



(10) 授权公告号 CN 107847580 B

(45) 授权公告日 2022.08.12

(21) 申请号 201680039241.4

(22) 申请日 2016.07.07

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107847580 A

(43) 申请公布日 2018.03.27

(30) 优先权数据
15175647.5 2015.07.07 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.01.02

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2016/066098 2016.07.07

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/005844 EN 2017.01.12

(73) 专利权人 扬森疫苗与预防公司
地址 荷兰莱顿

(72) 发明人 J·朗热戴克 D·A·E·鲁芒

(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

(51) Int.Cl.
A61K 39/155 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 03040178 A1, 2003.05.15
WO 2014160463 A1, 2014.10.02
US 2014271699 A1, 2014.09.18
WO 2014174018 A1, 2014.10.30
何金生等. 人呼吸道合胞病毒活疫苗研究进展.《中国科学:生命科学》.2011,第1-12页.

审查员 王震

权利要求书1页 说明书13页
序列表27页 附图1页

(54) 发明名称

针对RSV的疫苗

(57) 摘要

本发明涉及组合物,这些组合物包含稳定化在该融合前构象的重组呼吸道合胞病毒(RSV)融合(F)多肽,其中如与野生型RSV F多肽相比,所述RSV F多肽包含至少一个突变,其中该至少一个突变选自下组,该组由以下各项组成:a)在位置486上的氨基酸天冬氨酸(D)的突变,b)在位置489上的氨基酸天冬氨酸(D)的突变,以及c)在位置398上的氨基酸丝氨酸(S)的突变和/或在位置394上的氨基酸赖氨酸(K)的突变。本发明还涉及包含编码所述稳定的RSV F多肽的分离的核酸分子的组合物。

1. 一种使重组呼吸道合胞病毒融合多肽稳定在融合前构象的方法,其特征在于包括制备由SEQ ID NO: 21的氨基酸序列组成的呼吸道合胞病毒融合多肽的步骤。

2. 一种使重组呼吸道合胞病毒融合多肽稳定在融合前构象的方法,其特征在于包括表达编码重组呼吸道合胞病毒融合多肽的核酸序列的步骤,该重组呼吸道合胞病毒融合多肽稳定化在该融合前构象,其中所述重组呼吸道合胞病毒融合多肽由SEQ ID NO: 21的氨基酸序列组成。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中该核酸序列包含于载体中。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中该重组呼吸道合胞病毒融合多肽是全长呼吸道合胞病毒蛋白质。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中该重组呼吸道合胞病毒融合多肽在55°C稳定持续至少10分钟。

6. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中该重组呼吸道合胞病毒融合多肽在58°C稳定持续至少10分钟。

7. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中该重组呼吸道合胞病毒融合多肽在60°C稳定持续至少10分钟。

针对RSV的疫苗

技术领域

[0001] 本发明涉及医学领域。更具体地，本发明涉及针对RSV的疫苗。

背景技术

[0002] 在20世纪50年代发现呼吸道合胞病毒 (RSV) 后，该病毒很快成为人类中与下呼吸道感染和上呼吸道感染相关的公认的病原体。据估计，全世界每年有6400万RSV感染，导致16万人死亡 (世卫组织急性呼吸道感染更新2009年9月)。最严重的疾病尤其发生在早产儿，老年人和免疫受损的个体中。在2岁以下的儿童中，RSV是最常见的呼吸道病原体，占因呼吸道感染而住院的约50%，并且住院高峰发生在2-4月龄。据报道，几乎所有儿童到2岁时都被RSV感染过。终身重复感染归因于无效的自然免疫力。在老年人中，RSV疾病负担与由非大流行性A型流感感染引起的那些相似。

[0003] RSV是一种属于肺病毒亚科的副粘病毒。它的基因组编码各种蛋白质，包括称为RSV糖蛋白 (G) 和RSV融合蛋白 (F) 的膜蛋白，它们用于中和抗体的主要抗原靶标。针对F1蛋白质的融合介导部分的抗体可以防止细胞中的病毒吸收，并且因此具有中和作用。

[0004] 当前不存在针对RSV感染的疫苗，但是由于疾病负担高其是被希望的。RSV融合糖蛋白 (RSV F) 是一种有吸引力的疫苗抗原，因为如上所述，它是人类血清中中和抗体的主要靶标。因此，针对RSV F (帕利珠单抗) 的中和单克隆抗体可以防止严重的疾病并且已经被批准用于在婴儿中的预防。

[0005] RSV F通过从不稳定的融合前构象融合到稳定的融合后构象的不可逆的蛋白质重折叠，将病毒和宿主细胞膜融合。已经确定了RSV F (McLellan JS等人, Science [科学] 342, 592-598 (2013); McLellan JS等人, Nat Struct Mol Biol [自然结构与分子生物学] 17, 248-250 (2010); McLellan JS等人, Science [科学] 340, 1113-1117 (2013); Swanson KA等人, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America [美国国家科学院院刊] 108, 9619-9624 (2011)) 和来自相关的副粘病毒的融合蛋白的两种构象的结构，提供了对这种复杂的融合机器的机制的深刻理解。与其他I类型融合蛋白一蛋白质一样，无活性前体 (RSV F₀) 需要在细胞内成熟过程中通过弗林蛋白酶样蛋白酶进行切割。RSV F含有两个弗林蛋白酶位点，这导致三个多肽：F2、p27和F1，其中后者在其N-末端含有疏水性融合肽 (FP)。为了从融合前构象重折叠成融合后构象，在残基137和216之间的包括FP和七肽重复区A (HRA) 的重折叠区域1 (RR1) 必须从螺旋、环和链的组合转化成长的连续螺旋。然后，位于RR1的N-末端片段的FP能够远离病毒膜延伸并插入到靶细胞的近侧膜中。接下来，在融合前F刺突中形成C-末端茎并包括七肽重复区B (HRB) 的重叠区域2 (RR2) 重新定位到RSV F的头部的另一侧并且将HRA卷曲螺旋三聚体与HRB结构域结合以形成六螺旋束。RR1卷曲螺旋的形成和RR2的重新定位以完成六螺旋束是在重折叠过程中发生的最显著的结构变化。

[0006] 人类血清中的大多数中和抗体是针对融合前构象，但是由于它的不稳定性，融合前构象具有在溶液中和病毒体表面上过早重折叠成融合后构象的倾向。具有高表达水平并

保持稳定的融合前构象的RSV F蛋白质将成为用于针对RSV的基于亚基或载体的疫苗的有希望的候选者。

发明内容

[0007] 本发明提供了组合物,这些组合物包含稳定的、重组的、融合前呼吸道合胞病毒(RSV)融合(F)多肽,即稳定化在融合前构象的重组RSV F多肽。本发明的RSV F多肽包含至少一个表位,该表位对融合前构象F蛋白质是特异性的。在某些实施例中,这些融合前RSV F多肽是可溶性融合前RSV F多肽。

