员)的判断不认为这种疾病与参与本试验有关。

[1392] f.筛查ECG异常(即,显示Fridericia校正的QT间期(QTcF)>150ms;显著的ST-T波变化提示心肌缺血或急性或不确定年龄的心肌梗塞;左心室肥大;任何非窦性心律,包括孤立的过早心室收缩;完全性右束支或左束支传导阻滞[QRS>120ms];二度或三度房室[AV]传导阻滞);或研究人员自行判断ECG上的其它有临床意义的异常;

[1393] g.医生诊断的出血病症(例如,需要特别预防措施的因子缺乏症、凝血病变或血小板病症);或

[1394] h.癫痫病症:过去3年内有癫痫病史。如果志愿者在过去3年内的任何时候为了预

防或治疗癫痫发作而服药,则也被排除在外。

[1395] vi.有记录的严重精神病,包括双相情感障碍、重度抑郁症、精神分裂症、自闭症和注意力缺陷-多动症,研究人员自行判断这些疾病可能会干扰试验概述的参与和随访。

[1396] vii.与免疫失调相关的以下疾病:

[1397] a.原发性免疫缺陷;

[1398] b.实体器官或骨髓移植病史;

[1399] c.无脾:导致缺乏功能性脾脏的任何病状;或

[1400] d.自身免疫性疾病的存在或病史,包括但不限于甲状腺自身免疫性疾病、多发性硬化、银屑病等。

[1401] viii.先前在任何时候用批准的或研究的疟疾疫苗进行过疫苗接种,或参加过人疟疾攻击研究。

[1402] ix.在第0次就诊前28天内收到任何研究产品。

[1403] x.任何计划的非试验性疫苗接种,从第0次就诊开始并连续直到配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量后28天。允许接种季节性流感和COVID-19疫苗;然而,它们应至少在任何IMP施用之前14天或之后28天施用。当有医学指征时,允许实施紧急疫苗接种,如破伤风。

[1404] xi.在第1次就诊前120天内接受血液/血浆制品、单克隆抗体或免疫球蛋白,或者从第0次就诊开始并连续直到第21次就诊计划施用(例如,施用第三剂量后365天)。

[1405] xii.在每次IMP施用之前和之后28天内接受用抗原注射的过敏治疗。

[1406] xiii.当前或计划的用免疫抑制疗法进行治疗,包括全身性皮质类固醇(如果以≥20mg/d的泼尼松或等效药物的剂量施用全身性皮质类固醇≥14天),从第0次就诊开始并连续直到配制的RNA构建体或配制的RNA构建体的组合的第三剂量。关节内、滑囊内或局部(皮肤或眼睛)皮质类固醇是允许的。

[1407] xiv.在第0次就诊前1年内有酒精滥用或药物成瘾史,或者有物质滥用史(在过去5年内),从医疗从业人员(例如,研究人员)的观点来看,如果他们作为受试者参与试验,这些可能会损害他们的健康,或者可能会阻止、限制或混淆方案指定的评估。

[1408] xv.可能影响疫苗注射和/或注射部位的局部反应评估的任何现有病状,例如纹身、严重疤痕等。

[1409] xvi.根据国际协调委员会(ICH)E6定义为易受伤害的个体,即愿意自愿参加临床试验的个体,可能会受到与参与相关的益处(无论是否合理)或在拒绝参与的情况下来自层次的资深成员的报复性反应的预期的不当影响。

[1410] xvii.在第0次就诊时符合医疗从业人员(例如,研究人员)自行判断的≥2级异常或1级异常的定义的任何筛查血液学和/或血液化学实验室值。具有毒性指南中未包括的异常但不具有临床意义的参数的受试者可根据医疗从业人员(例如,研究人员)自行判断认为是合格的。

[1411] 试验-A部分

[1412] 在A部分中,在3剂量方案中以不同的剂量组合评估RNA构建体55和RNA构建体57的组合,以选择安全、耐受和免疫原性的剂量组合,并评估第三剂量对免疫原性的影响。

[1413] 为了评估组合的安全性、耐受性和免疫原性,给受试者施用RNA构建体55和RNA构

建体57。评估采用交错的剂量递增方案,各组群中均有先遣受试者。还评估了接受等渗NaCl溶液(0.9%)的安慰剂组群。

[1414] 在第1天对受试者施用包含RNA构建体55和RNA构建体57的组合物的第一剂量。大约八周后,对受试者施用组合物的第二剂量。在第二剂量后大约18周施用第三剂量。

[1415] 在每次给药后,对受试者进行以下主要结果测量的评估:

[1416] i.在每个剂量后长达7天记录的注射部位的非自发局部反应(例如,疼痛、红斑/发红和/或硬结/肿胀)的频率;

[1417] ii.在每个剂量后长达7天记录的非自发全身反应(呕吐、腹泻、头痛、疲劳、肌肉/关节疼痛和发烧)的频率;

[1418] iii.在每个剂量后直到28天受试者出现至少一种AE的频率;和

[1419] iv.在每个剂量后直到28天受试者出现至少一种需接受医疗处理的不良事件(MAAE)的频率。

[1420] 对受试者进行评估以确定受试者在直到第三剂量后24周出现至少一种SAE的频率。

[1421] 获得在评估的各时间点的抗体水平的描述性统计数据。

[1422] 等效方案

[1423] 本领域技术人员将认识到或仅使用常规实验就能够确定本文所述的技术的特定实施方案的许多等效方案。本公开的范围并不意图限于上文具体实施方式,而是如以下权利要求书中所陈述。

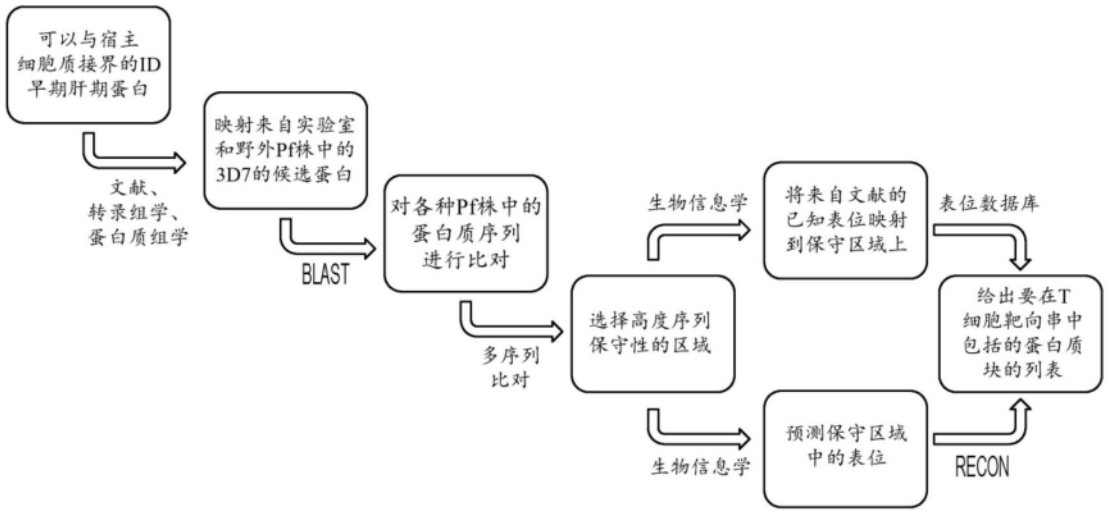

可以与宿主细胞质接界的ID早期肝期蛋白
文献、转录组学、蛋白质组学
映射来自实验室和野外Pf株中的3D7的候选蛋白
BLAST
对各种Pf株中的蛋白质序列进行比对
多序列比对
选择高度序列保守性的区域
生物信息学
将来自文献的已知表位映射到保守区域上
表位数据库
给出要在T细胞靶向串中包括的蛋白质块的列表
生物信息学
预测保守区域中的表位
RECON

图1

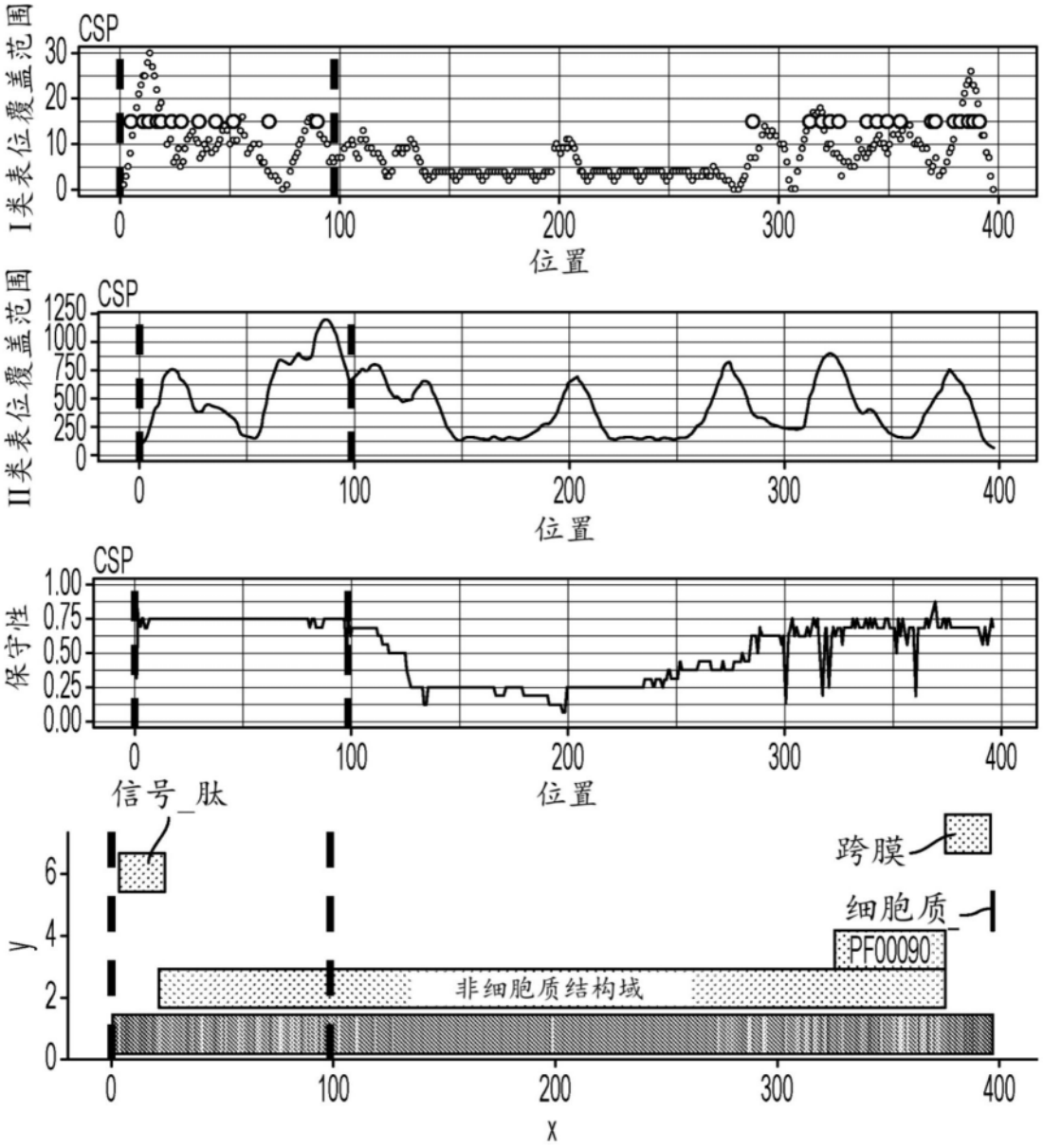

CSP
I类表位覆盖范围
30
20
10
0
0
100
200
300
400
位置
CSP
II类表位覆盖范围
1250
1000
750
500
250
0
0
100
200
300
400
位置
CSP
保守性
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
100
200
300
400
位置
信号_肽
跨膜
细胞质
PF00090
非细胞质结构域
y
6
4
2
0
0
100
200
300
400
x

