

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2022年1月6日 (06.01.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/002180 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 38/21 (2006.01) *C12N 15/62* (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 31/12* (2006.01)
C12N 15/20 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/103931

(22) 国际申请日: 2021年7月1日 (01.07.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202010623708.8 2020年7月1日 (01.07.2020) CN
202110353488.6 2021年3月31日 (31.03.2021) CN

(71) 申请人: 中国科学院生物物理研究所 (INSTITUTE OF BIOPHYSICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国北京市朝阳区大屯路15号, Beijing 100101 (CN)。

(72) 发明人: 傅阳心(FU, Yangxin); 中国北京市朝阳区大屯路15号, Beijing 100101 (CN)。 彭华(PENG, Hua); 中国北京市朝阳区大屯路15号, Beijing 100101 (CN)。 孙士玉(SUN, Shiyu); 中国北京市朝阳区大屯路15号, Beijing 100101 (CN)。

(74) 代理人: 中科专利商标代理有限责任公司 (CHINA SCIENCE PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.); 中国北京市海淀区西三环北路87号4-312室, Beijing 100089 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,

CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: CONSTRUCTION AND APPLICATION OF FUSION PROTEIN VACCINE PLATFORM

(54) 发明名称: 融合蛋白疫苗平台的构建与应用

(57) Abstract: The present invention relates to the construction and application of a fusion protein vaccine platform. The present invention provides a vaccine, comprising a fusion protein containing an interferon-target antigen-immunoglobulin Fc region (or antibody) and a Th cell helper epitope. The present invention also relates to use of a fusion protein containing an interferon-target antigen-immunoglobulin Fc region (or antibody) and a Th cell helper epitope in the preparation of prophylactic or therapeutic compositions. The vaccine of the present invention can be produced by eukaryotic cell expression systems to prepare wild-type and various mutant antigen vaccines, and vaccination by means of subcutaneous/muscular or nasal or other routes can lead to a strong immune response to a body. The vaccine of the present invention can be used as a prophylactic or therapeutic vaccine.

(57) 摘要: 本发明涉及融合蛋白疫苗平台的构建与应用。本发明提供一种疫苗, 其包含含有干扰素-靶抗原-免疫球蛋白Fc区(或抗体)和Th细胞辅助表位的融合蛋白。本发明还涉及含有干扰素-靶抗原-免疫球蛋白Fc(或抗体)区和Th细胞辅助表位的融合蛋白用于制备预防性或治疗性组合物的用途。本发明的疫苗可以通过真核细胞表达系统产生, 制备野生型和各种突变抗原的疫苗, 通过皮下/肌肉或者鼻腔等免疫途径进行接种, 能够引起机体强烈的免疫应答。本发明的疫苗可以作为预防性或治疗性疫苗来使用。

WO 2022/002180 A1

融合蛋白疫苗平台的构建与应用

技术领域

本发明属于基因工程和生物医学技术领域，具体涉及一种疫苗，例如包含含有干扰素-靶抗原-免疫球蛋白 Fc 区（抗体）为主要骨架的融合蛋白的疫苗。本发明的疫苗可以作为疫苗平台，用于预防乙肝病毒（HBV）感染、HPV、EBV、HIV、SARA-COV2、流感病毒感染和 HPV、EBV 相关肿瘤的发生以及治疗慢性乙型肝炎（chronic hepatitis B, CHB）感染、治疗 HBV、HP、EBV 相关肿瘤的用途。

背景技术

全球约有 2.57 亿慢性病毒感染者，每年约有 8.87 万人死于 HBV 所引起的终末期肝病，包括肝功能衰竭、肝硬化、肝细胞肝癌^[1-3]。肝硬化病人中大约有 30% 由 HBV 所引起，大约 40% 的肝细胞肝癌（HCC）由 HBV 所引起^[4]。乙型肝炎病毒感染依旧是全球重大公共健康问题。但是目前仍旧没有有效治疗慢性乙型肝炎的策略，现有的 HBV 治疗方式主要包括抗病毒药物(核苷/核苷酸类似物)和干扰素，它们虽然有一定的治疗效果疗效，但是通常不能诱导有效的免疫应答，从而无法彻底清除 HBV 感染；而且长期用药导致的副作用较大，抗病毒药物也会产生耐药性。慢性 HBV 感染是威胁人类身体健康的主要疾病之一，探索慢性乙型肝炎有效的免疫治疗策略迫在眉睫，研制慢性乙型肝炎的治疗性疫苗具有十分重要的社会意义和经济意义。

季节性流感每年会导致 1-4 百万人产生严重的疾病并且导致 20-50 万人死亡^[5]。疫苗途径是预防和控制流感的最佳方式，疫苗能够减少疾病的发生并且能够降低感染的严重性，特别是在幼儿和老年人这种有流感并发症的风险群体。即使当前批准的流感疫苗能够在健康的年轻成人体内产生良好的保护效果，但是依旧存在一些需要解决的问题。比如有些疫苗的产生途径依赖于鸡胚，如灭活的流感疫苗和减毒的流感疫苗，这些疫苗的一个缺点是如果流行的毒株是禽类起源的，同时疾病的流行会导致疫苗和鸡胚的需求增加，这会导致鸡胚的供应出现问题^[6]。另一个不利因素是这些疫苗的产生需要大量的时间。对于流感病毒来说老年人更容易产生严重的综合征，同时标准的疫苗对于老年人来说一般效果十分不理想，老年人对于免疫系统会随着年龄的增长而逐渐衰弱^[7]。鉴于当前流感疫苗所遇见的问题，针对于流感病毒的流行当前迫切需要一种有较强免疫原性，不依赖于鸡胚，可以快速产生的流感疫苗。