[0008] 本发明还提供了包含编码稳定的融合前RSV F多肽的核酸分子的组合物。

[0009] 在某些实施例中,这些核酸分子编码稳定化在融合前构象的全长膜结合RSV F蛋白质。在某些实施例中,这些核酸分子编码可溶性稳定化的融合前RSV F多肽。

[0010] 在某些实施例中,这些核酸分子存在于载体中。在某些实施例中,对编码RSV F多肽的核酸进行密码子优化,用于在人类细胞中表达。

[0011] 本发明进一步提供了如在此所述的组合物,用于诱导针对RSV F蛋白质的免疫应答,尤其用作疫苗。

[0012] 本发明还涉及用于在受试者中诱导抗呼吸道合胞病毒(RSV)免疫应答的方法,这些方法包括给予受试者有效量的如在此所述的组合物。优选地,该诱导免疫应答特征在于对RSV的中和抗体和/或针对RSV的保护性免疫。在具体的方面中,本发明涉及一种用于在受试者中诱导中和抗呼吸道合胞病毒(RSV)F蛋白质抗体的方法,该方法包括给予受试者有效量的包含融合前RSV F多肽、编码所述RSV F多肽的核酸分子、和/或包含所述核酸分子的载体的组合物。

[0013] 本发明进一步提供了一种用于针对RSV对受试者进行疫苗接种的方法,该方法包括给予受试者根据本发明的组合物。

[0014] 在某些实施例中,肌内给予这些组合物。

[0015] 在某些实施例中,向受试者不止一次给予根据本发明的组合物。

[0016] 本发明还提供了一种用于在例如受试者的鼻道和肺中减少感染和/或复制RSV的方法,该方法包括给予受试者根据本发明的组合物。这将在受试者中减少由RSV感染引起的不良反应,并且因此有助于保护受试者免受给予疫苗后的这种不良反应。在某些实施例中,RSV感染的不良反应基本上可以被预防,即降至如此低的水平,以至于它们不具有临床相关性。

附图说明

[0017] 图1:使融合前构象稳定化的RSV F突变。在升高的温度下热休克后,保留处于融合前构象的表面表达的RSV F突变体的百分比。在不同浓度进行实验2-5次。在显示误差条时,它们代表来自独立实验的至少两个数据点的标准偏差。

具体实施方式

[0018] 呼吸道合胞病毒(RSV)的融合蛋白(F)参与了病毒膜与感染所需的宿主细胞膜的融合。将RSV F mRNA翻译成被称为F0的574个氨基酸前体蛋白质,其在N-末端含有信号肽序

列(例如,SEQ ID NO:1的氨基酸残基1-26),该信号肽序列在内质网中被信号肽酶去除。F0在两个位点(在氨基酸残基109/110和136/137之间)处被转运高尔基氏体中的细胞蛋白酶(尤其弗林蛋白酶)切割,去除短的糖基化间插序列(也称为p27区域),包含氨基酸残基110至136,并产生称为F1和F2的两个结构域或亚基。F1结构域(氨基酸残基137-574)在其N-末端含有疏水性融合肽,并且C-末端含有跨膜(TM)(氨基酸残基530-550)和胞质区(氨基酸残基551-574)。F2结构域(氨基酸残基27-109)通过两个二硫键共价连接至F1。F1-F2异二聚体在病毒粒子中组装为同源三聚体。

[0019] 当前不存在抗RSV感染的疫苗,但是其是被希望的。人类血清中的大多数中和抗体是针对融合前构象,但是由于它的不稳定性,融合前构象具有在溶液中和病毒体表面上过早重折叠成融合后构象的倾向。

[0020] 本发明提供了包含稳定的重组融合前RSV F多肽(即稳定化在融合前构象的RSV F多肽)的组合物,其中如与野生型RSV F多肽相比,所述RSV F多肽包含至少一个突变,其中该至少一个突变选自下组,该组由以下各项组成:a)在位置486上的氨基酸天冬氨酸(D)的突变,b)在位置489上的氨基酸天冬氨酸(D)的突变,或c)在位置398上的氨基酸丝氨酸(S)的突变和/或在位置394上的氨基酸赖氨酸(K)的突变。

[0021] 在某些实施例中,RSV F多肽是可溶性RSV多肽。

[0022] 本发明进一步提供了包含编码如在此所述的RSV F多肽(即编码如与野生型RSV F多肽相比,包含至少一个突变的RSV F多肽)的分离的核酸分子,其中该至少一个突变选自下组,该组由以下各项组成:a)在位置486上的氨基酸天冬氨酸(D)的突变,b)在位置489上的氨基酸天冬氨酸(D)的突变,或c)在位置398上的氨基酸丝氨酸(S)的突变和/或在位置394上的氨基酸赖氨酸(K)的突变。

[0023] 在某些实施例中,该核酸分子编码稳定化在融合前构象的全长膜结合RSV F蛋白质。给予该组合物后,从所述核酸分子表达的稳定的、全长RSV蛋白质将呈现在已经给予该核酸分子的受试者的细胞的细胞膜上。

[0024] 在某些实施例中,该核酸分子编码了可溶性RSV F多肽。

[0025] 在某些实施例中,对编码根据本发明的多肽的核酸分子进行密码子优化,以在哺乳动物细胞,优选地人类细胞中表达。密码子优化的方法已知并且已经在先前描述(例如WO 96/09378)。如与野生型序列相比,如果至少一个非优选密码子被更优选的密码子置换,那么认为序列是密码子优化的。在此,非优选密码子是在一种生物体中不如另一个编码相同氨基酸的密码子经常地使用的密码子,并且更优选的密码子是在一种生物体中比一个非优选密码子更经常地使用的密码子。对于特定生物体的密码子使用的频率可见于密码子频率表中,例如在<http://www.kazusa.or.jp/codon>中。优选地多于一个非优选密码子,优选地最多的或所有非优选密码子,被更优选的密码子置换。优选地,在一种生物体中最经常使用的密码子用于一种密码子优化的序列。被优选的密码子置换一般导致更高表达。

[0026] 本领域技术人员将理解,由于遗传密码的简并性,许多不同的多核苷酸和核酸分子可以编码相同的多肽。还应当理解,技术人员可以使用常规技术制造不影响由核酸分子编码的多肽序列的核苷酸取代,以反映有待表达多肽的任何具体宿主生物体的密码子使用。因此,除非另外说明,否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括彼此呈简并型式且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。编码蛋白质和RNA的核苷酸序列可以包括或不包

括内含子。

[0027] 核酸序列可以使用常规的分子生物学技术克隆,或通过DNA合成重新产生,这可以通过在DNA合成和/或分子克隆领域具有业务的服务公司(例如基因艺术公司(GeneArt)、基斯奎思公司(GenScripts)、英杰公司(Invitrogen)、欧陆公司(Eurofins))使用常规程序执行。