图2A

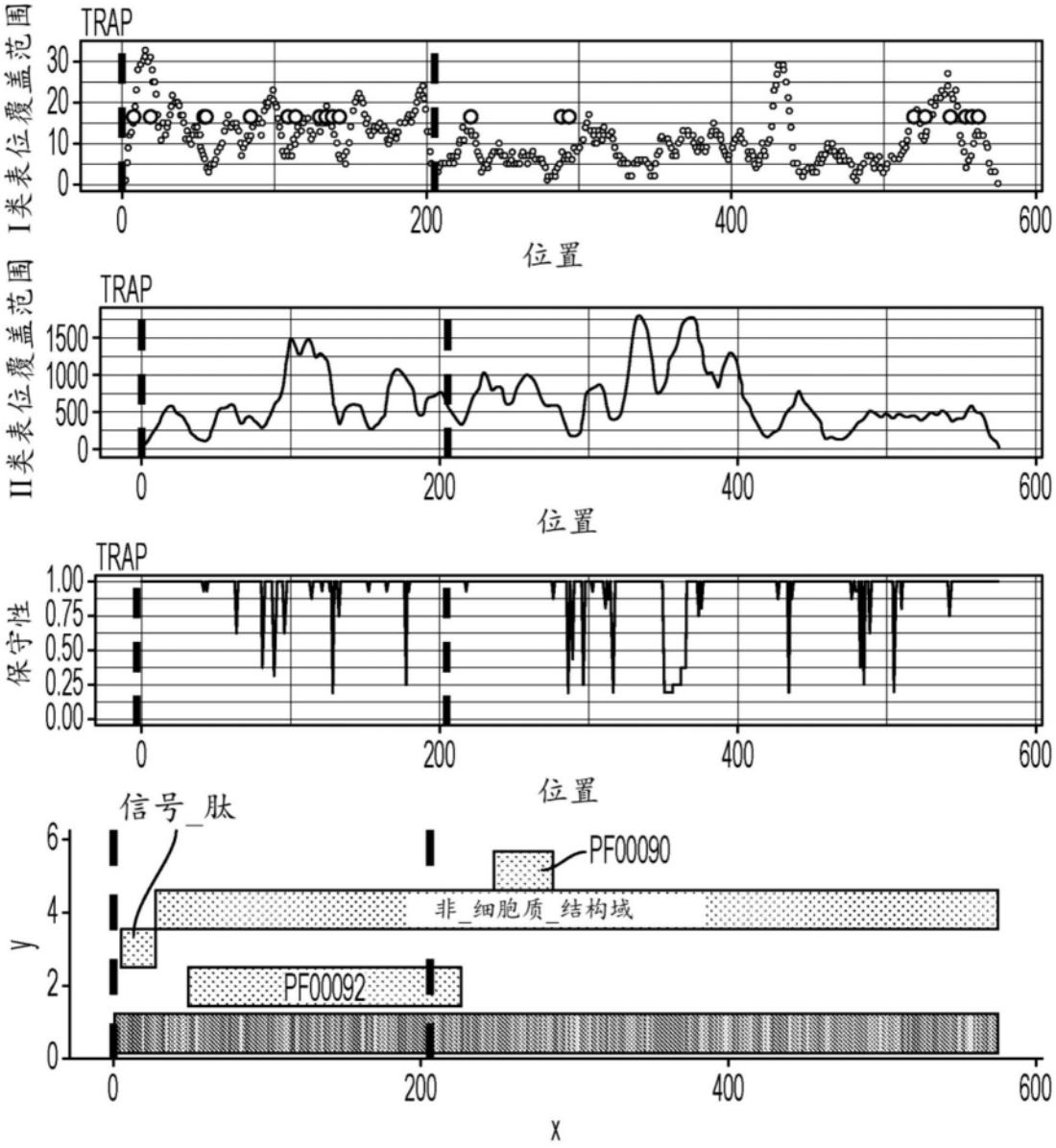

TRAP
I类表位覆盖范围
位置
TRAP
II类表位覆盖范围
位置
TRAP
保守性
位置
信号_肽
PF00090
非_细胞质_结构域
PF00092
y
x

图2B

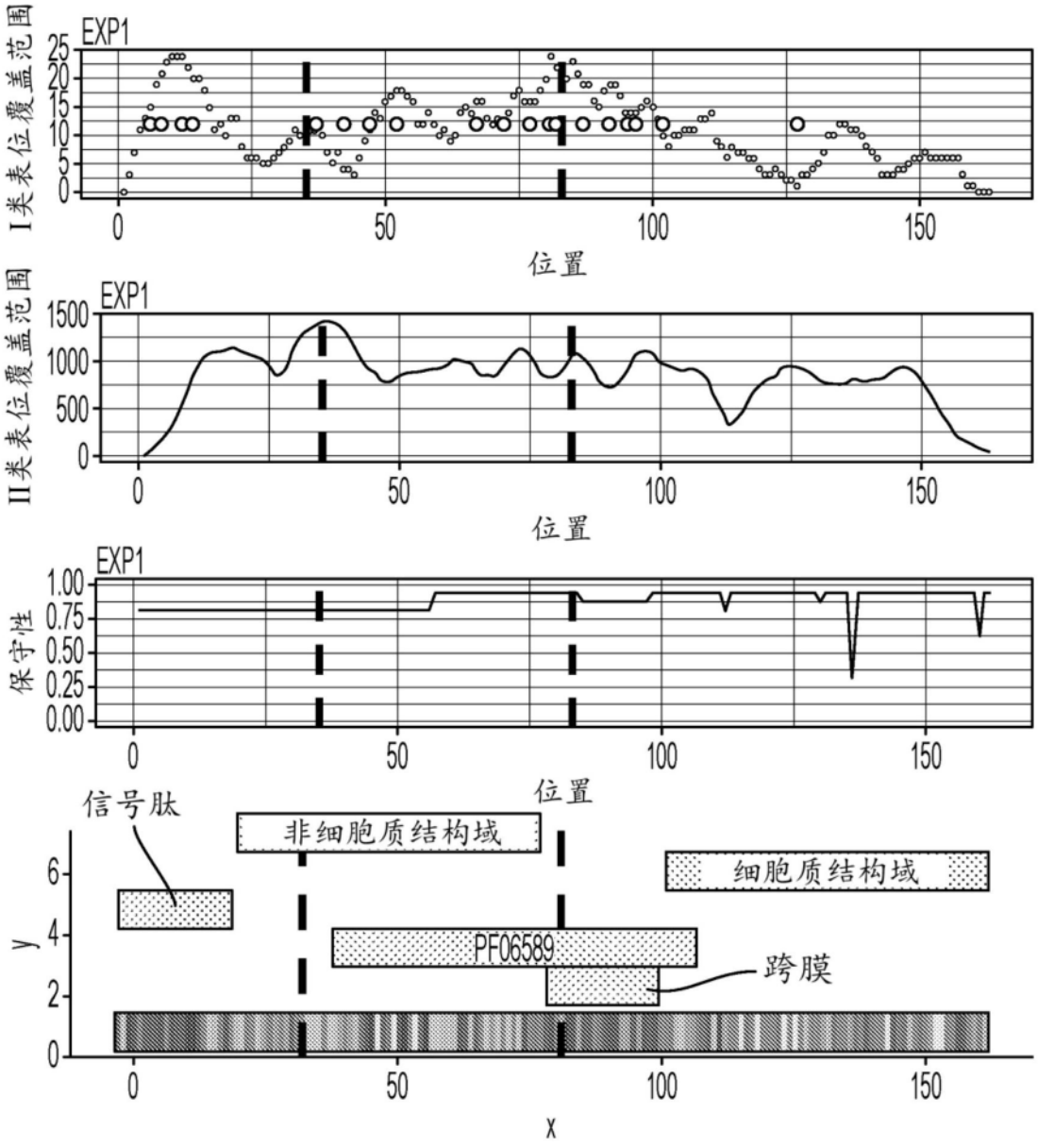

I类表位覆盖范围
EXP1
位置
II类表位覆盖范围
EXP1
位置
保守性
EXP1
位置
信号肽
非细胞质结构域
细胞质结构域
PF06589
跨膜
y
x

图2C

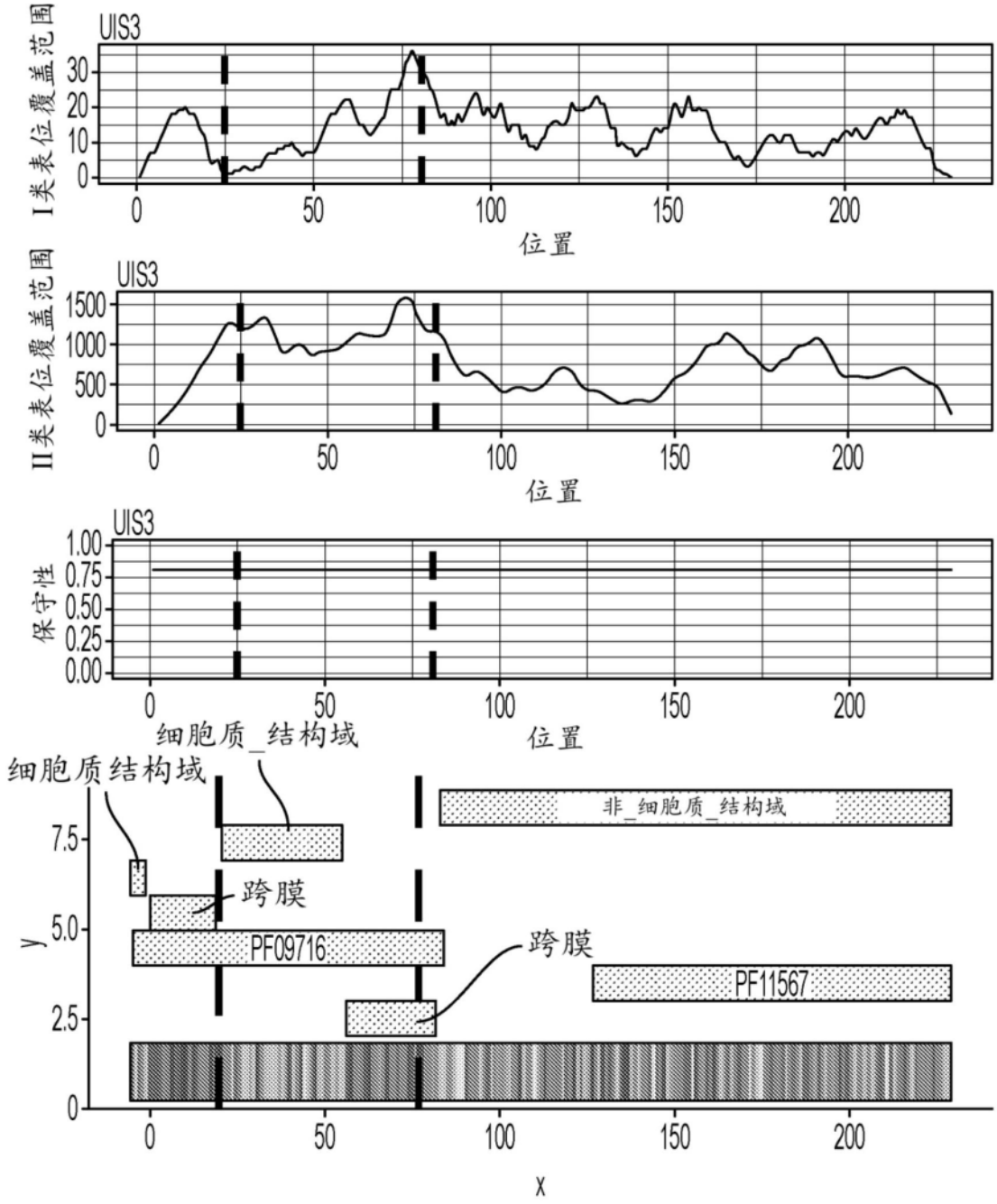

UIS3
I类表位覆盖范围
位置
UIS3
II类表位覆盖范围
位置
UIS3
保守性
细胞质_结构域
位置
细胞质结构域
非_细胞质_结构域
跨膜
PF09716
跨膜
PF11567
y
x

图2D

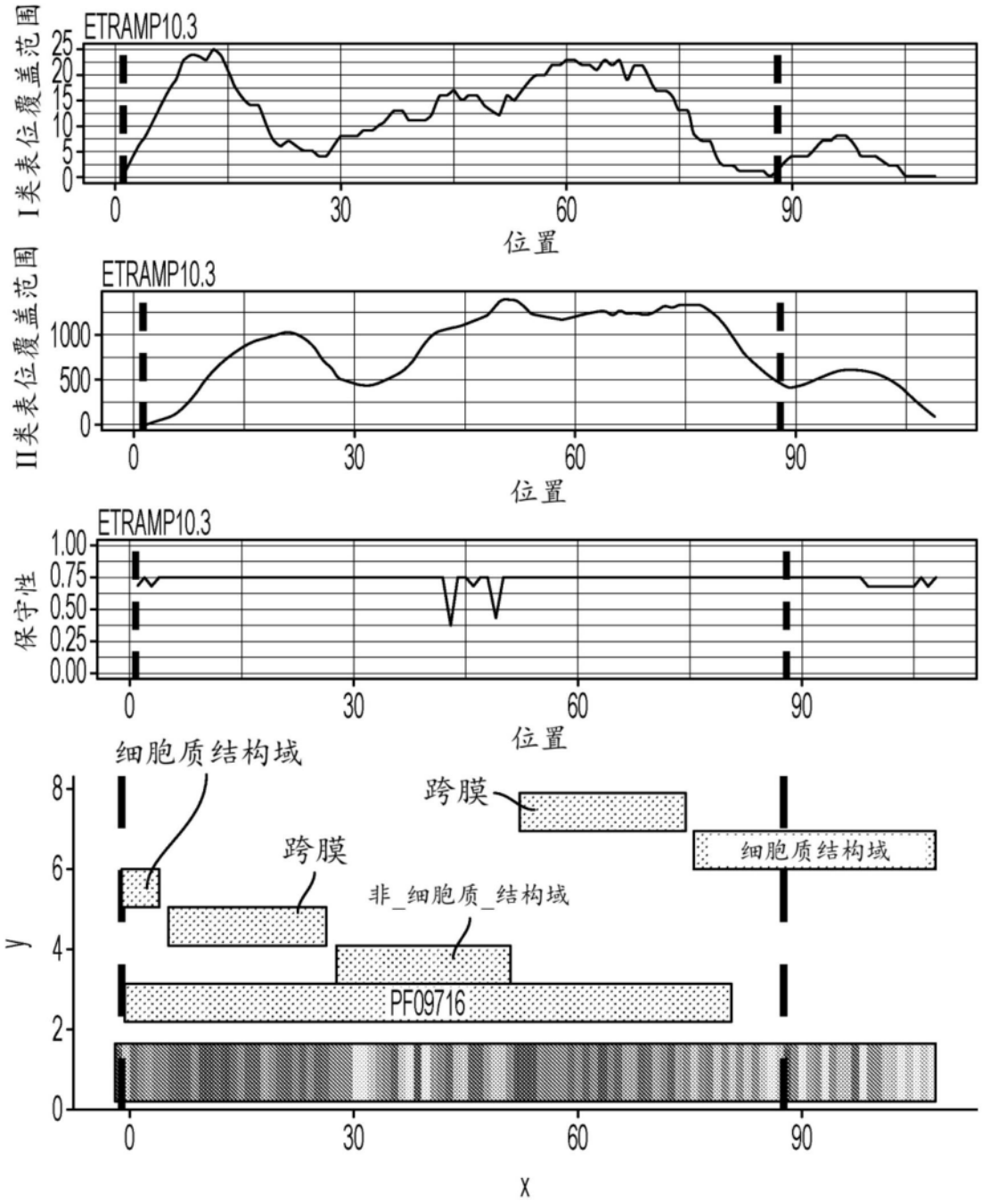

ETRAMP10.3
I类表位覆盖范围
位置
ETRAMP10.3
II类表位覆盖范围
位置
ETRAMP10.3
保守性
位置
细胞质结构域
跨膜
跨膜
细胞质结构域
非_细胞质_结构域
PF09716
y
x