严重急性呼吸系统综合冠状病毒 2(SARS-CoV-2)是引起 2019 冠状病毒病(COVID)大流行的病原体, SARS-CoV-2 引起的临床症状主要包括无症状感染、轻度流感样症状、肺炎和严重的急性呼吸窘迫综合征, 在严重的情况下会引起感染患者的死亡。现在对于新型冠状病毒还没有特效药出现, 疫苗是控制与终止新冠大流行的基本对策^[9]。另外, 新冠病毒突变体的出现对现有的候选疫苗和疫情的控制都提出了新的挑战^[10], 因此一种强效并且可以对新冠病毒突变体同样发挥作用的疫苗在当前疫情状况下是迫切需要的。

当把抗原与免疫球蛋白 Fc 区相连接时, 抗原的半衰期会得到明显的延长, 并且免疫球蛋白 Fc 区可以与抗原提呈细胞表面的 Fc 受体相结合从而促进抗原提呈细胞对抗原的加工与提呈^[11-13]。I 型干扰素作为一种抗病毒细胞因子有许多生物活性, 其中一个就包含对免疫细胞的刺激作用^[14]。IFN α 可以强有力的诱导人的 DC 细胞的分化与活化^[15]。I 型干扰素作用于未成熟的 DCs 后, 能够促进 DCs 细胞表面的 MHC 分子和共刺激分子的表达, 如: MHC class I、CD80 和 CD86, 进而增强 DCs 活化 T 细胞的能力^[16-18]。有报道指出, 在牛痘病毒和淋巴细胞性脉络丛脑炎病毒(LCMV)感染后, I 型干扰素能够促进 DCs 的抗原递呈能力^[19-21]。此外, I 型干扰素作用于 DCs 后能够通过上调趋化因子受体的表达, 促进 DCs 迁移到淋巴结, 进而促进 T 细胞的激活^[22, 23]。最近越来越多的研究表明 I 型干扰素可作为免疫佐剂来使用。Le Bon 等人的研究表明当以弱的免疫原免疫小鼠时, I 型干扰素在小鼠体内展现出了强劲的免疫佐剂作用诱导产生了长效抗体和免疫记忆^[24], 作者也发现 I 型干扰素发挥作用的主要细胞类群为 DC 细胞。同时利用抗体, 将疫苗靶向递送给 DC, 刺激 DC 活化和交叉递呈功能, 将进一步增强疫苗的活性和效价。

本发明存在提供增强机体对病毒、细菌或肿瘤抗原的反应的疫苗平台的需要。

发明内容

疫苗是预防和控制重大突发传染病的有效方式, 疫苗的形式有各种类型, 其中重要的一类为蛋白亚单位疫苗。一般来说单纯的蛋白亚单位疫苗, 其免疫原性一般较差, 这往往限制了蛋白亚单位疫苗的使用。因此一种通用型蛋白亚单位疫苗平台是十分迫切需要的。依据免疫球蛋白 Fc 区域和 I 型干扰素对免疫系统的影响, 发明人特提出干扰素 α -病毒抗原、细菌或肿瘤-免疫球蛋白 Fc 区融合蛋白疫苗平台来增强机体对病毒、细菌或肿瘤抗原的反应。本发明提供了一种 I 型干扰素-蛋白抗原-免疫球蛋白 Fc 疫苗平台, 其中 I 型干扰素可以作用于抗原提呈细胞使其成熟与迁移从而更好的发挥抗原

提呈与激活 T 细胞的作用,另一方面该疫苗平台的 Fc 部分可以与抗原提呈细胞表面的 Fc 受体相结合从未增强抗原提呈细胞对抗原的摄取从而进一步帮助抗原提呈细胞发挥作用。发明人提出融合 Th 细胞辅助表位,可以进一步提升 I 型干扰素-蛋白抗原-免疫球蛋白 Fc 疫苗的免疫应答效果,是该疫苗的重要组成部分。发明人提出可以利用 anti-PD-L1 等抗体替换 Fc,将疫苗靶向递送给 DC,刺激 DC 活化和交叉递呈功能,将进一步增强疫苗的活性和效价。本发明作为一种新型疫苗平台可以作为病毒感染、细菌感染或肿瘤等疾病的预防性和治疗性疫苗来使用。

在一些实施方案中,本发明提供一种疫苗,其包含含有干扰素-靶抗原-免疫球蛋白 Fc 区(或抗体)的融合蛋白(附加 Th 表位)。在一些实施方案中,本发明还提供含有干扰素-靶抗原-免疫球蛋白 Fc 区(或抗体)的融合蛋白(附加 Th 表位)用于制备预防性或治疗性组合物或试剂盒(例如药物或疫苗组合物或试剂盒)的用途。本发明的疫苗可以通过真核细胞表达系统产生,通过皮下/肌肉或者鼻腔等免疫途径进行接种。对于本发明的融合多肽,其中作为结构单元的抗体(简称 Ab)没有特别限制,可以包括例如完整抗体或抗体的片段,例如抗体重链和轻链,或单链抗体,可以为 DC 靶向活化抗体,包括 anti-PD-L1, anti-DEC205, anti-CD80/86 等抗体。