[0028] 在某些实施例中,该核酸分子是载体的一部分。因此,本发明还提供了包含载体的组合物,该载体包含如以上所述的核酸分子。这些载体可以通过本领域技术人员熟知的方法容易地操作,并且可以例如被设计为能在原核和/或真核细胞中复制。可替代地,载体被设计为不能复制。根据本发明的适合的载体是例如:腺病毒载体(包括Ad26或AD35)、甲病毒、副粘病毒、牛痘病毒、疱疹病毒、反转录病毒载体等。本领域技术人员能选择适合的表达载体,并以功能性方式插入本发明的核酸序列。

[0029] 根据本发明,已经惊人地发现如在此所述的突变单独地或组合地能使处于融合前构象的RSV F蛋白质稳定化。因此,如与野生型RSV F蛋白质相比,特别如与SEQ ID NO:1的RSV F蛋白质相比,存在于本发明的组合物中的RSV F多肽包含至少一个突变。

[0030] 在某些实施例中,这些稳定的RSV F多肽包含全长RSV F蛋白质。根据本发明,在RSV病毒粒子中不存在全长RSV F蛋白质。因此,本发明涉及经重组地表达的RSV F多肽。

[0031] 本发明的稳定的融合前RSV F多肽处于融合前构象,即它们包含(展示)至少一个表位,该至少一个表位对融合前构象F蛋白质是特异性的。对融合前构象F蛋白质具有特异性的表位是在融合后构象中不存在的表位。不希望被任何具体的理论所束缚,相信RSV F蛋白质的融合前构象可以含有与在天然RSV病毒粒子上表达的RSV F蛋白质上的那些相同的表位,并且因此可以提供用于引发保护性的中和抗体的优点。

[0032] 在某些实施例中,本发明的多肽包含至少一个表位,该至少一个表位被以下各项识别:一种融合前特异性单克隆抗体(此后称为CR9501),该融合前特异性单克隆抗体包含SEQ ID NO:4的重链CDR1区、SEQ ID NO:5的重链CDR2区、SEQ ID NO:6的重链CDR3区和SEQ ID NO:7的轻链CDR1区、SEQ ID NO:8的轻链CDR2区以及SEQ ID NO:9的轻链CDR3区;和/或一种融合前特异性单克隆抗体(称为CR9502),该融合前特异性单克隆抗体包含SEQ ID NO:10的重链CDR1区、SEQ ID NO:11的重链CDR2区、SEQ ID NO:12的重链CDR3区和SEQ ID NO:13的轻链CDR1区、SEQ ID NO:14的轻链CDR2区以及SEQ ID NO:15的轻链CDR3区。CR9501和CR9502包含重链和轻链可变区域,并且因此分别包含抗体58C5和30D8的结合特异性,抗体58C5和30D8先前已经显示出以其融合前构象而不是融合后构象与RSV F蛋白质特异性结合(参见WO 2012/006596)。

[0033] 在某些实施例中,该融合前RSV F多肽包含在位置486处氨基酸残基天冬氨酸(D)到天冬酰胺(N)的突变(D489Y)。

[0034] 在某些实施例中,该融合前RSV F多肽包含在位置489处氨基酸残基天冬氨酸(D)到酪氨酸(Y)的突变(D489Y)。

[0035] 在某些实施例中,根据本发明的稳定的融合前RSV F多肽包含在位置398处氨基酸残基丝氨酸(S)亮氨酸(L)的突变(S398L)和/或在位置394处氨基酸残基赖氨酸(K)到精氨酸精氨酸(R)的突变(K394R)。在某些实施例中,该稳定的融合前RSV F多肽包含在位置398处氨基酸残基丝氨酸(S)到亮氨酸(L)的突变(S398L)和在位置394处氨基酸残基赖氨酸(K)

到精氨酸(R)的突变(K394R)。

[0036] 根据本发明,惊人地显示这些突变能够使处于融合前构象的RSV F蛋白质稳定,特别当RSV F蛋白质是全长、膜结合的RSV F蛋白质时。

[0037] 在某些实施例中,这些稳定化的RSV F多肽是可溶性RSV F多肽。

[0038] 在某些实施例中,因此本发明提供了包含稳定的可溶性融合前RSV F多肽的组合物。在某些实施例中,RSV F蛋白质通过缺失跨膜(TM)和胞质区域来截短以产生可溶性分泌的F蛋白质(sF)。因为该TM区域负责膜的锚定和三聚化,所以无锚定的可溶性F蛋白质比全长蛋白质明显地更不稳定,并且将容易地重折叠成融合后的末端状态。为了获得处于稳定的融合前构象的显示高表达水平和高稳定性的可溶性F蛋白质,因此需要将该融合前构象进行稳定化。WO 2014/174018和WO 2014/202570中已经描述了用C-末端异源三聚化结构域和在蛋白质顶点的两个稳定的突变来稳定化可溶性RSV F多肽。显示了,特别是,突变N67I和S215P能够使处于融合前构象的可溶性重组RSV F多肽稳定化。根据本发明的修饰进一步使可溶性RSV F蛋白质稳定化,如在WO 2014/174018和WO 2014/202570中所述。

[0039] 在某些实施例中,因此本发明提供了包含可溶性融合前RSV F多肽的组合物,其中该RSV F多肽包含如上所述的与在位置67上的氨基酸残基天冬酰胺(N)或苏氨酸(T)突变和/或在位置215上的氨基酸残基丝氨酸(S)的突变结合的修饰的至少一种。

[0040] 在某些实施例中,本发明的组合物中的可溶性融合前RSV F多肽包含如在此所述的与在位置67上的氨基酸残基天冬酰胺(N)或苏氨酸(T)到异亮氨酸(I)到I的突变(N/T67I),和/或在位置215上的氨基酸残基丝氨酸(S)到脯氨酸(P)的突变(S215P)结合的突变中的至少一种。

[0041] 在某些实施例中,这些可溶性融合前RSV F多肽进一步包含连接至截短的F1结构域的异源三聚化结构域,如在WO 2014/174018和WO 2014/202570中所述。如在此所使用的“截短的”F1结构域是指不是全长F1结构域的F1结构域,即其中N-末端地或C-末端地一个或多个氨基酸残基已经缺失。根据本发明,至少跨膜结构域和胞质尾区已经缺失以允许表达为可溶性胞外结构域。

[0042] 在某些实施例中,该三聚化结构域包含SEQ ID NO:3并且直接或通过接头连接至RSV F1结构域的氨基酸残基513。在某些实施例中,该接头包含氨基酸序列SAIG。