图2E

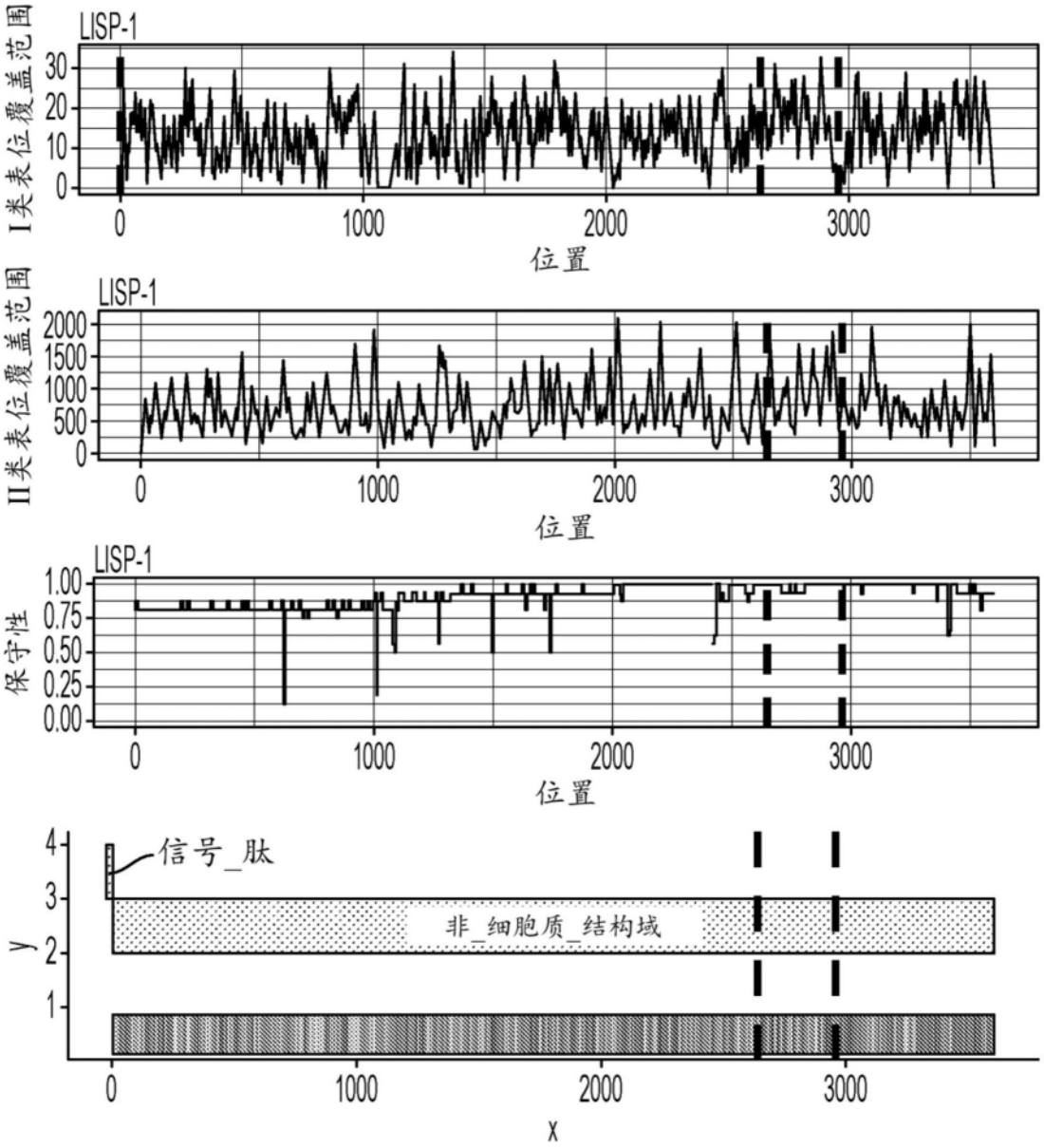

LISP-1
I类表位覆盖范围
30
20
10
0
0
1000
2000
3000
位置
LISP-1
II类表位覆盖范围
2000
1500
1000
500
0
0
1000
2000
3000
位置
LISP-1
保守性
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
1000
2000
3000
位置
信号_肽
非_细胞质_结构域
y
4
3
2
1
0
1000
2000
3000
X

图2F

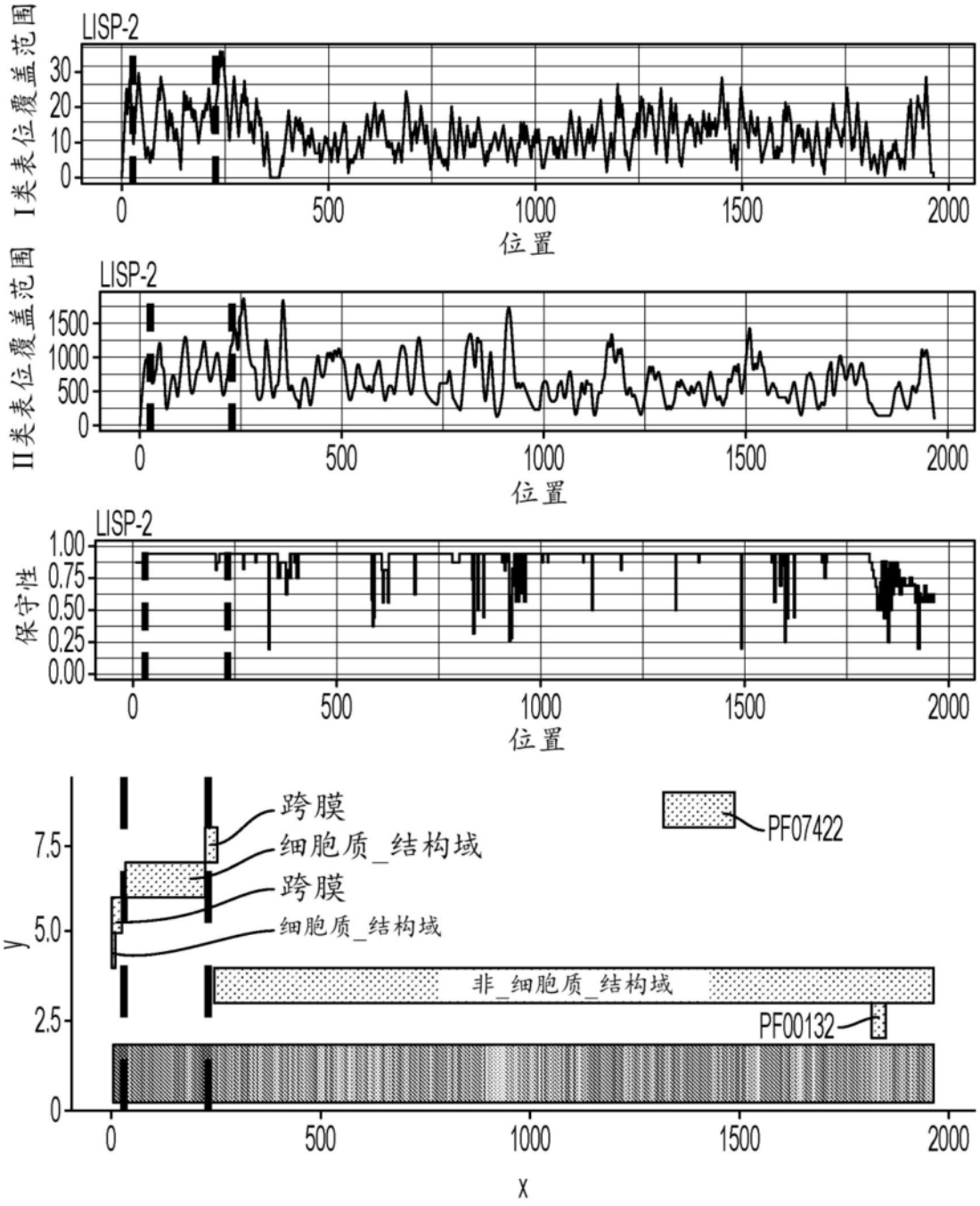

LISP-2
I类表位覆盖范围
位置
LISP-2
II类表位覆盖范围
位置
LISP-2
保守性
位置
跨膜
细胞质_结构域
跨膜
细胞质_结构域
PF07422
非_细胞质_结构域
PF00132
y
x

图2G

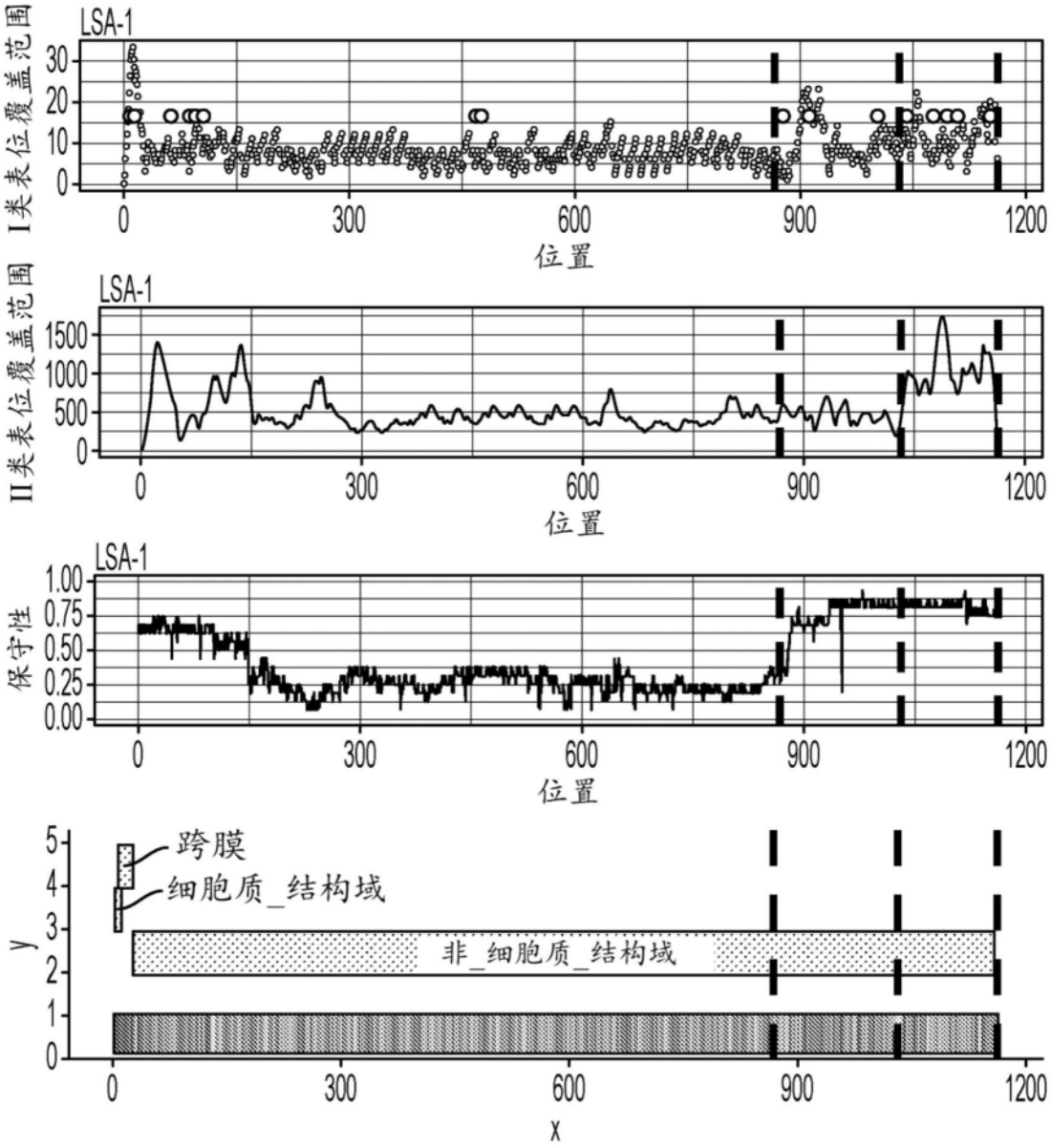

LSA-1
I类表位覆盖范围
30
20
10
0
0
300
600
900
1200
位置
LSA-1
II类表位覆盖范围
1500
1000
500
0
0
300
600
900
1200
位置
LSA-1
保守性
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
300
600
900
1200
位置
跨膜
细胞质_结构域
非_细胞质_结构域
y
5
4
3
2
1
0
0
300
600
900
1200
x