在一些实施方案中,本文所述靶抗原没有特别限制,可以为任何适当抗原。在一些实施方案中,本文所述靶抗原可以为例如肿瘤抗原和/或病原体抗原(如病毒或细菌抗原)。在一些实施方案中,本文所述靶抗原可以为例如肿瘤抗原,例如肿瘤细胞高表达蛋白分子,例如,人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2/neu)、表皮生长因子(Epidermal growth factor receptor, EGFR)。

在一些实施方案中,本发明提供的疫苗中使用的靶抗原可以为例如与野生型不同的突变的靶抗原。在一些实施方案中,本文所述靶抗原可以为例如肿瘤抗原和/或病原体抗原(如病毒或细菌抗原)的突变体。在一些实施方案中,所述靶抗原可以为例如 SARS-COV-2 病毒 S 蛋白全长或 S1 区,例如所述靶抗原可以为 SEQ ID NO.76 或 SEQ ID NO.77 所示的抗原。在本文中,野生型靶抗原是指由野生型基因编码的病毒或其他感染原或肿瘤所表达的具有免疫原性的蛋白(野生型基因指自然界中占多数的等位基因,在生物学实验中常作为标准对照基因),如来源于 SARS-CoV-2 最初野生型毒株的 Spike 蛋白(S 蛋白)。在本文中,突变的靶抗原(突变体)是指由野生型基因突变而来的突变型基因编码的突变病毒株所表达的突变病毒蛋白,例如已发现的不同突变新冠病毒 S 蛋白的点突变包含:NTD 区域 69-70 缺失、Y144 缺失、242-244 缺失、L18F、D80A、D215、R246I 突变,RBD 区域 K417、E484、N501Y 等突变、L452R 突变、T478K

突变, D614G, H655Y 突变。例如这些点突变以不同的组合方式存在于来源于英国 B.1.1.7(Alpha)突变株、南非 B.1.351(Beta) 突变株、巴西 P1 (Gamma) 突变株、印度 B.1.617、B.1.617.1 (Kappa)、B.1.617.2 (Delta)、B.1.617.3 突变株、加州 B.1.429 突变株等突变的新冠病毒。在一些实施方案中, 突变的靶抗原可以包括例如天然点突变/缺失突变/增多突变/截短体、人工点突变/缺失突变/增多突变/截短体、天然或人工突变的任何组合、突变后所产生的亚型, 其中所述靶抗原可以是肿瘤抗原, 病原体抗原, 如病毒 (例如 SARS-COV-2) 或细菌抗原。在一些实施方案中, 本发明提供的疫苗中使用的靶抗原是突变的病毒抗原, 例如所述突变的病毒抗原可以为 SARS-COV-2 的突变体, 包括例如 SARS-COV-2 蛋白 (例如 S 蛋白、N 蛋白、M 蛋白、E 蛋白中的一个或多个) 的天然点突变/缺失突变/增多突变/截短体、人工点突变/缺失突变/增多突变/截短体、天然或人工突变的任何组合、突变后所产生的亚型, 例如所述突变的病毒抗原可以为 S 蛋白全长、S1 区、RBD 区的突变体, 例如所述突变的病毒抗原可以包含 SARS-COV-2 的 S 蛋白的下述一个或多个突变: NTD 区域 69-70 缺失、Y144 缺失、242-244 缺失、L18F、D80A、D215、R246I 突变, RBD 区域 K417、E484、N501Y 突变、L452R 突变、T478K 突变, D614G, H655Y 突变, 例如例如所述突变的病毒抗原可以包含存在于来源于英国 B.1.1.7(Alpha)突变株、南非 B.1.351(Beta) 突变株和巴西 P1 (Gamma) 突变株、印度 B.1.617、B.1.617.1 (Kappa)、B.1.617.2 (Delta)、B.1.617.3 突变株、加州 B.1.429 突变株中的突变, 例如所述突变的病毒抗原可以包含 SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.81 中任一个所示突变的突变体, 例如所述突变的病毒抗原可以为包含 SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84 中任一个所示序列的突变体。在本文中, 除非另有明确说明或上下文明确限制, 本文提及靶抗原一般包括野生型靶抗原和突变体靶抗原。

本发明的目的是提供了一种疫苗平台, 所述疫苗平台由干扰素 (IFN) 与肿瘤、细菌或者病毒抗原 (乙肝病毒 Pres1 抗原, SARS-COV2 RBD 抗原, 流感 HA 抗原, 人乳头状瘤病毒 HPV E7 抗原, 乙肝病毒表面抗原 (HBsAg) 抗原或肽段, 带状疱疹病毒 (VZV) gE 抗原, 埃博斯坦-巴尔病毒 (EBV) EBNA1/LMP2/gp350, 单纯疱疹病毒 2 (HSV-2) gD 抗原, 艾滋病毒 (HIV) gp120 抗原 -免疫球蛋白 Fc 区域 (或抗体) 组成 (附加 Th 表位)。所述融合蛋白可以为同源或者异源二聚体蛋白。当所述融合蛋白为二聚体时, 作为结构单元的干扰素、靶抗原、免疫球蛋白 Fc 区 (或抗体 Ab) 可以存在于第一多肽链和/或第二多肽链中, 各结构单元的存在方式没有特别限制, 例如可以同时存在于一条链中, 也可以在一条链中存在任意一个或多个结构单元, 而在另