[0043] 已知RSV作为具有两个抗原性亚型A和B的单个血清型存在。两类型的成熟加工的F蛋白质的氨基酸序列大约93%是相同的。如贯穿本申请所使用的,氨基酸位置是参照来自A2病毒株的RSV F蛋白质序列(SEQ ID NO:1)给出的。如在本发明中所使用的,因此用语“在RSV F蛋白质的位置“x”处的氨基酸”意指与SEQ ID NO:1的RSV A2病毒株的RSV F蛋白质中的位置“x”处的氨基酸对应的氨基酸。注意,在本申请中所使用的编号系统中,1是指一个未成熟F0蛋白质的N-末端氨基酸(SEQ ID NO:1)。当使用一种RSV病毒株而不是A2病毒株时,F蛋白质的氨基酸位置将通过在必要时插入空位使其他RSV病毒株的序列与SEQ ID NO:1的F蛋白质比对,参考SEQ ID NO:1的A2病毒株的F蛋白质的编号来编号。使用本领域熟知的方法进行序列比对,例如,通过CLUSTALW、Bioedit或CLC Workbench。

[0044] 根据本发明的氨基酸可以是二十个天然存在的(或‘标准’)氨基酸或其变体中的任何一个,例如像D-氨基酸(具有手性中心的氨基酸的D-对映异构体)或在蛋白质中不天然存在的任何变体,例如像正亮氨酸。标准氨基酸基于它们的性质可以被分成若干组。重要的

因素是电荷、亲水性或疏水性、大小和官能团。这些性质对蛋白质结构和蛋白质-蛋白质相互作用是重要的。一些氨基酸具有特殊的性质,例如半胱氨酸,其可以与其他半胱氨酸残基形成共价二硫键(或二硫桥键);脯氨酸,其诱导多肽骨架转动;以及甘氨酸,其比其他氨基酸更具柔韧性。表1显示了标准氨基酸的缩写和性质。

[0045] 本领域技术人员将理解可以通过常规的分子生物学程序对蛋白质进行突变。根据本发明的组合物中的融合前RSV F多肽是稳定的,即加工多肽(例如像纯化、冻融循环、和/或储存等)时不易变成融合后构象。

[0046] 在某些实施例中,如与不具有所述一种或多种突变的RSV F多肽相比,根据本发明的融合前RSV F多肽在受热时具有增加的稳定性。在某些实施例中,融合前RSV F多肽在55℃,优选地在58℃,更优选地在60℃的温度下加热稳定持续至少10分钟。“热稳定性”,它意指在经受增加的温度(即,55℃或更高的温度)至少10分钟之后,多肽仍显示至少一个融合前的特异性表位,例如,如使用如实例1中所述的方法所确定的。

[0047] 在某些实施例中,RSV F多肽源自RSV A病毒株。在某些实施例中,RSV F多肽源自SEQ ID NO:1的RSV A2病毒株。

[0048] 在某些实施例中,RSV F多肽源自RSV B病毒株。在某些实施例中,F1和/或F2结构域来自SEQ ID NO:2的RSV B病毒株。

[0049] 在某些优选的实施例中,本发明的融合前RSV F多肽包含选自下组的氨基酸序列,该组由SEQ ID NO:21-26组成。

[0050] 如贯穿本申请所使用的,核苷酸序列是从5'到3'方向提供,并且氨基酸序列是从N-末端到C-末端提供,如本领域中所习惯的。

[0051] 在某些实施例中,根据本发明的多肽进一步包含前导序列,也称为信号序列或信号肽,对应于SEQ ID NO:1的氨基酸1-26或SEQ ID NO:2的氨基酸1-26。它是存在于大部分注定去往分泌通路的新合成的蛋白质的N-末端的短(典型地5-30个氨基酸长)肽。在某些实施例中,根据本发明的多肽不包含前导序列。

[0052] 在某些实施例中,这些多肽包含HIS-标签。His-标签或多组氨酸-标签是蛋白质中的氨基酸基序,该氨基酸基序由至少五个组氨酸(H)残基组成,经常在蛋白质的N-或C-末端,通常用于纯化的目的使用。

[0053] 如在此所述,本发明提供了包含稳定的融合前RSV F多肽(即显示存在于RSV F蛋白质的融合前构象中但在融合后构象中不存在的表位和/或编码这种稳定的融合前RSV F多肽的核酸分子的RSV F多肽)的组合物。

[0054] 本发明进一步提供了包含如在此所述的融合前RSV F多肽、核酸分子和/或载体的药物组合物,以及药学上可接受的载体或赋形剂。在本上下文中,术语“医药学上可接受的”意指该载剂或赋形剂在所采用的剂量和浓度下不会在它们给予的受试者中引起任何不必要或不良的影响。这些药学上可接受的载体和赋形剂是本领域熟知的(参见Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学],第18版,A.R.Gennaro编辑,马克出版公司(Mack Publishing Company)[1990];Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins[肽和蛋白质的制药配方开发],S.Frokjaer和L.Hovgaard编辑,Taylor和Francis[2000];以及Handbook of Pharmaceutical Excipients[药用辅料手册],第3版,A.Kibbe编辑,英国医药出版社(Pharmaceutical Press)[2000])。尽管在一些

情况下还可以运用冻干制剂,但RSV F多肽、或核酸分子优选地是作为无菌溶液配制和给予。无菌溶液是通过无菌过滤或通过本领域中自身已知的其他方法制备。这些溶液接着冻干或填充到医药剂量容器中。溶液的pH通常在pH 3.0到9.5,例如pH 5.0到7.5范围内。RSV F多肽典型地在具有适合的药学上可接受的缓冲液的溶液中,并且该组合物还可以含有盐。在某些实施例中,可以将RSV F多肽配制成可注射制剂。

[0055] 进一步提供了用于在受试者中诱导针对RSV F蛋白质的免疫应答的方法,这些方法包括给予受试者有效量的根据本发明的组合物。还提供了根据本发明的组合物,用于在受试者中诱导针对RSV F蛋白质的免疫应答,特别用作疫苗。进一步提供了根据本发明的组合物用于制造用于在受试者中诱导针对RSV F蛋白质的免疫应答的药剂的用途。优选地,该诱导免疫应答特征在于对RSV的中和抗体和/或针对RSV的保护性免疫。

[0056] 在具体的方面中,本发明涉及一种用于在受试者中诱导中和抗呼吸道合胞病毒(RSV)F蛋白质抗体的方法,该方法包括给予受试者有效量的如在此所述的组合物。

[0057] 本发明还提供了一种用于在例如受试者的鼻道和肺中减少感染和/或复制RSV的方法,该方法包括给予受试者根据本发明的组合物。这将在受试者中减少由RSV感染引起的不良反应,并且因此有助于保护受试者免受给予疫苗后的这种不良反应。在某些实施例中,RSV感染的不良反应基本上可以被预防,即降至如此低的水平,以至于它们不具有临床相关性。

[0058] 本发明的组合物可以用于预防(预防)和/或治疗RSV感染。在某些实施例中,预防和/或治疗可以靶向易受RSV感染的患者群组。这样的患者群组包括但不限于例如老年人(例如 ≥ 50 岁、 ≥ 60 岁并且优选地 ≥ 65 岁)、年幼者(例如 ≤ 5 岁、 ≤ 1 岁)、住院的患者、以及已经用抗病毒化合物进行治疗但已经显示出充分抗病毒应答的患者。