图2H

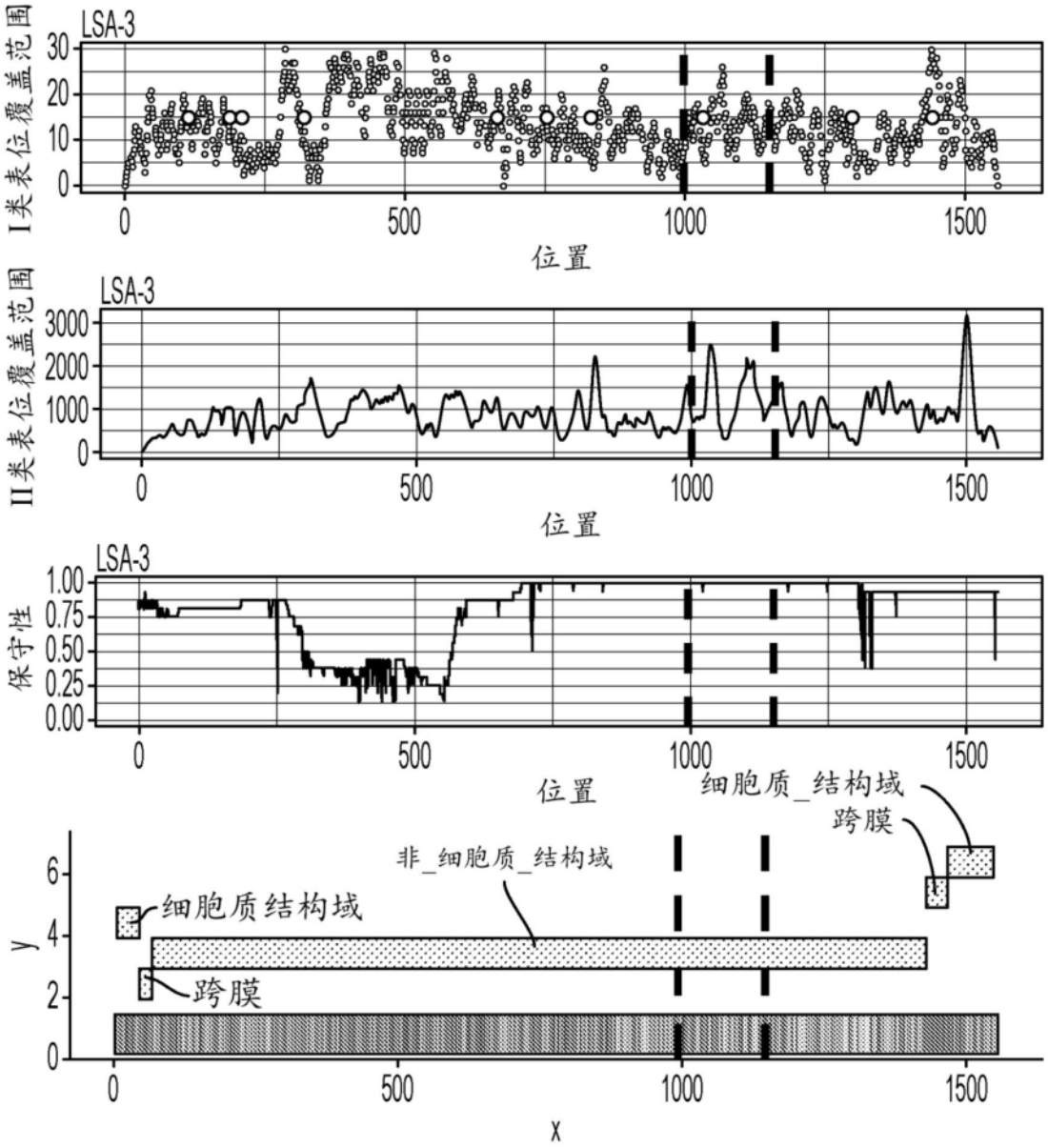

LSA-3
I类表位覆盖范围
30
20
10
0
0
500
1000
1500
位置
LSA-3
II类表位覆盖范围
3000
2000
1000
0
0
500
1000
1500
位置
LSA-3
保守性
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
500
1000
1500
位置
细胞质_结构域
跨膜
非_细胞质_结构域
细胞质结构域
跨膜
y
6
4
2
0
0
500
1000
1500
x

图2I

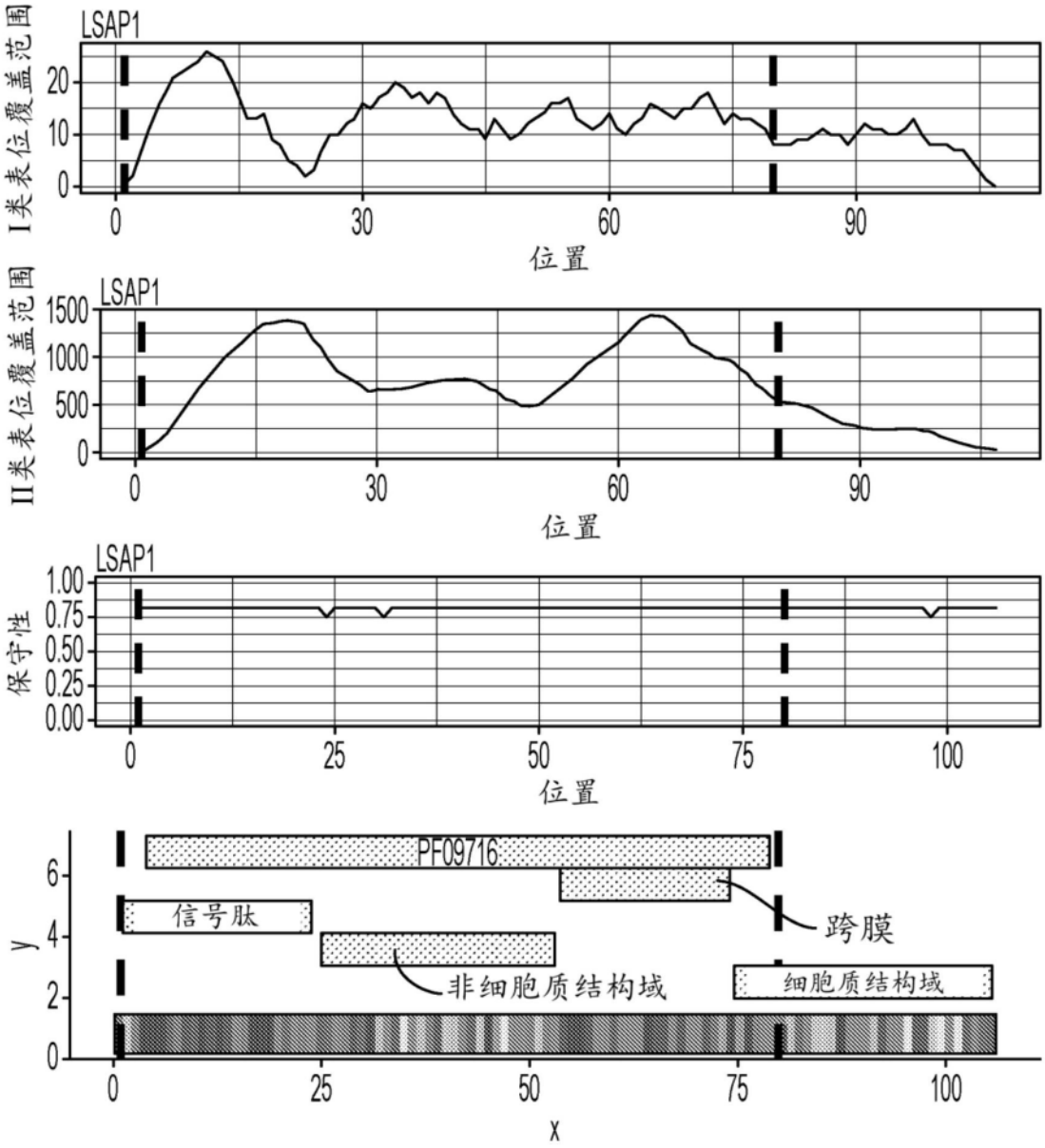

LSAP1
I类表位覆盖范围
20
10
0
0
30
60
90
位置
LSAP1
II类表位覆盖范围
1500
1000
500
0
0
30
60
90
位置
LSAP1
保守性
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
25
50
75
100
位置
PF09716
信号肽
跨膜
非细胞质结构域
细胞质结构域
y
6
4
2
0
0
25
50
75
100
x

图2J

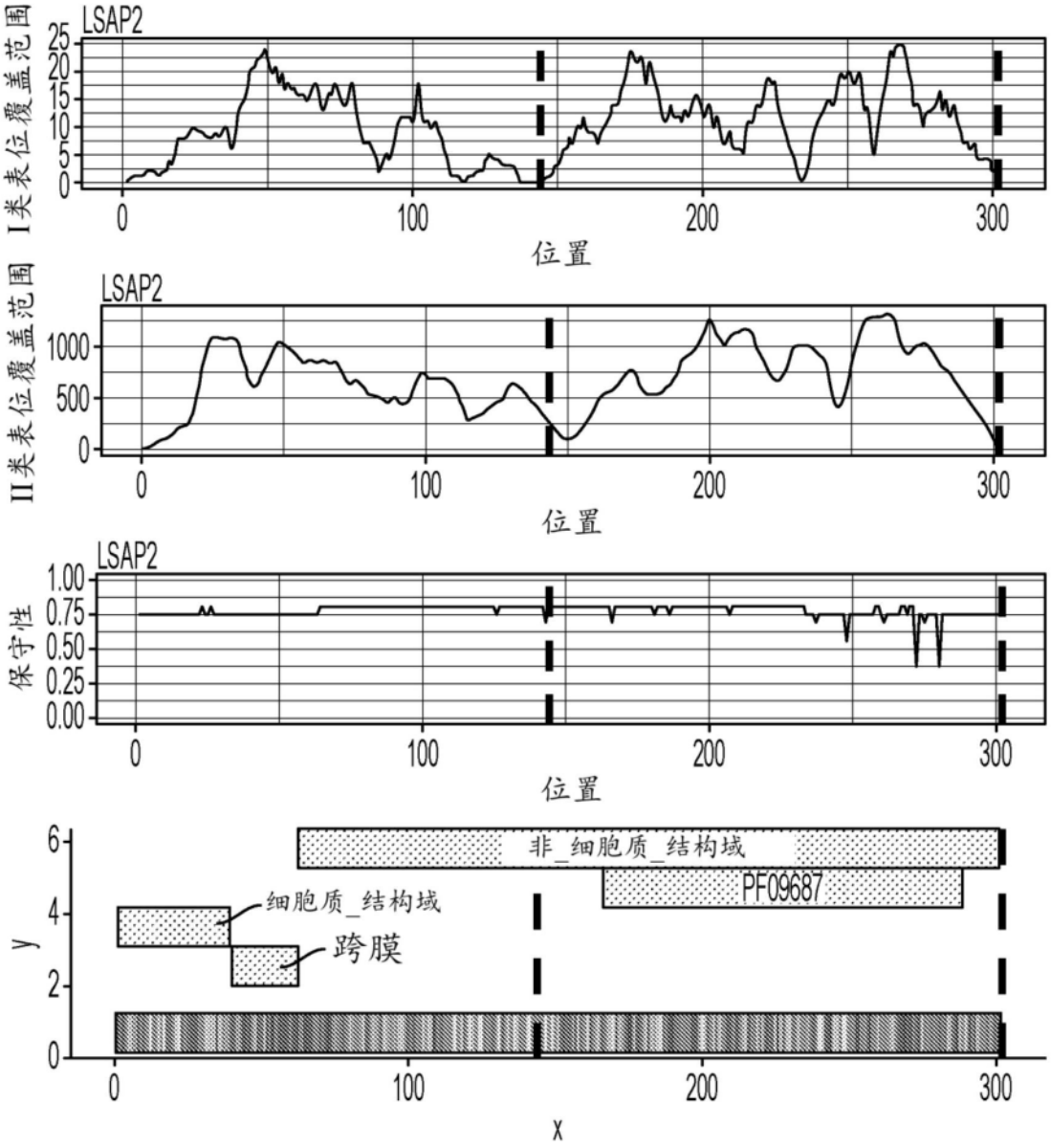

LSAP2
I类表位覆盖范围
位置
LSAP2
II类表位覆盖范围
位置
LSAP2
保守性
位置
非_细胞质_结构域
PF09687
细胞质_结构域
跨膜
y
x

图2K

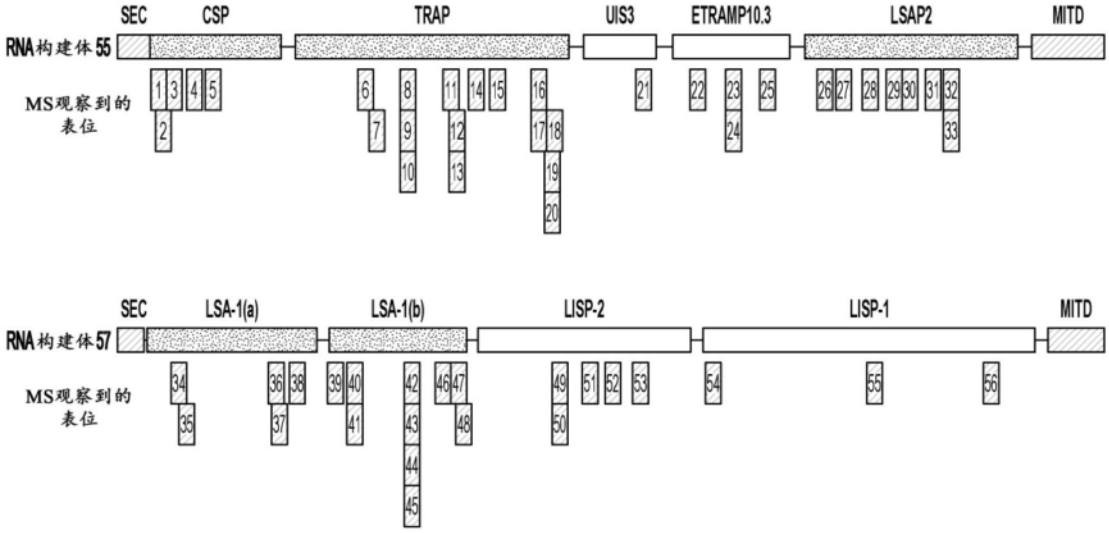

SEC
CSP
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3
LSAP2
MITD
RNA构建体55
MS观察到的表位
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33
SEC
LSA-1(a)
LSA-1(b)
LISP-2
LISP-1
MITD
RNA构建体57
MS观察到的表位
34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56