一条链中存在另外的一个或多个结构单元。

本发明所述干扰素可以选自 I 型干扰素、II 型干扰素和 III 型干扰素，例如 IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- λ 1(IL-29)、IFN- λ 2(IL-28a)、IFN- λ (IL-28b) 和 IFN- ω ；所述 IFN 可来自人源或鼠源；优选 I 型干扰素 IFN- α (SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.22)。

本发明所述免疫球蛋白 Fc 区可选自 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4/或 IgM 的恒定区氨基酸序列，优选 IgG1(SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24)。

本发明的融合多肽还可以任选地包含一个或多个 Th 细胞辅助表位和/或连接片段(接头)。例如，当所述融合蛋白为二聚体时，任选地所述融合蛋白还可以在同源二聚体或者异源二聚体的任意一条或两条链(即第一多肽链和/或第二多肽链)中包含一个或多个 Th 细胞辅助表位和/或连接片段。如本领域技术人员已知的，在融合蛋白的各个结构单元之间可以通过适当的连接片段(接头)连接。可以在本发明的疫苗中使用的连接片段没有特别限制，可以是本领域已知的任何适当肽片段。本发明所述各个结构单元的连接片段可以为柔性多肽序列，可以为连接片段 1 和 2，例如 SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.25 氨基酸序列所示。

本发明所述各个结构单元组成的多肽序列 N 端均含有能够促进蛋白分泌的相应信号肽，例如 SEQ ID NO.5 氨基酸序列所示。

本发明所描述的优选抗原包括乙肝 Pres1 抗原，包含 ad 亚型 (SEQ ID NO.6) ay 亚型 (SEQ ID NO.26)，HBV HBsAg 抗原(各个亚型和肽段)，包含 adr 亚型 (SEQ ID NO.7)，adw 亚型 (SEQ ID NO.27)，ayw 亚型 (SEQ ID NO.28)，SARA-COV2 RBD 抗原 (SEQ ID NO.8)，流感病毒 HA 抗原 (SEQ ID NO.9)，HPV E7 抗原 (SEQ ID NO.10)。疱疹病毒 VZV-gE 抗原 (SEQ ID NO.91)，EBV-gp350 抗原 (SEQ ID NO.92)，HSV-2-gD 抗原 (SEQ ID NO.93)。

本发明所描述的同源二聚体蛋白包含第一条多肽与第二条多肽，第一条多肽与第二条多肽完全相同。第一条多肽与第二条多肽从 N 段到 C 段顺序为 IFN-肿瘤或者病毒抗原(乙肝 Pres1 抗原，SARS-COV2 RBD 抗原，流感 HA 抗原，HPV E7 抗原，HBsAg 抗原，VZV-gE 抗原，EBV EBNA1/LMP2/gp350，HSV-2-gD 抗原，HIV gp120 抗原)-免疫球蛋白 Fc 区域；或含有 Pan 表位的多肽。包含 SEQ ID NO.11、12、13、14、29、30、31、32、38、39、40、47、48、49、50、51、56、57、59、58、65、66、67、68 所示氨基酸序列。

本发明所述异源二聚体包含第一条多肽和第二条对肽，所述第一条多肽与第二条多肽不为同一条多肽，所述第一条多肽从 C 段到 N 端分别为 IFN-免疫球蛋白 Fc 区域，

包含 SEQ ID NO.15、33、42、51、60、69 所示核苷酸序列；所述第二条多肽从 C 段到 N 段分别为肿瘤或者病毒抗原（乙肝 Pres1 抗原，SARS-COV2 RBD 抗原，流感 HA 抗原，HPV E7 抗原，VZV-gE 抗原，EBV EBNA1/LMP2/gp350，HSV-2-gD 抗原，HIV gp120 抗原）-免疫球蛋白 Fc 区域；包含 SEQ ID NO. 16、17、18、19、34、35、36、37、43、44、45、46、52、53、54、55、61、62、63、64、70、71、72、73 所示氨基酸序列。

本发明还提供编码上述 IFN-肿瘤或者病毒抗原乙肝 Pres1 抗原，HBsAg 抗原或肽段，SARS-COV2 RBD 抗原，流感 HA 抗原，HPV E7 抗原，VZV-gE 抗原，EBV EBNA1/LMP2/gp350，HSV-2-gD 抗原，HIV gp120 抗原-免疫球蛋白 Fc 疫苗平台的氨基酸序列。