[0059] 根据本发明的组合物可以用于例如由RSV所引起的疾病或病状的独立治疗和/或防治,或与其他防治和/或治疗性治疗,例如(现有或将来)疫苗、抗病毒剂和/或单克隆抗体组合。

[0060] 本发明进一步提供了利用根据本发明的组合物用于在受试者中预防和/或治疗RSV感染的方法。在特定实施例中,用于预防和/或治疗受试者中的RSV感染的方法包括给予对其有需要的受试者包含有效量的如上所述的融合前RSV F多肽、核酸分子和/或载体的组合物。治疗有效量是指多肽、核酸分子或载体有效用于预防、缓解和/或治疗由被RSV感染所引起的疾病或病状的量。预防涵盖抑制或减少RSV的传播或抑制或减少与被RSV感染有关的一种或多种症状的发作、发展或进展。如在此使用的,改善可以是指减少流感感染的可见或可察觉的疾病症状、病毒血症、或任何其他可测量的表现形式。

[0061] 在某些实施例中,根据本发明的组合物进一步包含一种或多种佐剂。佐剂在本领域中已知来进一步提高对一种所施加的抗原决定簇的免疫应答。术语“佐剂”和“免疫刺激剂”在此可互换地使用,并且被定义为引起免疫系统刺激的一种或多种物质。在此上下文中,使用佐剂来增强对本发明的RSV F多肽的免疫应答。合适的助剂的实例包括铝盐,例如氢氧化铝和/或磷酸铝;油乳液组合物(或水包油组合物),包括角鲨烯-水乳液,例如MF59(参见例如WO 90/14837);皂苷配制品,例如像QS21和免疫刺激复合物(ISCOMS)(参见例如US 5,057,540、WO 90/03184、WO 96/11711、WO2004/004762、WO 2005/002620);细菌或微生物衍生物,其实例为单磷酸脂质A(MPL)、3-O-脱酰基MPL(3dMPL)、含CpG基序的寡核苷酸、

ADP-核糖基化细菌毒素或其突变体(例如大肠杆菌热不稳定肠毒素LT、霍乱毒素CT等);真核蛋白质(例如,其抗体或片段(例如针对抗原本身或CD1a,CD3,CD7,CD80)和受体的配体(例如,CD40L,GMCSF,GCSF等),其在与受体细胞相互作用时刺激免疫应答。在某些实施例中,本发明的组合物包含作为佐剂的铝,例如氢氧化铝、磷酸铝、磷酸铝钾或其组合的形式,浓度为0.05mg-5mg,例如每剂量铝含量为0.075mg-1.0mg。

[0062] 在某些实施例中,根据本发明的组合物是用作针对呼吸道合胞病毒(RSV)的疫苗。术语“疫苗”是指含有在受试者中有效诱导一定程度的针对某一病原体或疾病的免疫性的活性组分的组合物,它将引起与被该病原体或该疾病感染有关的症状的严重程度、持续时间或其他表现的至少降低(多达完全缺乏)。在本发明中,该疫苗包含有效量的融合前RSV F多肽和/或编码融合前RSV F多肽的核酸分子和/或包含所述核酸分子的载体,它导致针对RSV F蛋白质的免疫应答。该疫苗可在受试者中用于预防导致住院的严重的下呼吸道疾病,以及用于降低由RSV感染和复制引起的并发症例如肺炎和细支气管炎的频率。在某些实施例中,该疫苗可以是一种组合疫苗,该组合疫苗进一步包含了诱发例如针对RSV的其他蛋白质和/或针对其他传染物的免疫应答的其他组分。另外的活性组分的给予可以例如通过分开给予或通过给予本发明的疫苗与其他活性组分的组合产物来进行。

[0063] 本发明进一步提供了一种用于针对RSV对受试者进行疫苗接种的方法,该方法包括给予受试者根据本发明的组合物。

[0064] 可以将根据本发明的组合物给予受试者,例如人类受试者。确定所推荐的剂量将通过实验进行并且对本领域技术人员来说是常规的。

[0065] 根据本发明的组合物的给予可以使用标准给予途径执行。非限制性实施例包括不经肠给予,例如皮内、肌内、皮下、经皮、或粘膜给予,例如鼻内、经口等。在一个实施例中,通过肌内注射来给予组合物。技术人员已知给予组合物(例如疫苗)以便诱导对疫苗中的一种或多种抗原的免疫应答的不同的可能性。在某些实施例中,肌内给予本发明的组合物。

[0066] 如在此所使用的受试者优选地是哺乳动物,例如啮齿动物,例如小鼠、棉鼠、或非人类灵长类动物或人类。优选地,该受试者为人类受试者。

[0067] 根据本发明的组合物可以在同源或异源初免-加强方案中作为初免来给予或作为加强来给予。如果执行加强疫苗接种,那么典型地,此类加强疫苗接种将在该组合物第一次给予受试者(在这些情况下这被称为“初次疫苗接种”)后一周与一年之间,优选地在两周与四个月之间的一个时间处给予至同一受试者。在某些实施例中,给予包括初次给予和至少一次加强给予。

[0068] 本发明进一步提供了用于使RSV F多肽的融合前构象稳定化的方法,该方法包括如与野生型RSV F蛋白质相比,将突变引入RSV F蛋白质,其中一个或多个突变选自下组,该组由以下各项组成:

[0069] 通过这种方法可获得的和/或获得的稳定化的融合前RSV F多肽,以及如上所述的其用途也形成本发明的一部分。

[0070] 在以下实例中将进一步解释本发明。这些实例不以任何方式限制本发明。它们仅仅用以阐明本发明。

[0071] 实例

[0072] 实例1

[0073] 稳定的融合前RSV F多肽的制备

[0074] 结合呼吸道合胞病毒 (RSV) F蛋白质的治疗性小分子抑制膜融合并结合至亚稳定的RSV F预融合构象的中心腔内的3重对称口袋。抑制剂结合通过束缚两个需要经历大结构重排以促进膜融合的区域使该构象稳定化。根据本发明,出人意料地,逃逸突变已经被证实矛盾地使融合前构象稳定化。根据本发明,因此已经显示可以使用对应于这类逃逸突变的氨基酸取代使处于融合前构象的RSV F稳定化。

[0075] 在导致本发明的研究中,开发了基于温度的触发测定以评估突变对融合前F稳定性的影响。将表达野生型RSV F或突变型RSV F的HEK293细胞在升高的温度下热激10分钟,以便可以确定溶解曲线。突变(例如D489Y变体)显著提高了触发所需的温度(图1),因此表明突变稳定了RSV F多肽。在HEK293T细胞中瞬时表达全长RSV F蛋白质(野生型并包含根据本发明的突变中的一个或多个)。转染48h后,使用含有EDTA的缓冲液将细胞分离并热激10分钟。用对融合前RSV F具有特异性的AlexaFluor647-缀合的抗体(抗体CR9501)或识别融合前和融合后构象两者的AlexaFluor647-缀合的抗体(抗体CR9503,其包含RSV F抗体Motavizumab的重链和轻链可变区)对细胞染色。使用碘化丙啶(英杰公司)作为活-死染色剂,并且通过流式细胞仪在FACS Canto II仪器(BD生物科学公司(BD Biosciences))上分析细胞。使用FlowJo 9.6软件分析数据,并且计算平均荧光强度(MFI),其中热激样品归一化为未处理(37°C)的样品。