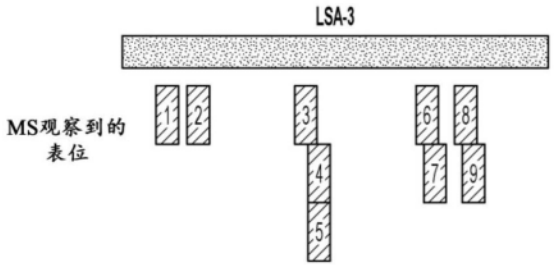
图2L

标签	构建体编号	抗原	序列	等位基因	开始	结束
1	55	CSP	AILSVSSFL	A0201	31	39
2	55	CSP	LSVSSFLF	A0101	33	40
3	55	CSP	FVEALFQEY	A0101	40	48
4	55	CSP	GSSSNTRVL	C1601/C0602	52	60
5	55	CSP	ELNYDNAGTNLY	A0101	62	73
6	55	TRAP	LLMDCSGSI	A0201	183	191
7	55	TRAP	GSIRRHNW	B5701	189	196
8	55	TRAP	NLNDNAIHL	A0201	212	220
9	55	TRAP	NLNDNAIHLY	A0101	212	221
10	55	TRAP	LNDNAIHLY	A0101	213	221
11	55	TRAP	ALIIIKSLL	A0201	246	254
12	55	TRAP	SLLSTNLPY	A0301	252	260
13	55	TRAP	SLLSTNLPYGK	A0301	252	262
14	55	TRAP	NLTDALLQV	A0201	264	272
15	55	TRAP	HLNDRINRENANQ	A0201	275	287
16	55	TRAP	KLSDRGVKI	A0201	309	317
17	55	TRAP	KLSDRGVKIAV	A0201	309	319
18	55	TRAP	AVFGIGQGINV	A0201	318	328
19	55	TRAP	AVFGIGQGINVA	A0201	318	329
20	55	TRAP	FGIGQGINV	A0201	320	328
21	55	UIS3	SLIASGAIASV	A0201	388	398
22	55	ETRAMP10.3	SLLGCVLTL	A0201	430	438
23	55	ETRAMP10.3	RTLEKLLRK	A0301	455	463
24	55	ETRAMP10.3	RTLEKLLRKK	A0301	455	464
25	55	ETRAMP10.3	GLFGSLGYK	A0301	481	489
26	55	LSAP2	GLKPSDLNRK	A0301	525	534
27	55	LSAP2	VTEEDLERM	A0101	535	543
28	55	LSAP2	LIWHYSHSL	A0201	558	566

图2L续

标签	构建体编号	抗原	序列	等位基因	开始	结束
29	55	LSAP2	SLWSICGKL	A0201和A0301	577	585
30	55	LSAP2	LAHEHKLPF	C1601	585	593
31	55	LSAP2	HVTDELLIK	C1601	606	614
32	55	LSAP2	HDDYNSIY	A0101	616	623
33	55	LSAP2	HDDYNSIYNY	A0101	616	625
34	57	LSA-1(a)	HGDVLAEDLY	A0101	58	67
35	57	LSA-1(a)	VLAEDLYGRL	A0201	61	70
36	57	LSA-1(a)	KSADIQNHTL	B5701	149	158
37	57	LSA-1(a)	IQNHTLETV	A0201	153	161
38	57	LSA-1(a)	ISDVNDFQISKY	A0101	163	174
39	57	LSA-1(b)	DEFKPIVQY	B4403	207	215
40	57	LSA-1(b)	FQDEENIGI	A0201	218	226
41	57	LSA-1(b)	FQDEENIGIY	A0101	218	227
42	57	LSA-1(b)	KSLYDEHIKKY	B5701	278	288
43	57	LSA-1(b)	SLYDEHIKK	A0301和A0201	279	287
44	57	LSA-1(b)	SLYDEHIKKYK	A0301	279	289
45	57	LSA-1(b)	YDEHIKKY	A0101	281	288
46	57	LSA-1(b)	HIFDGDNEILQI	A0201	307	318
47	57	LSA-1(b)	IVDELSEDITKY	A0101	318	329
48	57	LSA-1(b)	SEDITKYFM	B4403	323	331
49	57	LISP-2	ALNIHVMSK	A0301	418	426
50	57	LISP-2	ALNIHVMSKY	A0301	418	427
51	57	LISP-2	NVENRINNISNHY	A0101	446	458
52	57	LISP-2	RLFFLLFYK	A0301	468	476
53	57	LISP-2	KIYYKTKHFEK	A0301	494	504
54	57	LISP-1	YTVGDVLRY	A0101	564	572
55	57	LISP-1	SIYIFHEKK	A0301	716	724
56	57	LISP-1	KIFGCITNK	A0301	828	836

图2L续



标签	抗原	序列	等位基因	开始	结束
1	LSA-3	KLIEETQEL	A0201	13	21
2	LSA-3	VEADLIKDM	B4403	24	32
3	LSA-3	EEHDITTTL	B4403	63	71
4	LSA-3	TTLDEVVEL	A0201	69	77
5	LSA-3	TLDEVVEL	A0201	70	77
6	LSA-3	ELESEILEDY	A0101	107	116
7	LSA-3	LESEILEDY	A0101	108	116
8	LSA-3	KTIETDILEEK	A0301	120	130
9	LSA-3	ETDILEEKK	A0101	123	131

图2M

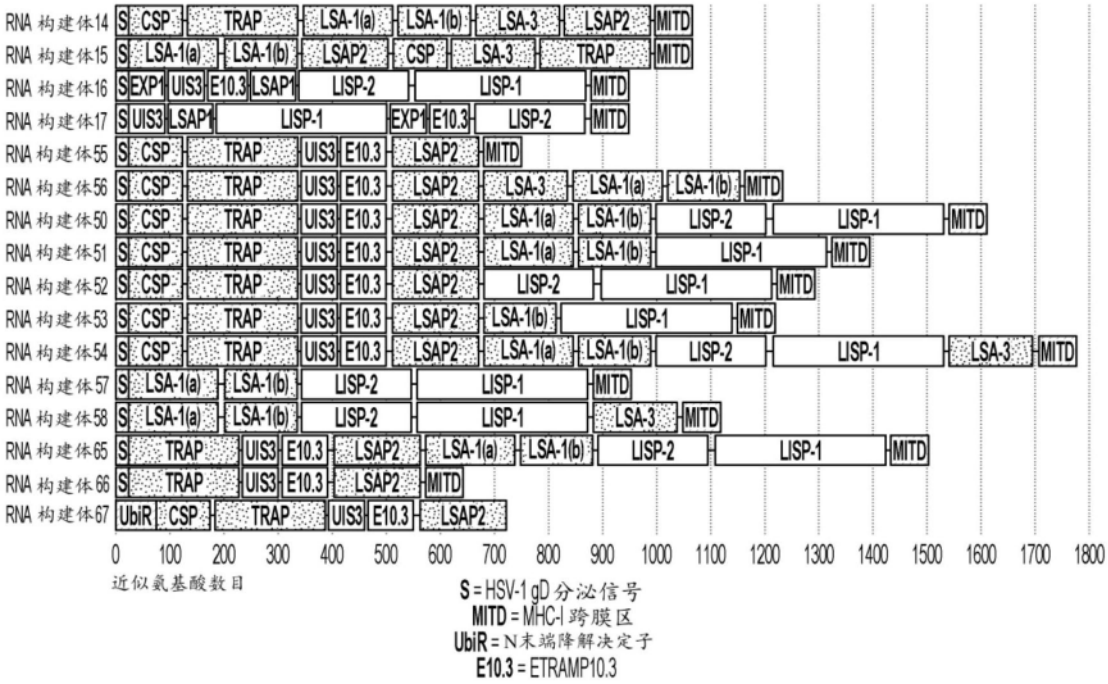
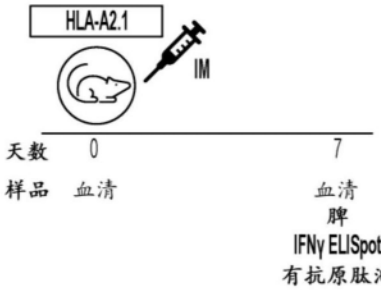


图3



组#	量	构建体编号	串示意图
G1	2.5ug	RNA 构建体 57	S LSA-1(a) LSA-1(b) LISP-2 LISP-1 MITD
G2	5ug	RNA 构建体 57	S LSA-1(a) LSA-1(b) LISP-2 LISP-1 MITD
G3	5ug	RNA 构建体 48	S CSP TRAP UIS3 E10.03 LSAP2 MITD
G4	2.5ug 2.5ug	RNA 构建体 48 + RNA 构建体 57	S CSP TRAP UIS3 E10.03 LSAP2 MITD + S LSA-1(a) LSA-1(b) LISP-2 LISP-1 MITD
G5	0ug	媒介物	仅媒介物

图4A

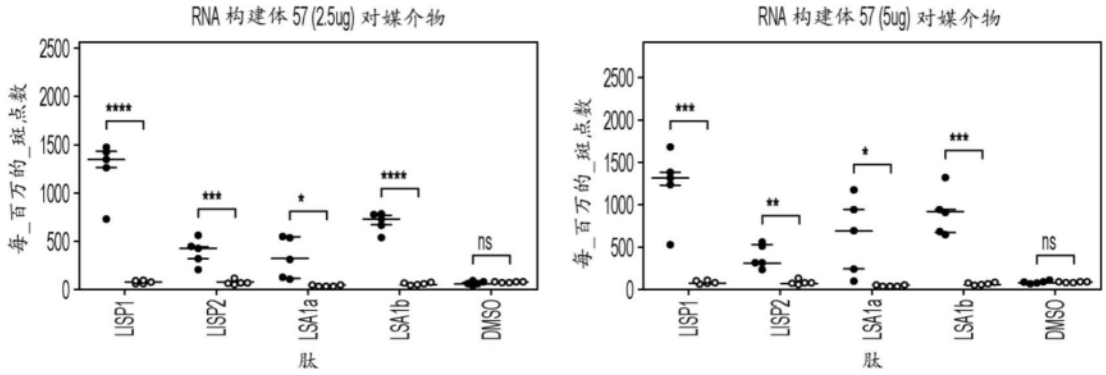


图4B

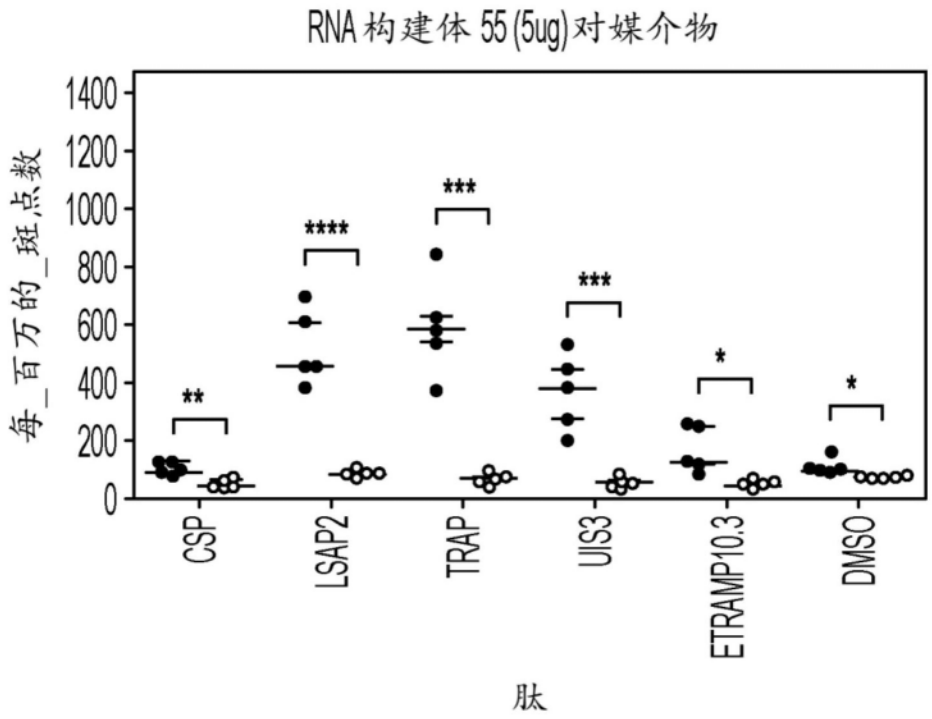

RNA构建体55(5ug)对媒介物
每_百万的_斑点数
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
**
****
***
***
*
*
CSP
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3
DMSO
肽