本发明还涉及编码所述疫苗平台、融合蛋白的核苷酸片段。

本发明还涉及所述的融合蛋白或疫苗平台的制备方法，例如所述的制备方法包括如下步骤：

（1）构建包含所述编码所述融合蛋白或疫苗平台的编码基因的表达载体，优选的，所述的表达载体是 pEE12.4 表达载体；

（2）通过瞬时转染宿主细胞的方法构建包含所述表达载体的宿主细胞，优选的，所述的宿主细胞是 293F 细胞；

（3）培养所述宿主细胞并收集细胞上清；

（4）通过 ProteinA/G 的亲亲和层析柱纯化蛋白纯化所述融合蛋白或疫苗平台。

本发明另外包含该疫苗平台的应用，该疫苗平台可作为乙肝预防性疫苗的使用，该疫苗平台作为乙肝治疗性疫苗的使用，该疫苗平台作为流感预防性疫苗的使用，该疫苗平台作为 SARS-COV2、流感、HPV、VZV、EBV、HSV-2、HIV 预防性疫苗的使用，述疫苗平台作为 HPV、EBV 相关肿瘤预防性疫苗的使用。

本发明包含所述疫苗平台所使用的佐剂，其中所述佐剂包括铝佐剂(Alum)、Toll 样受体 4 激活剂配体 MPLA、Toll 样受体 9 配体，M59，寡聚脱氧核苷酸(CpG-ODN) 和弗氏佐剂。

本发明包含所述疫苗平台作为 HBV 治疗性疫苗联合乙型肝炎病毒包膜蛋白 HBsAg 疫苗进行慢性乙型肝炎病毒感染治疗过程中的临床使用。

本发明包含所述疫苗平台作为 HBV 治疗性疫苗联合核苷或者核苷酸类似物进行慢性乙型肝炎病毒感染治疗过程中的临床使用。

本发明包含所述疫苗平台作为 HBV、流感、SARS-COV2、HPV、VZV、EBV、

HSV-2、HIV 预防性或治疗性疫苗等与抗病毒药物和其他治疗方法的联合应用；HBV、HPV、EBV 相关肿瘤预防性或治疗性疫苗与抗病毒抗肿瘤药物和疗法的联合应用。

本发明包含所述疫苗平台作为疫苗的一个成分与其他病毒或病原体或肿瘤疫苗组成的多价联用疫苗。

本发明包含所述疫苗平台的任何一种融合蛋白疫苗与同一病毒、病原体或肿瘤的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗按照先后顺序或同时免疫程序进行免疫。

本发明包含所述疫苗平台抗原的全长序列和任何截短体序列，例如 SEQ ID NO.76、SEQ ID NO.77、SEQ ID NO.78。

本发明含所述融合蛋白疫苗抗原的可能出现的任何突变体，包括天然点突变/缺失突变/截短体、天然点突变的任何组合、突变后所产生的亚型、以及本专利发明人为增强疫苗效果所构建的人工的点突变/缺失突变/截短体等突变序列，例如 SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82、SEQ ID NO.83、SEQ ID NO.84。

本发明任何一种疫苗作为疫苗的一个成分与本发明的另一种疫苗或不同于本发明疫苗的其他疫苗如其他病毒或病原体或肿瘤疫苗组成的多价联用疫苗，例如，本发明的 SARS-COV-2 融合蛋白疫苗与流感疫苗或其他疫苗联用的多价疫苗，例如本发明任何一种疫苗与同一病毒、病原体、肿瘤的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗按照先后顺序或同时免疫程序进行免疫，例如 SARS-COV-2 融合蛋白疫苗与 SARS-COV-2 的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗按照先后顺序或同时免疫程序进行免疫，例如先后免疫顺序可以为：1)先免疫接种本发明的 SARS-COV-2 融合蛋白疫苗，后免疫 SARS-COV-2 的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗；2)先免疫 SARS-COV-2 的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗，后免疫 SARS-COV-2 融合蛋白疫苗；3) SARS-COV-2 融合蛋白疫苗与 SARS-COV-2 的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗同时免疫。如本领域已知的，在联合使用时，联合使用的疫苗可以制备为方便使用的试剂盒。

相比与现有技术本发明包括但不限于下列有益效果：

1. 本发明提供的 IFN-肿瘤或者病毒抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）疫苗平台其抗原可以是多种组分变化的，既可以为肿瘤相关抗原也可以为病毒特异型抗原，这增强了疫苗平台使用的灵活性，也增强了此疫苗平台的使用范围。

2. 本发明提供的 IFN-肿瘤或者病毒抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）疫苗平台，其中的干扰素（IFN）可以增强抗原提呈细胞的迁移与成熟，使其表达的共刺激分增加，

从而使其更有利于向 T 细胞呈递抗原，同时疫苗平台中的 Fc 区域（或抗体），一方面增强了抗原的分子量从而增加了其半衰期，另一方面 Fc 区（或抗体）可以与抗原提呈细胞表面的 Fc 受体相结合从而促进抗原提呈细胞对抗原的加工与提成，从而更有利于免疫反应的产生。

3. 本发明提供的 IFN-肿瘤或者病毒抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）疫苗平台，有真核 HEK293 细胞表达系统表达，HEK293 细胞表达的蛋白不管在分子结构还是理化特征和蛋白修饰及蛋白的生物学功能都与天然蛋白分子更加接近。

4. 本发明提供的 IFN-肿瘤或者病毒抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）疫苗平台，具有同源或者异源二聚体的两种结构，针对不同的抗原有更优秀的选择。