[0076] 这些构建体在基因艺术公司(Gene Art)(生命技术公司(Life Technologies),卡尔斯巴德,加利福尼亚州)进行合成和密码子最佳化。将这些构建体克隆到pCDNA2004中或通过该领域内普遍知道的标准方法(包括定点突变诱发和PCR)产生,并且测序。

[0077] 表1. 标准氨基酸,缩写和性质

[0078]

氨基酸	3 字母	1 字母	侧链极性	侧链电荷 (pH 7.4)
丙氨酸	Ala	A	非极性	中性

	精氨酸	Arg	R	极性	正
	天冬酰胺	Asn	N	极性	中性
	天冬氨酸	Asp	D	极性	负
	半胱氨酸	Cys	C	非极性	中性
	谷氨酸	Glu	E	极性	负
	谷氨酰胺	Gln	Q	极性	中性
	甘氨酸	Gly	G	非极性	中性
	组氨酸	His	H	极性	正 (10%) 中性 (90%)
	异亮氨酸	Ile	I	非极性	中性
[0079]	亮氨酸	Leu	L	非极性	中性
	赖氨酸	Lys	K	极性	正
	甲硫氨酸	Met	M	非极性	中性
	苯丙氨酸	Phe	F	非极性	中性
	脯氨酸	Pro	P	非极性	中性
	丝氨酸	Ser	S	极性	中性
	苏氨酸	Thr	T	极性	中性
	色氨酸	Trp	W	非极性	中性
	酪氨酸	Tyr	Y	极性	中性
	缬氨酸	Val	V	非极性	中性

[0080] 表2

Ab	VH 结构域	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
[0081] CR950 1	SEQ ID NO: 16 的氨基酸 1-125	GASINSDNYY WT (SEQ ID NO: 4)	HISYTGNTYYTP SLKS (SEQ ID NO: 5)	CGAYVLISNCG WFDS (SEQ ID NO: 6)
CR950 2	SEQ ID NO: 18 的氨基酸 1-121	GFTFSGHTIA (SEQ ID NO: 10)	WVSTNNGNTEY AQKIQG (SEQ ID NO: 11)	EWLVMGGFAFD H (SEQ ID NO: 12)

Ab	VL 结构域	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
[0082] CR950 1	SEQ ID NO: 17 的氨基酸 1-107	QASQDISTYLN (SEQ ID NO: 7)	GASNLET (SEQ ID NO: 8)	QQYQYLPYT (SEQ ID NO: 9)
CR950 2	SEQ ID NO: 19 的氨基酸 1-110	GANNIGSQNVH (SEQ ID NO: 13)	DDRDRPS (SEQ ID NO: 14)	QVWDSSRDQAVI (SEQ ID NO: 15)

[0083] 序列

[0084] RSV F蛋白质A2全长序列 (SEQ ID NO:1)

[0085] MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKKKNC

NGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLFLGFLLGVGS
 AIASGVAVSKVLHLEGEVNIKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVIVNQSCSISNIETVIEF
 QQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPIITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
 VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTPLS
 EVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTF SNGCDYVSNGKGVDTVSVGN
 TLYYVVKQEGKSLYVKGEPI INFYDPLVFP SDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELHNVNAVKSTTNIMITTII
 IVIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTL SKDQLSGINNI AFSN

[0086] RSV F蛋白质B1全长序列 (SEQ ID NO:2)

[0087] MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNI TEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIELSNIKETKC
 NGTDTKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARRREAPQYMYNTINTTKNLNVSISKKRKRRLFLGFLLGVGS
 AIASGIAVSKVLHLEGEVNIKIKNALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYINNQLLPVIVNQSCRISNIETVIEF
 QQKNSRLLLEINREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSELLSLINDMPIITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
 VQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTPLS
 EVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTF SNGCDYVSNGKGVDTVSVGN
 TLYYVVKLEGKNLYVKGEPI INYYDPLVFP SDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELHNVNTGKSTTNIMITTII
 IVIIVVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTL SKDQLSGINNI AFSK

[0088] SEQ ID NO:3

[0089] GYIPEAPRDGQAYVRKDG EWVLLSTFL

[0090] CR9501重链 (SEQ ID NO:16) :

[0091] QVQLVQSGPGLVKPSQTLALTCNVSGASINSDNYWYTWIRQRPGGGLEWIGHISYTGNTYYTPSLKSRL
 SMSLETSQSQFSLRLTSVTAADS AVYFCAACGAYVLSINCGWFDSWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
 TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVK
 EPKSC

[0092] CR9501轻链 (SEQ ID NO:17) :

[0093] EIVMTQSPSSLSASIGDRVTITCQASQDISTYLNWYQQKPGQAPRLLIYGASNLETGVPSRFTGSGYGT
 DFSVTISSLQPEDIAITYCQQYQYLPYTFAPGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
 QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0094] CR9502重链 (SEQ ID NO:18) :

[0095] EVQLLQSGAELKKPGASVKISCKTSGFTFSGHTIAWVRQAPGQGLEWMGWVSTNNGNTEYAQKIQRV
 TMTMDTSTSTVYME LRSLTSDDTAVYFCAREWLVMGGFAFDHWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
 GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKS
 C

[0096] CR9502轻链 (SEQ ID NO:19) :

[0097] QSVLTQASSVSVAPGQTARITCGANNIGSQNVHWYQQKPGQAPVLVYDDRDRPSGIPDRFSGSNGNT
 ATLTI SRVEAGDEADYYCQVWDSRDQAVIFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA
 VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTIAPTECS

[0098] PreF、RSV A2、fibrin (SEQ ID NO:20) (可溶的,具有fibrin的wt) MELLILKAN
 AITILTAVTFCFASGQNI TEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNGTDAKVLIKQELDKY
 KNAVTELQLLMQSTPATNNRARRRELPRFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLFLGFLLGVGS AIASGVAVSKVLHLEGE

VNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNIYDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVN
 AGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSI IKEEPVAYVQVQLPLYGVIDTPCWKLH
 TSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCK
 IMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKG
 EPIINFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL_{SAIG}GYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL

[0099] PreF、RSV A2、D486N (SEQ ID NO:21)