图4C

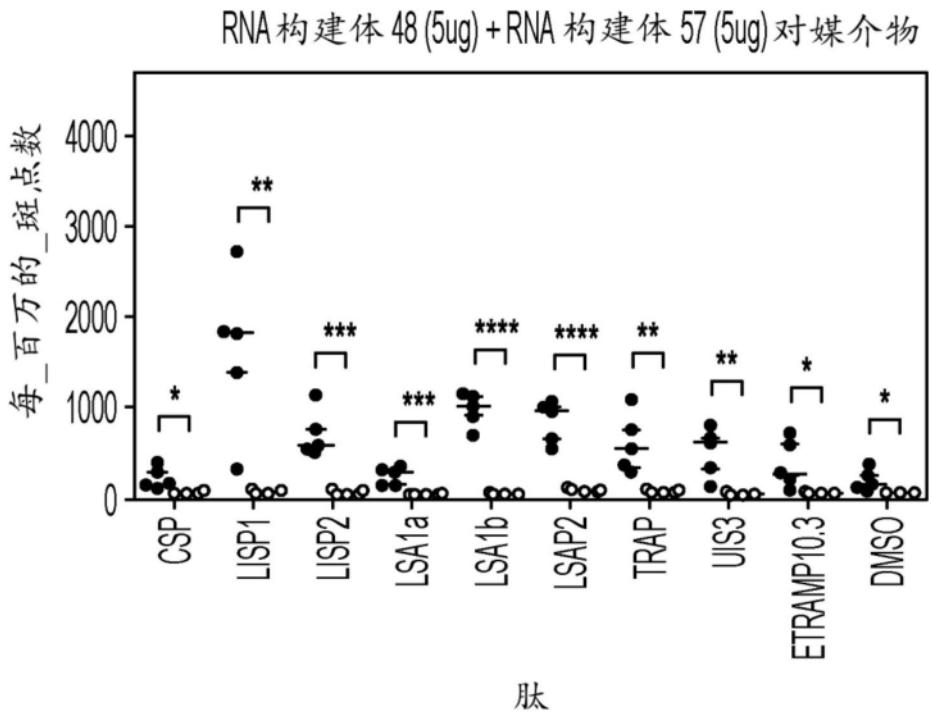

RNA构建体48(5ug)+RNA构建体57(5ug)对媒介物
每_百万的_斑点数
4000
3000
2000
1000
0
*
**
***
***
****
****
**
**
*
*
CSP
LISP1
LISP2
LSA1a
LSA1b
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3
DMSO
肽

图4D

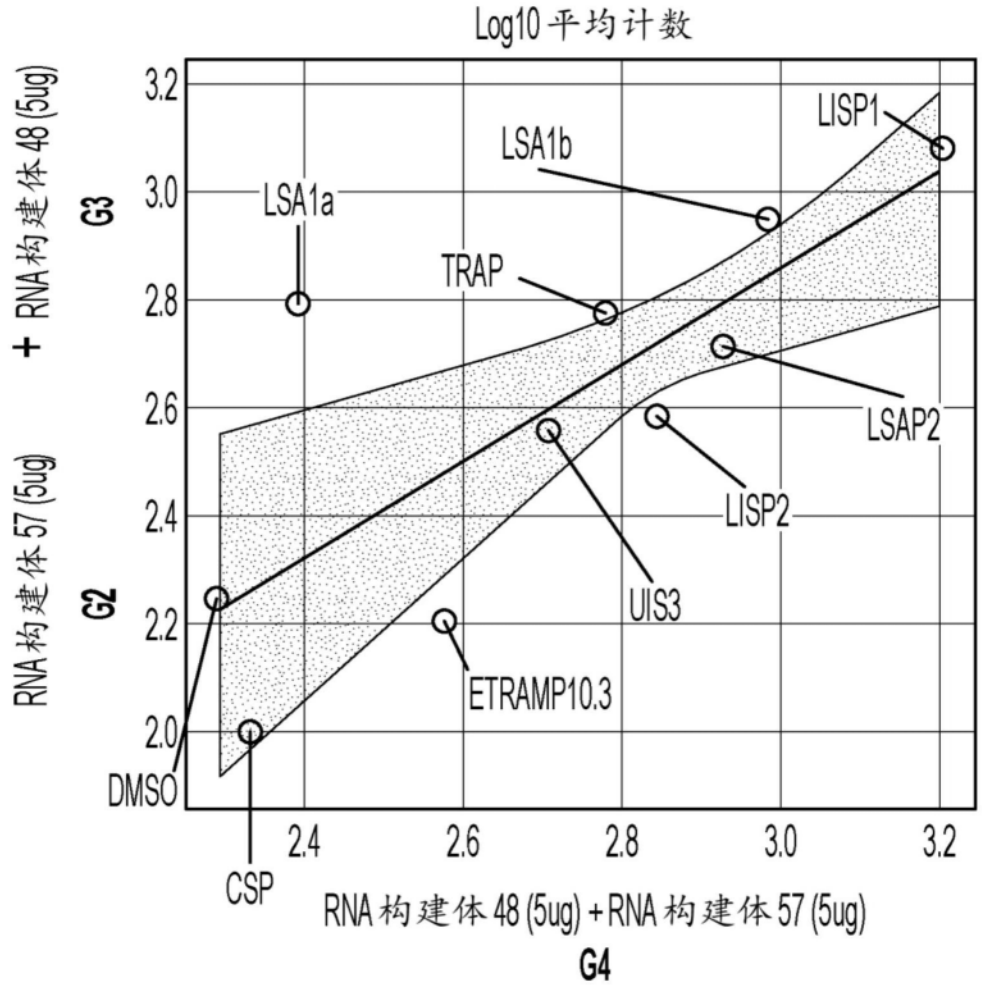

Log10 平均计数
RNA 构建体 48 (5ug) + RNA 构建体 57 (5ug)
G3
G2
G4
3.2
3.0
2.8
2.6
2.4
2.2
2.0
2.4
2.6
2.8
3.0
3.2
LISP1
LSA1b
LSA1a
TRAP
LSAP2
LISP2
UIS3
ETRAMP10.3
DMSO
CSP
RNA 构建体 48 (5ug) + RNA 构建体 57 (5ug)

图4E

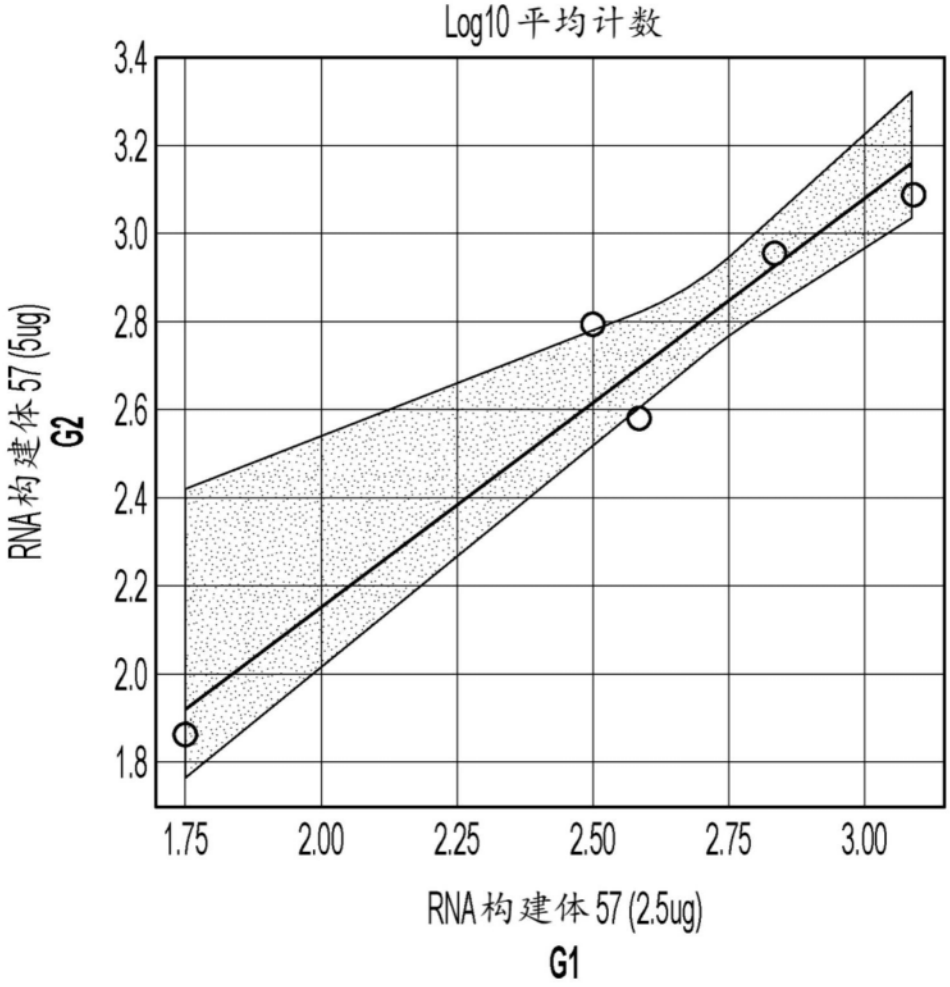
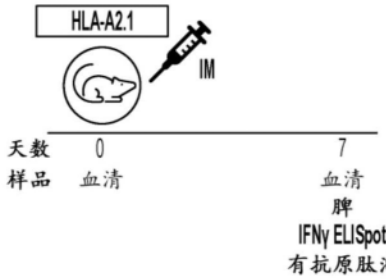

Log10 平均计数
3.4
3.2
3.0
2.8
2.6
2.4
2.2
2.0
1.8
RNA 构建体 57 (5ug)
G2
1.75
2.00
2.25
2.50
2.75
3.00
RNA 构建体 57 (2.5ug)
G1

图4F



组#	量	构建体编号	串示意图
G1	5ug	RNA构建体50	S CSP TRAP UIS3 E10.3 LSAP2 LSA-1(a) LSA-1(b) LISP-2 LISP-1 MITD
G2	5ug	RNA构建体51	S CSP TRAP UIS3 E10.3 LSAP2 LSA-1(a) LSA-1(b) LISP-1 MITD
G3	5ug	RNA构建体52	S CSP TRAP UIS3 E10.3 LSAP2 LISP-2 LISP-1 MITD
G4	5ug	RNA构建体53	S CSP TRAP UIS3 E10.3 LSAP2 LSA-1(a) LISP-1 MITD
G5	2.5ug	RNA构建体55	S CSP TRAP UIS3 E10.3 LSAP2 MITD
G6	2.5ug	RNA构建体57	S LSA-1(a) LSA-1(b) LISP-2 LISP-1 MITD
G7	2.5ug RNA构建体55 + 2.5ug RNA构建体57		S CSP TRAP UIS3 E10.3 LSAP2 MITD + S LSA-1(a) LSA-1(b) LISP-2 LISP-1 MITD
G8	0ug	媒介物	仅媒介物

图5A

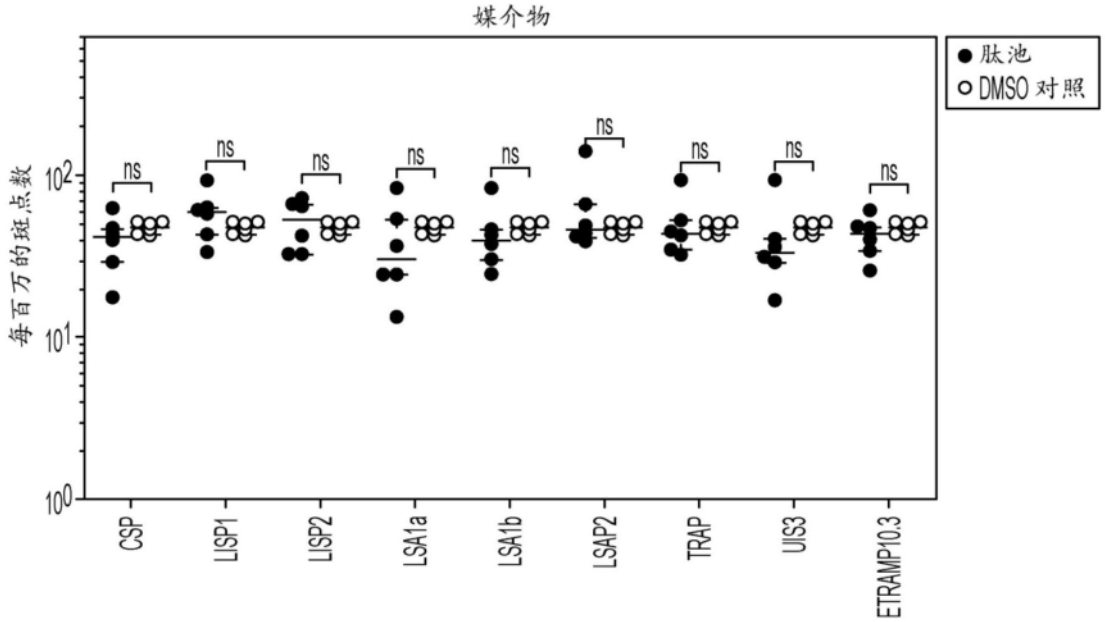


图5B

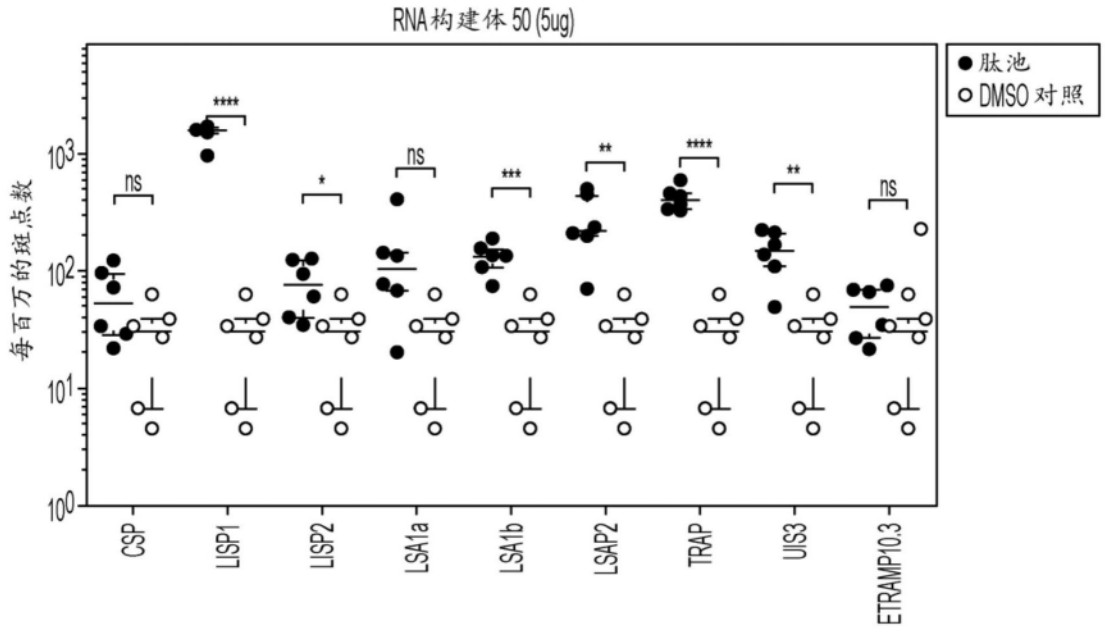

RNA构建体50(5ug)
肽池
DMSO对照
每百万的斑点数
CSP
LISP1
LISP2
LSA1a
LSA1b
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3