5. 本发明提供的 IFN-肿瘤或者病毒抗原-免疫球蛋白 Fc 疫苗平台，可以通过融合 Th 细胞辅助表位，例如 Pan 表位、利用 anti-PD-L1 等 DC 靶向抗体、添加刺激免疫应答的各类佐剂，从而激活 DC 增强 DC 交叉递呈，产生强大的 B 细胞、T 细胞免疫应答。

6. 本发明提供的 IFN-肿瘤或者病毒抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）疫苗平台，使用范围广泛不仅可以作为预防性疫苗使用，同时也可以作为治疗性疫苗使用。

7. 本发明提供的 IFN-肿瘤或者病毒抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）疫苗平台，不仅可以单独使用，同时也可以联合现有的 HBsAg 商业化疫苗、联合核苷/核苷酸类似物一起作为治疗性疫苗来使用。

8. 本发明提供的疫苗平台作为疫苗的一个成分可以与其他病毒或病原体或肿瘤疫苗组成的多价联用疫苗。

9. 本发明提供的疫苗平台中任何一种融合蛋白疫苗可以与同一病毒、病原体或肿瘤的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗按照先后顺序或同时免疫程序进行免疫。

10. 本发明所提供的疫苗平台抗原的全长序列和任何截短体序列。

11. 本发明所提供的疫苗平台抗原的可能出现的任何突变体，包括天然点突变/缺失突变/增多突变/截短体、天然点突变的任何组合、突变后所产生的亚型、以及本专利发明人为增强疫苗效果所构建的人工的点突变/缺失突变/增多突变/截短体等突变序列。

本文涉及的序列信息：

1. 单元构件序列：

SEQ ID NO.1: 小鼠 mIFN α 4 氨基酸序列 (mIFN α)

CDLPHTYNLGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
AVRTYFHRITVYLRKKKHSLSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKE

SEQ ID NO.21: Human IFN α 2 氨基酸序列 (hIFN α)

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLNDEACVIQGVGTETPLMKED
SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE

SEQ ID.NO.22: Human mutant IFN α 2 (Q124R) 氨基酸序列 (hmIFN α)

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLNDEACVIQGVGTETPLMKED
SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE

SEQ ID NO.2: 人 IgG1-Fc 氨基酸序列

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSGDSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSVLSLHEALHNHYTQKSLS
LSPGKHV

SEQ ID No.23: 异源二聚体 Fc-hole

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVLSLHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID No.24: 异源二聚体 Fc-knob

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN

NYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

SEQ ID NO.3: Th 辅助表位 Pan HLA DR-binding epitope (PADER) 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAA

SEQ ID NO.4: Linker 1 氨基酸序列:

GGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO.25: Linker 2 氨基酸序列:

GSGSGS

SEQ ID NO.5: 信号肽氨基酸序列:

MARLCAFLMILVMMSYYWSACSLG

SEQ ID NO.6: HBV Pres1 (ad 亚型)的氨基酸序列

MGGWSSKPRKGMGTNLSVNPPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAA
NQVGVGAFGPGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRD
SHPQA

SEQ ID NO.26: HBV Pres1 (ay 亚型)的氨基酸序列

MGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPDANKVGAGAFGLG
FTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTPLSPPLRNTHPQA

SEQ ID NO.7: HBV HBsAg (adr 亚型)的氨基酸序列

MENTTSGFLGPLLVLQAGFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGAPTCPGQNSQSPTS
NHSPTSCPPICPGYRWMCLRRFIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLLPGTSTTST
GPCKTCTIPAQGTSMFPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWAFARFLWEWASVRFSWLSLL
VPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYNILSPFLPLLPIFFCLWVYI

SEQ ID NO.27: HBV HBsAg (adw 亚型)的氨基酸序列

MENITSGLLGPLLVLQAGFLLTRILTIPQSLDSWWTSLSFLGEAPVCLGQNSQSPTR
NHSPTSCPPICPGYRWMCLRRFIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSTTTST
GPCKTCTTPAQGNSMFPSCCCTKPTDGNCTCIPISSWAFAYLWEWASVRFSWLSL
LVPFVQWFVGLSPTVWLSAIWMIWYWGPSLYSIVCPFTPLLQIFCCLWVFI

SEQ ID NO.28: HBV HBsAg (ayw 亚型)的氨基酸序列

MENITSGFLGPLLVLQAGFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQSSQSPTS
HSPTSCPPTCPGYRWMCLRRFIIFLIFLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTSTG
PCRTCMTTAQGTSMYPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWAFGKFLWEWASARFSWLSLL
VPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPIFFCLWVYI

SEQ ID NO.8: SARS-CoV-2 RBD 的氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
KCYGVSPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
AWNSNNLDSKVGGNYNLYRFRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP
LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

SEQ ID NO.9: 流感病毒的 HA 氨基酸序列

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLEDSHNGKLCRLKGIAPLQLGKCNI
AGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEI
FPKESWPNHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSPKLNKSYVNKKGKE
VLVLWGIHHPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERPVRDQAGRMN
YYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKCQTPLGAI
NSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPSIQSR

SEQ ID NO.10: HPV-E7 抗原的氨基酸序列

MHGDPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQAEPDRAHYNIVT
FCCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPICSQKP

2. 鼠源 IFN 疫苗 mIFN α -抗原-Fc 序列:

SEQ ID NO.11: 同源二聚体中 mIFN α -Pres1-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
AVRTYFHRITVYLRKKKHS LCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKESGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGRTMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDT
WPDANKVGAGAFGLGFTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTP
LSPPLRNTHPQAFEEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVT

CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLH
EALHNHYTQKSLSLSPGKHV

SEQ ID NO.12: 同源二聚体中 mIFN α -RBD (SARS-CoV-2)-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALT VLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
LRDLTQQILNLF TSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
AVRTYFHRITVYLRKKKHS LCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKESGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGRTRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISN
CVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGK
IADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQ
AGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKS
TNLVKNKCVNFFEEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLH
EALHNHYTQKSLSLSPGKHV

SEQ ID NO.13: 同源二聚体中 mIFN α -HA-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALT VLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
LRDLTQQILNLF TSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
AVRTYFHRITVYLRKKKHS LCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKESGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGR TDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVN LLED SHNGK
LCRLKGIAPLQLGKCN IAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDY
EELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSH EGKSSFYRNLLWLTEKEGS
YPKLKNSYVNKKGKEVLVLWGIHHPNSKEQQNLYQ NENAYVSVVTSNYNRRFTP
EIAERP KVRDQAGRMNYYW TLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNA
SMHECNTK CQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGEC PKYVRS AKLRMVTGLRNNPSIQSR
FEEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES

NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKS
LSLSPGKHV

SEQ ID NO.14: 同源二聚体中 mIFN α -E7 (HPV)-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPLTQEDSLL
AVRTYFHRITVYLRKKKHSLSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKESGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGRTMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGP
AGQAEPDRAHYNIVTFCKCDSTLRRCVQSTHVDIRTLEDLLMGTGLGIVCPICSQKP
FEETPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKS
LSLSPGKHV

SEQ ID NO.15: 异源二聚体中第一条链 mIFN α -Fc-hole 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPLTQEDSLL
AVRTYFHRITVYLRKKKHSLSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKESGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGRTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.16: 异源二聚体 mIFN α -Pres1-Fc 中第二条链 Pres1-Fc-knob 氨基酸序列

MGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPDANKVGAGAFGLG
FTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTPLSPPLRNTHPQAFEDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.17: 异源二聚体 mIFN α -RBD (SARA-CoV-2)-Fc 中第二条链 RBD (SARS-CoV-2)-Fc-knob 氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP
 LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFFEDKTH
 TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.18: 异源二聚体 mIFN α -HA-Fc 中第二条链 HA-Fc-knob 氨基酸序列

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLED SHNGKLCRLKGIAPLQLGKCNI
 AGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKESSWPNHNTNGVTAACSHGKSSFYRNLLWLTEKEGSSYPKLNKSYVNKKGKE
 VLVLWGIHHPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERP KVRDQAGR MN
 YYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKCQTPLGAI
 NSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPSIQSRFEDKTH TCPPCPAPELL
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.19: 异源二聚体 mIFN α -E7 (HPV)-Fc 中第二条链 E7-Fc-knob 氨基酸序列

MHGDPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQAEPDRAHYNIVT
 FCCCKDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPICSQKPFEDKTH TCPPCPAPEL
 LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

3. 鼠源 IFN 含 Pan 表位的疫苗 IFN α -Pan-抗原-Fc 序列:

SEQ ID NO.29: 同源二聚体中 mIFN α -Pan -Pres1-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
 LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
 AVRITYFHRITVYLRKKKHSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKEGGGGSGG
 GSGGGGSRTAKFVAAWTLKAAAGSGSGSMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANT
 ANPDWDFNPNKDTWPDANKVGAGAFGLGFTPPHGGLLWSPQAQGILQTLPANPP
 PASTNRQTGRQPTPLSPPLRNTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQ
 LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.30: 同源二聚体中 mIFN α -Pan -RBD (SARS-CoV-2)-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
 LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
 AVRITYFHRITVYLRKKKHSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKEGGGGSGG
 GSGGGGSRTAKFVAAWTLKAAAGSGSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRF
 ASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRG
 DEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNNYNYLYRFRKSN
 LKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELL
 HAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
 LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNV
 FSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.31: 同源二聚体中 mIFN α -Pan -HA-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
 LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
 AVRITYFHRITVYLRKKKHSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKEGGGGSGG
 GSGGGGSRTAKFVAAWTLKAAAGSGSGSDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVT
 HSVNLLLED SHNGKLCRLKGIAPLQLGKCNIA GWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPN

SENGICYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHGKSSF
 YRNLLWLTEKEGSYPKLNNSYVNKKGKEVLVLWGIHPPNSKEQQNLYQENAYV
 SVVTSNYNRRFTPEIAERP KVRDQAGRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFA
 LSRGFGSGIITSNASMHECNTKCQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRM
 VTGLRNNPSIQSRFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVV
 VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
 EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
 DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEAL
 HNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.32: 同源二聚体中 mIFN α -Pan -E7 (HPV)-Fc 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
 LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
 AVR TYFHRITVYLRKKKHSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKEGGGGSGG
 GGGSGGGGSRTAKFVAAWTLKAAAGSGSGSMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYE
 QLNDSSSEEEDEIDGPAGQAEPDRAHYNIVTFCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLL
 MGTLGIVCPICSQKPFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYF
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEA
 LHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.33: 异源二聚体中第一条链 mIFN α -Fc-hole 氨基酸序列