[0100] MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKC
 NGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKRRRRLFLGFLGVS
 AIASGVAVSKVLHLEGEVVKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNIYDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEF
 QQKNNRLEITREFSVNAGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSI IKEEPVAYV
 VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLP
 EVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVG
 NTLYYVVKQEGKSLYVKGEPINFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNNAVKSTTNIMITTII
 IVIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTL SKDQLSGINNIASFN

[0101] PreF、RSV A2、D489Y (SEQ ID NO:22)

[0102] MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENK
 CNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKRRRRLFLGFLGVS
 GSAIASGVAVSKVLHLEGEVVKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNIYDKQLLPVNVKQSCSISNIET
 VIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSI IKEEP
 VAYVQVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSL
 TLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTV
 SVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPINFYDPLVFPSEDFYASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNNAVKSTTNIMI
 TTIIIVIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTL SKDQLSGINNIASFN

[0103] PreF、RSV A2、S398L、K394R (SEQ ID NO:23)

[0104] MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKC
 NGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKRRRRLFLGFLGVS
 AIASGVAVSKVLHLEGEVVKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNIYDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEF
 QQKNNRLEITREFSVNAGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSI IKEEPVAYV
 VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLP
 EVNLCNVDIFNPKYDCRIMTLKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVG
 NTLYYVVKQEGKSLYVKGEPINFYDPLVFPSEDFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNNAVKSTTNIMITTII
 IVIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTL SKDQLSGINNIASFN

[0105] 可溶性PreF、RSV A2、D486N (SEQ ID NO:24)

[0106] MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENK
 CNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKRRRRLFLGFLGVS
 GSAIASGVAVSKVLHLEGEVVKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNIYDKQLLPVNVKQSCSISNIETV
 IEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSI IKEEP
 VAYVQVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTM
 NSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI IKTFSNGCDYVSNKGVDT

TVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSNEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL_{SAIG}GYIPEAPRD
GQAYVRKDG EWVLLSTFL

[0107] 可溶性PreF、RSV A2、D489Y (SEQ ID NO:25)

[0108] MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKC
NGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRLGFLG VGS
AIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVVKQSCSISNIETVIEF
QQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPS
EVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI VSCYGKTKCTASNKNGI IKTFSNGCDYVSNGVDTVSVGN
TLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFYASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL_{SAIG}GYIPEAPRDGQAYVR
KDG EWVLLSTFL

[0109] 可溶性PreF、RSV A2、S398L、K394R (SEQ ID NO:26)

[0110] MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKC
NGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRLGFLG VGS
AIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVVKQSCSISNIETVIEF
QQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPI TNDQKKLMSNNQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV
VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPS
EVNLCNVDIFNPKYDCRIMTLKTDVSSSVITSLGAI VSCYGKTKCTASNKNGI IKTFSNGCDYVSNGVDTVSVGN
TLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL_{SAIG}GYIPEAPRDGQAYVR
KDG EWVLLSTFL

序列表

<110> 扬森疫苗与预防公司

<120> 针对 RSV 的疫苗

<130> 0257 WO 00 ORD

<160> 26

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> RSV F 蛋白质 A2 全长序列

<400> 1

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

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val

[0001]

	180		185		190		
	Leu Asp 195	Leu Lys	Asn Tyr	Ile Asp 200	Lys Gln Leu Leu Pro 205	Ile Val Asn	
	Lys Gln 210	Ser Cys	Ser Ile	Ser Asn 215	Ile Glu Thr Val 220	Ile Glu Phe Gln	
	Gln Lys 225	Asn Asn	Arg Leu 230	Leu Glu	Ile Thr Arg 235	Glu Phe Ser Val Asn 240	
	Ala Gly	Val Thr 245	Thr Pro	Val Ser	Thr Tyr 250	Met Leu Thr Asn Ser 255	Glu
	Leu Leu	Ser Leu 260	Ile Asn	Asp Met	Pro Ile 265	Thr Asn Asp Gln Lys 270	Lys
	Leu Met 275	Ser Asn	Asn Val	Gln Ile 280	Val Arg Gln Gln	Ser Tyr Ser Ile 285	
	Met Ser 290	Ile Ile	Lys Glu	Glu Val 295	Leu Ala Tyr	Val Val Gln Leu Pro 300	
	Leu Tyr 305	Gly Val	Ile Asp 310	Thr Pro	Cys Trp Lys 315	Leu His Thr Ser Pro 320	
[0002]	Leu Cys	Thr Thr	Asn Thr 325	Lys Glu	Gly Ser 330	Asn Ile Cys Leu Thr Arg 335	
	Thr Asp	Arg Gly 340	Trp Tyr	Cys Asp	Asn Ala 345	Gly Ser Val Ser Phe Phe 350	
	Pro Gln	Ala Glu 355	Thr Cys	Lys Val 360	Gln Ser Asn Arg	Val Phe Cys Asp 365	
	Thr Met 370	Asn Ser	Leu Thr 375	Leu Pro	Ser Glu Val	Asn Leu Cys Asn Val 380	
	Asp Ile 385	Phe Asn	Pro Lys 390	Tyr Asp	Cys Lys Ile 395	Met Thr Ser Lys Thr 400	
	Asp Val	Ser Ser 405	Ser Val	Ile Thr	Ser Leu 410	Gly Ala Ile Val Ser Cys 415	
	Tyr Gly	Lys Thr 420	Lys Cys	Thr Ala	Ser Asn 425	Lys Asn Arg Gly Ile Ile 430	
	Lys Thr 435	Phe Ser	Asn Gly	Cys Asp 440	Tyr Val Ser	Asn Lys Gly Val Asp 445	
	Thr Val 450	Ser Val	Gly Asn 455	Thr Leu	Tyr Tyr Val	Asn Lys Gln Glu Gly 460	

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
565 570

<210> 2
<211> 574
<212> PRT
<213> 人工序列

[0003]

<220>
<223> RSV F 蛋白 B1 全长序列

<400> 2

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

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

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

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Thr Lys Cys Asn Gly Thr Asp Thr Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Ala Pro
100 105 110

Gln Tyr Met Asn Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser

Asp Ile Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly
 450 455 460

Lys Asn Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Thr Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

[0005] Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Val Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ile
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Lys
 565 570

<210> 3
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> FIBRITIN

<400> 3

Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys
 1 5 10 15

Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 20 25

<210> 4
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
<223> CR9501 HCDR1

<400> 4

Gly Ala Ser Ile Asn Ser Asp Asn Tyr Tyr Trp Thr
1 5 10

<210> 5
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9501 HCDR2

<400> 5

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

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9501 HCDR3

<400> 6

[0006]

Cys Gly Ala Tyr Val Leu Ile Ser Asn Cys Gly Trp Phe Asp Ser
1 5 10 15

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9501 LCDR1

<400> 7

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9501 LCDR2

<400> 8

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9501 LCDR3

<400> 9

Gln Gln Tyr Gln Tyr Leu Pro Tyr Thr
1 5

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

<220>
<223> CR9502 HCDR1

<400> 10

Gly Phe Thr Phe Ser Gly His Thr Ile Ala
1 5 10

<210> 11
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9502 HCDR2

<400> 11

[0007] Trp Val Ser Thr Asn Asn Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Ile Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 12
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9502 HCDR3