图5C

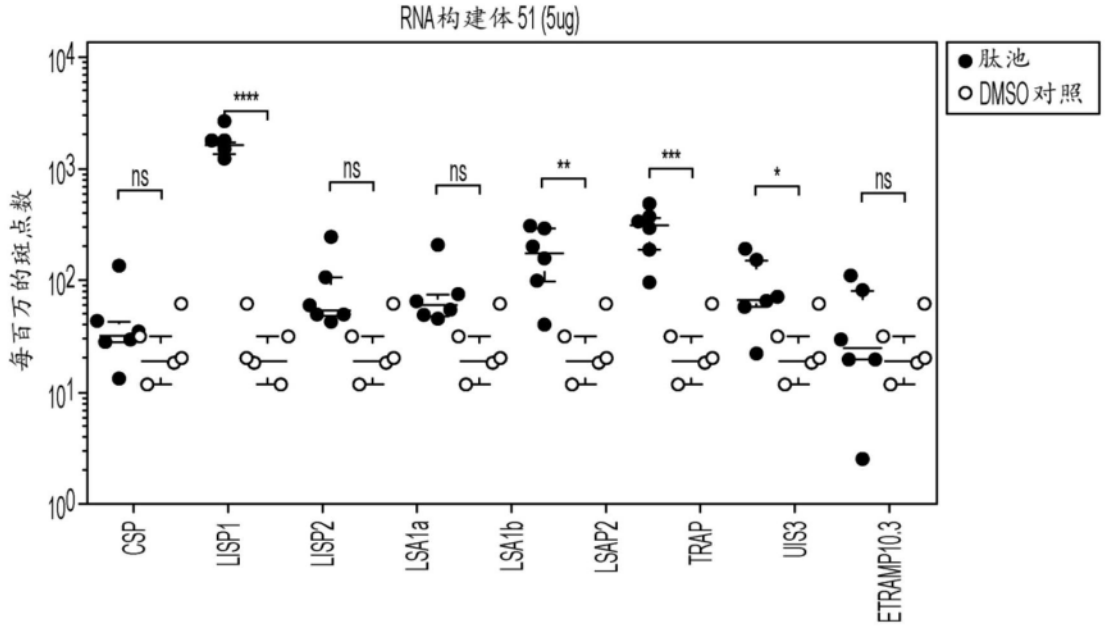

RNA构建体51(5ug)
肽池
DMSO对照
每百万的斑点数
CSP
LISP1
LISP2
LSA1a
LSA1b
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3

图5D

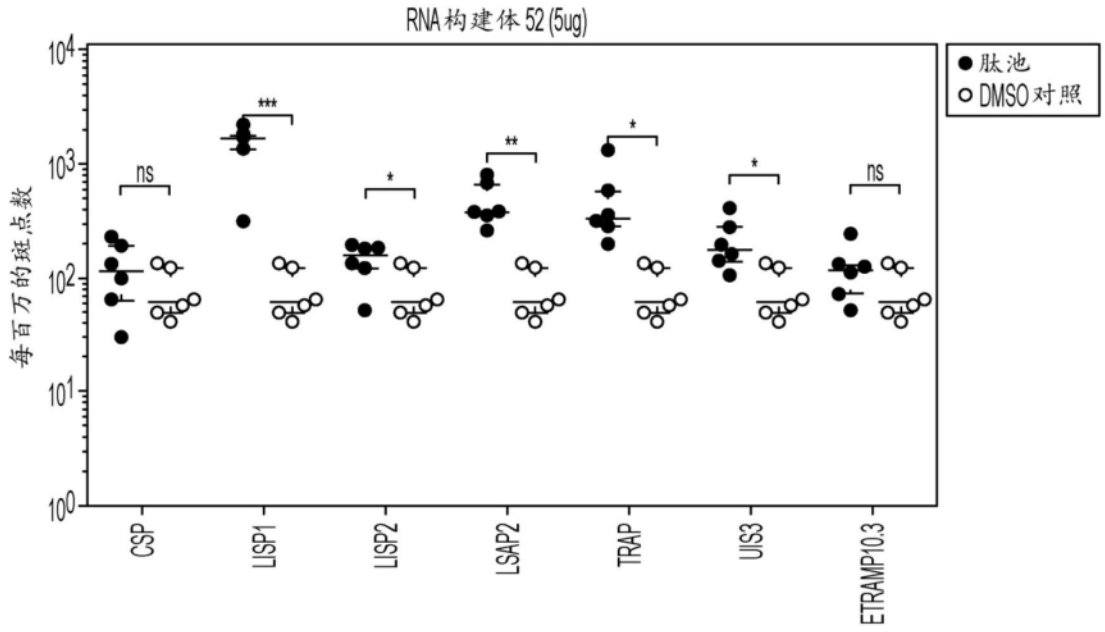

RNA构建体52(5ug)
每百万的斑点数
肽池
DMSO对照
ns
***
*
**
*
*
ns
CSP
LISP1
LISP2
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3

图5E

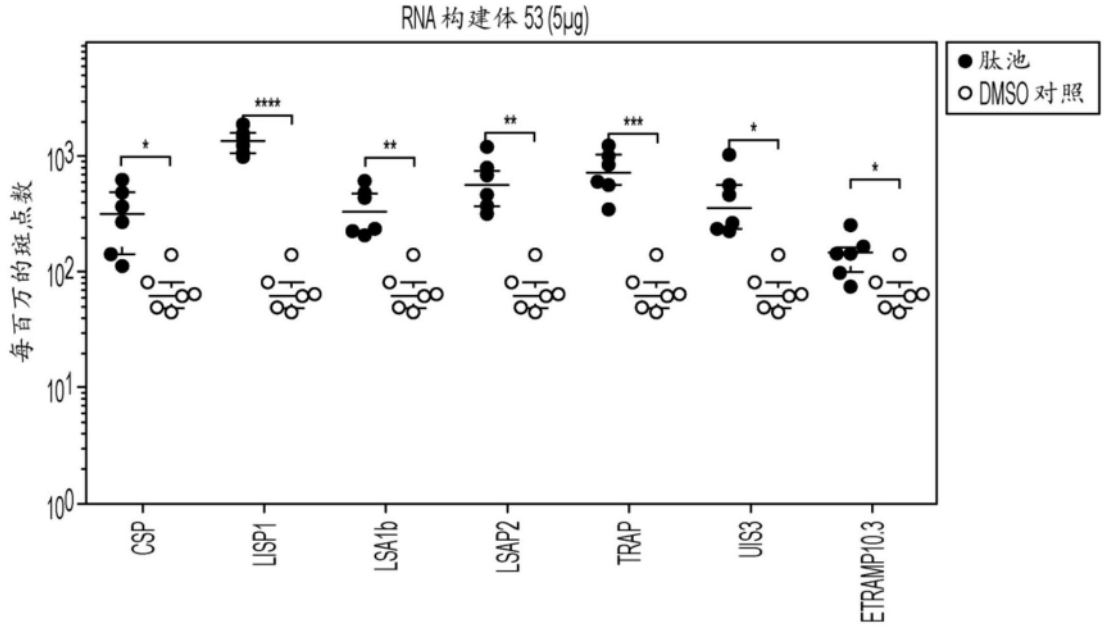

RNA构建体53(5μg)
每百万的斑点数
肽池
DMSO对照
*
****
**
**
***
*
*
CSP
LISP1
LSA1b
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3

图5F

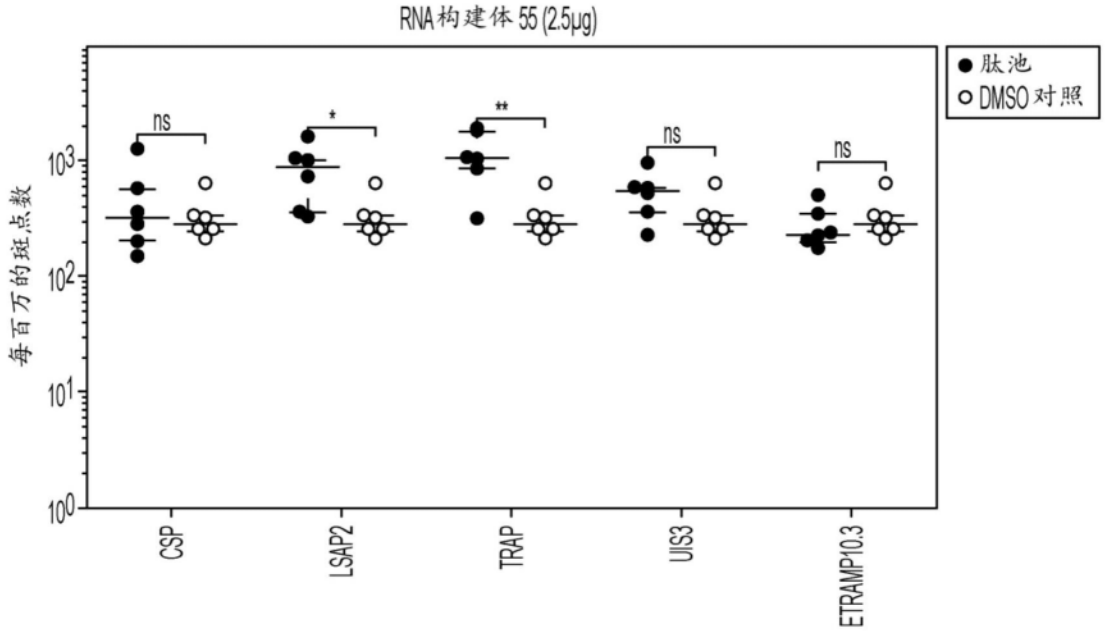

RNA构建体 55 (2.5μg)
肽池
DMSO 对照
每百万的斑点数
ns
*
**
ns
ns
CSP
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3

图5G

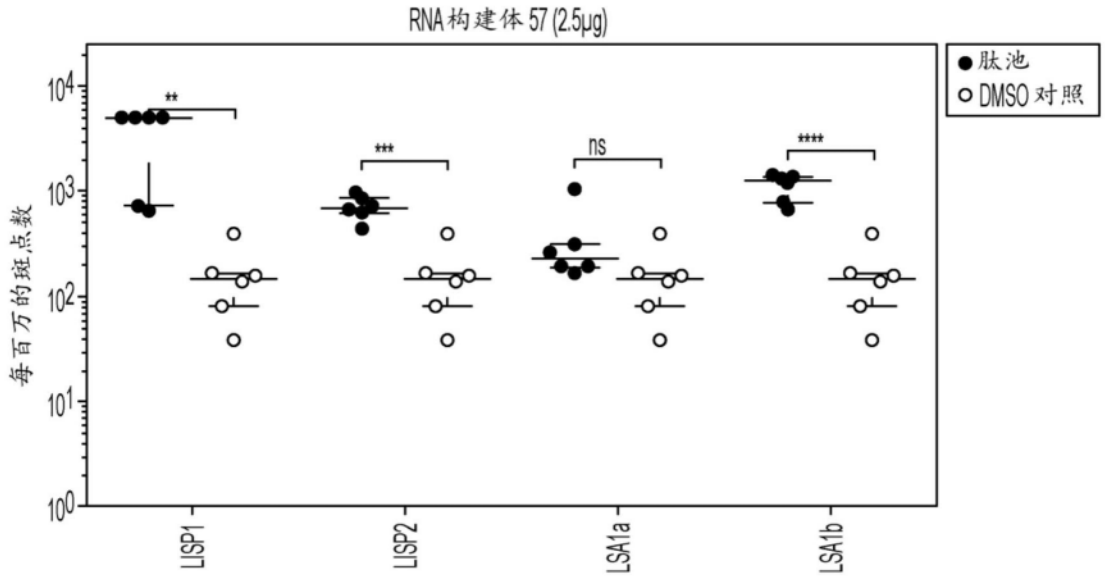

RNA构建体 57 (2.5μg)
肽池
DMSO 对照
每百万的斑点数
**
***
ns
****
LISP1
LISP2
LSA1a
LSA1b

图5H

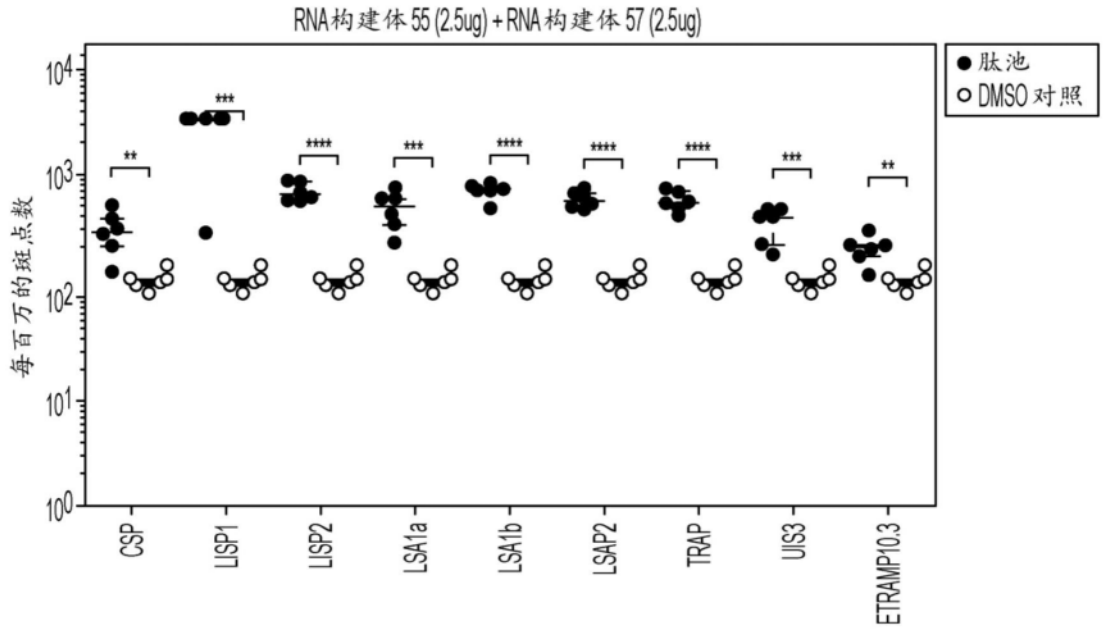

RNA构建体 55 (2.5ug) + RNA构建体 57 (2.5ug)
肽池
DMSO 对照
每百万的斑点数
CSP
LISP1
LISP2
LSA1a
LSA1b
LSAP2
TRAP
UIS3
ETRAMP10.3

图5I

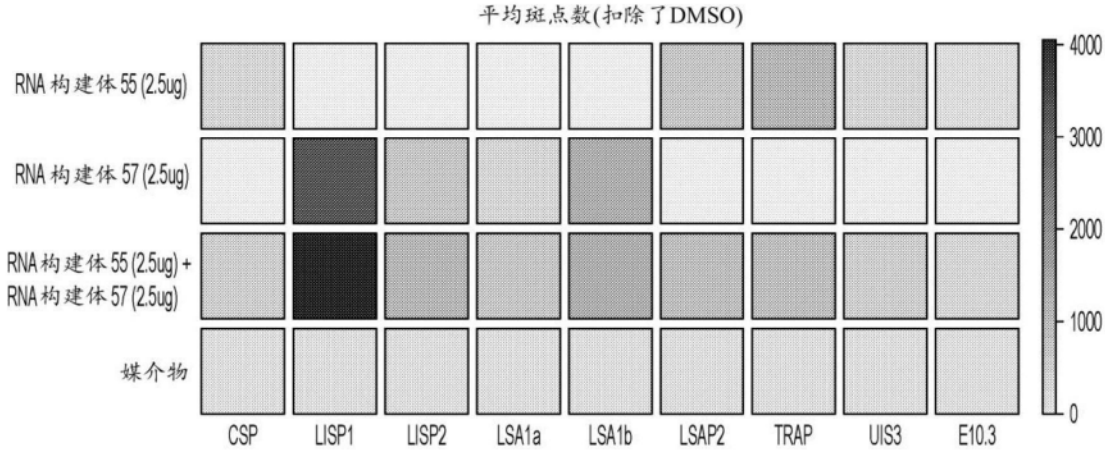

平均斑点数(扣除了DMSO)
RNA 构建体 55 (2.5ug)
RNA 构建体 57 (2.5ug)
RNA构建体 55 (2.5ug) + RNA构建体 57 (2.5ug)
媒介物
CSP
LISP1
LISP2
LSA1a
LSA1b
LSAP2
TRAP
UIS3
E10.3
4000
3000
2000
1000
0

图6A

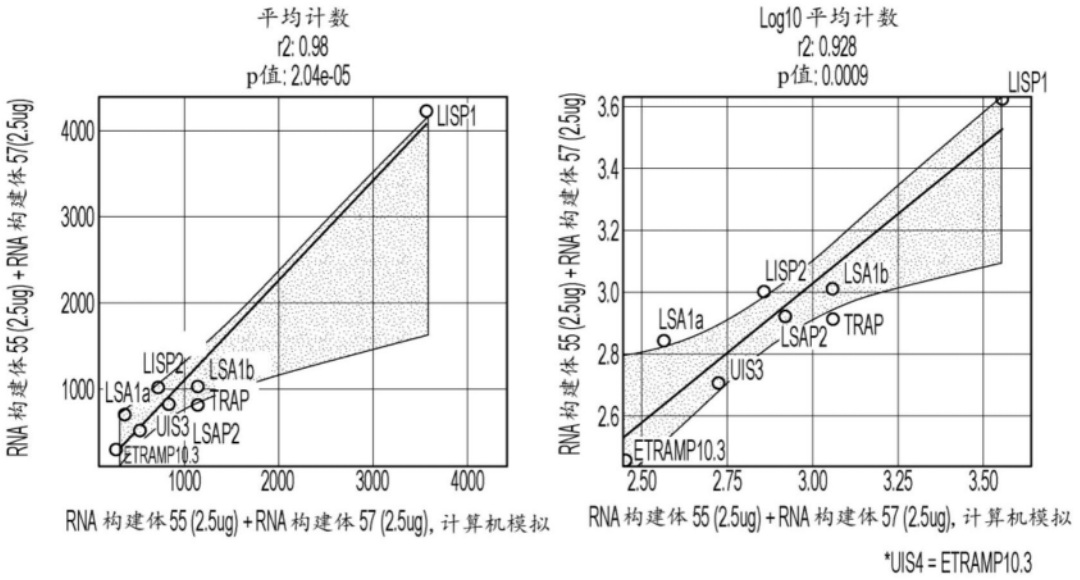

平均计数
r2: 0.98
p值: 2.04e-05
RNA 构建体 55 (2.5ug) + RNA 构建体 57(2.5ug)
LISP1
LISP2
LSA1b
LSA1a
TRAP
UIS3
LSAP2
ETRAMP10.3
RNA 构建体 55 (2.5ug) + RNA 构建体 57 (2.5ug), 计算机模拟
Log10 平均计数
r2: 0.928
p值: 0.0009
RNA 构建体 55 (2.5ug) + RNA 构建体 57 (2.5ug)
RNA 构建体 55 (2.5ug) + RNA 构建体 57 (2.5ug), 计算机模拟
*UIS4 = ETRAMP10.3

图6B

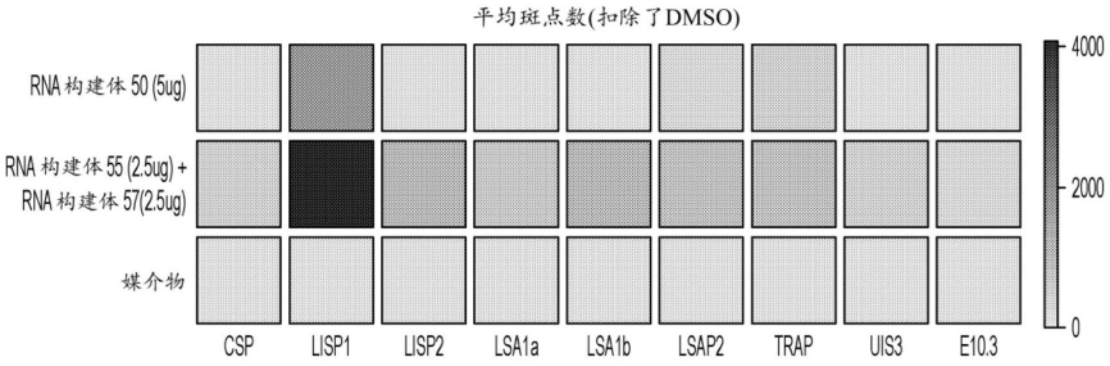

平均斑点数(扣除了DMSO)
RNA 构建体 50 (5ug)
RNA 构建体 55 (2.5ug) + RNA 构建体 57(2.5ug)
媒介物
CSP
LISP1
LISP2
LSA1a
LSA1b
LSAP2
TRAP
UIS3
E10.3
4000
2000
0

图7A

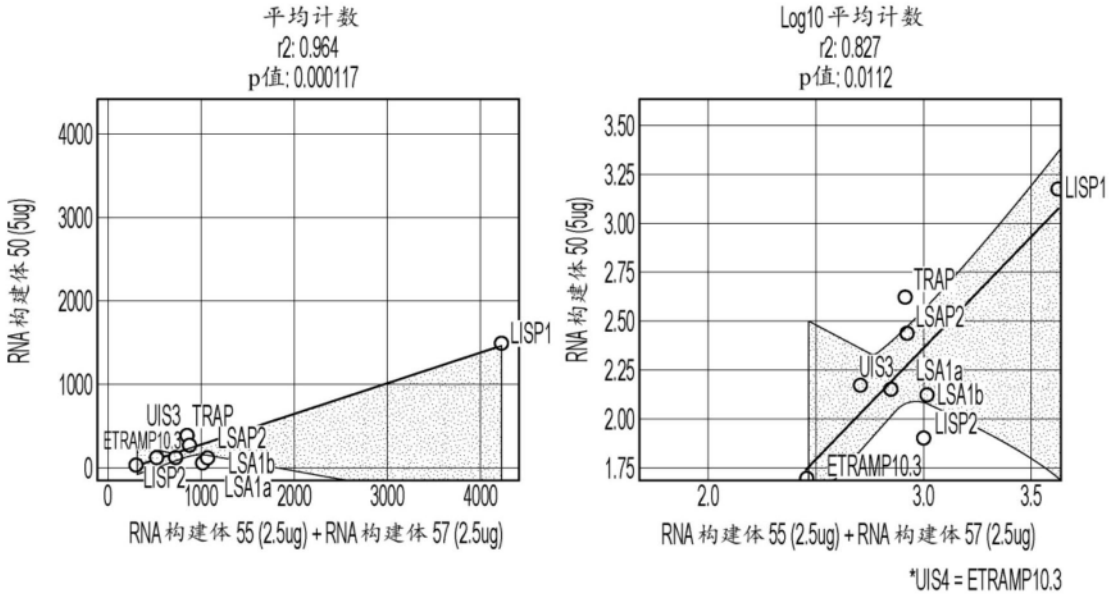

平均计数
r2: 0.964
p值: 0.000117
RNA 构建体 50 (5ug)
RNA 构建体 55 (2.5ug) + RNA 构建体 57 (2.5ug)
LISP1
UIS3
TRAP
ETRAMP10.3
LSAP2
LSA1b
LISP2
LSA1a
Log10 平均计数
r2: 0.827
p值: 0.0112
*UIS4 = ETRAMP10.3

图7B

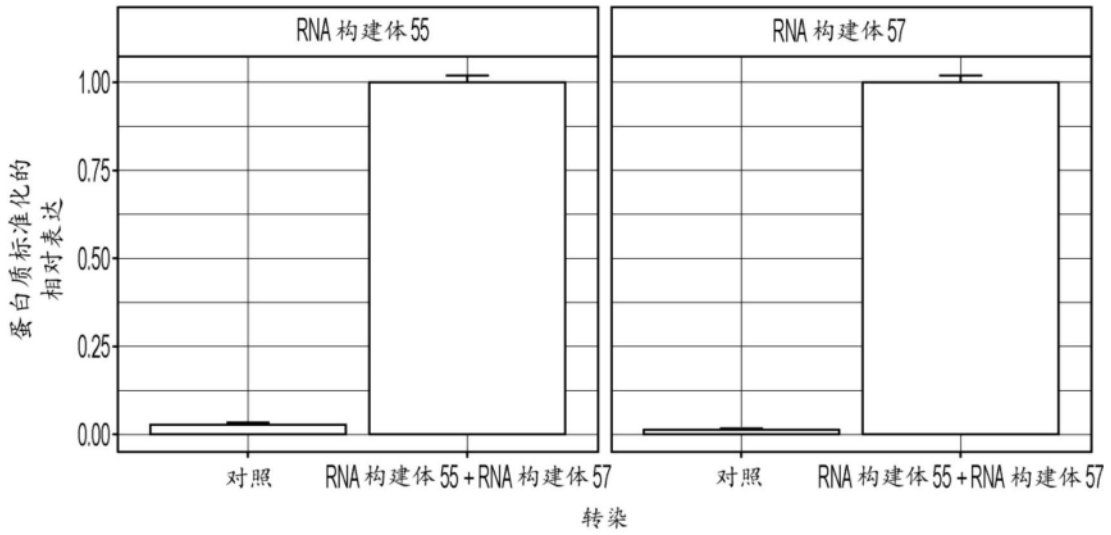

RNA 构建体 55
RNA 构建体 57
蛋白质标准化的相对表达
对照
RNA 构建体 55 + RNA 构建体 57
转染

图8