<400> 12

Glu Trp Leu Val Met Gly Gly Phe Ala Phe Asp His
1 5 10

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CR9502 LCDR1

<400> 13

Gly Ala Asn Asn Ile Gly Ser Gln Asn Val His
1 5 10

<210> 14
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CR9502 LCDR2

<400> 14

Asp Asp Arg Asp Arg Pro Ser
 1 5

<210> 15
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CR9502 LCDR3

<400> 15

Gln Val Trp Asp Ser Ser Arg Asp Gln Ala Val Ile
 1 5 10

<210> 16
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0008] <220>
 <223> CR9501 重链

<400> 16

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Ala Leu Thr Cys Asn Val Ser Gly Ala Ser Ile Asn Ser Asp
 20 25 30

Asn Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Gly Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Ser Tyr Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Ser Met Ser Leu Glu Thr Ser Gln Ser Gln Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Arg Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Ser Ala Val Tyr Phe
 85 90 95

Cys Ala Ala Cys Gly Ala Tyr Val Leu Ile Ser Asn Cys Gly Trp Phe
 100 105 110

Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys
225

<210> 17
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

[0009]

<220>
<223> CR9501 轻链

<400> 17

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Ser Val Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gln Tyr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Ala Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

<210> 19
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CR9502 轻链

<400> 19

[0011]

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Ala Asn Asn Ile Gly Ser Gln Asn Val
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45

Asp Asp Arg Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Arg Asp Gln
 85 90 95

Ala Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
 100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
 115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205

Ile Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 20

<211> 544

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PreF、RSV A2、fibrinin

<400> 20

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

[0012]

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

[0013] Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

<210> 21
<211> 574
<212> PRT
<213> 人工序列

[0014] <220>
<223> PreF、RSV A2、D486N (SEQ ID NO: 21)

<400> 21

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

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

[0015] Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asn Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
515 520 525

[0016]

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
565 570

<210> 22

<211> 574

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PreF、RSV A2、D489Y (SEQ ID NO: 22)

<400> 22

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

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

[0017] Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

[0018] Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Tyr Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 23
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> PreF、RSV A2、S398L、K394R (SEQ ID NO:23)

<400> 23

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

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

[0019]

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Arg Ile Met Thr Leu Lys Thr
 385 390 395 400

[0020] Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
565 570

<210> 24

<211> 544

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可溶性 PreF、RSV A2、D486N (SEQ ID NO:23)

<400> 24

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

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

[0021]

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 [0022] Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asn Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

<210> 25

<211> 544

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可溶性 PreF、RSV A2、D489Y (SEQ ID NO: 25)

<400> 25

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

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

[0023]

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
290 295 300

[0024] Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Tyr Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

<210> 26
<211> 544
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可溶性 PreF、RSV A2、S398L、K394R (SEQ ID NO: 25)

<400> 26

[0025]

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

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

[0026] Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Arg Ile Met Thr Leu Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

[0027]

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

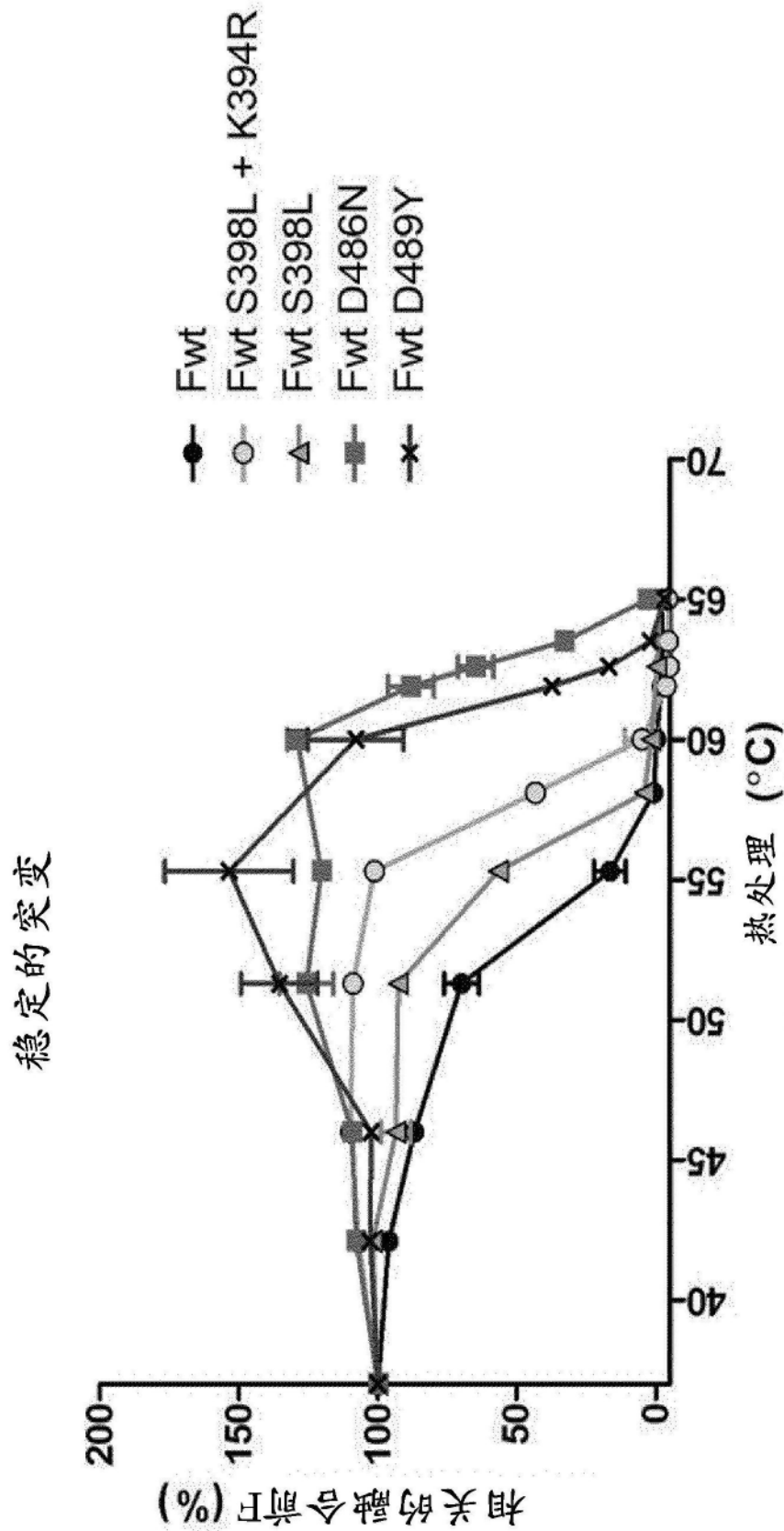


图1