CDLPHTYNLGNKRALTVLEEMRRLPPLSCLKDRKDFGFPLEKVDNQQIQKAQAILV
 LRDLTQQILNLFTSKDLSATWNATLLDSFCNDLHQQQLNDLKACVMQEPPLTQEDSLL
 AVR TYFHRITVYLRKKKHSLCAWEVIRAEVWRALSSSTNLLARLSEEKESGGGGSG
 GGGSGGGGGSGGGGRTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYF
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.34: 异源二聚体 mIFN-Pan-Pres1-Fc 中第二条链 Pan-Pres1-Fc-knob 氨基酸

序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNP
 NKDTWPDANKVGAGAFGLGFTPPHGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGR
 QPTPLSPPLRNTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
 VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
 HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.35: 异源二聚体 mIFN α -Pan-RBD (SARA-CoV-2)-Fc 中第二条链 Pan-RBD (SARS-CoV-2)-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNPK
 RISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQ
 TGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDIST
 EIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSEFELLHAPATVCGP
 KKSTNLVKNKCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.36: 异源二聚体 mIFN α -Pan-HA-Fc 中第二条链 Pan-HA-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLSDSH
 NGKLCRLKGIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGD
 FIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHGKSSFYRNLLWLTE
 KEGSYPKLNKSYVNKKGKEVLVLWGIHHPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNR
 RFTPEIAERPQVRDQAGRMNYYWTLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGII
 TSNASMHECNTKCQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPS
 IQSRFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN

GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK

SEQ ID NO.37: 异源二聚体 mIFN α -Pan-E7 (HPV)-Fc 中第二条链 Pan-E7-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEED
EIDGPAGQAEPDRAHYNIVTFCCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPIC
SQKPFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK

4. 人源 IFN 疫苗 hIFN α -抗原-Fc 序列:

SEQ ID NO.38: 同源二聚体中 hIFN α -Pres1-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDEACVIQGVGTETPLMKED
SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSG
GGSGGGGSRMTMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPA
NKVGAGAFGLGFTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTPLSPPL
RNTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

SEQ ID NO.39: 同源二聚体中 hIFN α -RBD (SARS-CoV-2)-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDEACVIQGVGTETPLMKED
SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSG
GGSGGGGSRTRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADY
SVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCLFTNRYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYN

YKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEYQAGSTP
 CNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVK
 NKCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHE
 DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
 ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVLSHLSLSEYK
 KSLSLSPGK

SEQ ID NO.40: 同源二聚体中 hIFN α -HA-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSG
 GGGSGGGGSRTDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKLCRLK
 GIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELRE
 QLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKLK
 NSYVNKKGKEVLVLWGIHPPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERP
 KVRDQAGRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHEC
 NTKCQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRSALRMVTGLRNNPSIQSRFEDKTH
 TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVLSHLSLSEYKSLSLSPGK

SEQ ID NO.41: 同源二聚体中 hIFN α -E7 (HPV)-Fc 氨基酸序列、

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSG
 GGGSGGGGSRTMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQA
 EPDRAHYNIVTFCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPICSQKPFEDKT
 HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
 SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

TPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.42: 异源二聚体中第一条链 hIFN-Fc-hole 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLKDFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGGGGSG
 GGGSGGGSGGGGRTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.43: 异源二聚体 hIFN α -Pres1-Fc 中第二条链 Pres1-Fc-knob 氨基酸序列

MGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPDANKVGAGAFGLG
 FTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTPLSPPLRNTHPQAFEDKT
 HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
 SKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.44: 异源二聚体 hIFN α -RBD (SARA-CoV-2)-Fc 中第二条链 RBD(SARS-CoV-2)-Fc-knob 氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP
 LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFFEDKTH
 TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.45: 异源二聚体 hIFN α -HA-Fc 中第二条链 HA-Fc-knob 氨基酸序列

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDHNGKLCRLKGIAPLQLGKCNI

AGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKESSWPNHNTNGVTAACSHHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKLNNSYVNKKGKE
 VLVWGIHHPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERP KVRDQAGRMN
 YYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKCQTPLGAI
 NSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPSIQSRFEDKTHTCPPCPAPELL
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.46: 异源二聚体 hIFN α -E7 (HPV)-Fc 中第二条链 E7(HPV)-Fc-knob 氨基酸
 序列

MHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQAEPDRAHYNIVT
 FCCCKDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPICSQKPFEDKTHTCPPCPAPEL
 LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5. 人源 IFN 含 Pan 表位的疫苗 IFN α -Pan-抗原-Fc 序列:

SEQ ID NO.47: 同源二聚体中 hIFN α -Pan-Pres1-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQNDLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAA
 WTLKAAAGSGSGSMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWP
 DANKVGAGAFGLGFTPPHGGLLGWSPQAQGILQTL PANPPPASTNRQTGRQPTPLSP
 PLRNTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVS
 HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
 KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNH
 YTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.48: 同源二聚体中 h1FN α -Pan-RBD (SARS-CoV-2)-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAA
WTLKAAAGSGSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVA
DYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIAD
YNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGS
TPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNL
VKNKCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVLHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.49: 同源二聚体中 h1FN α -Pan-HA-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAA
WTLKAAAGSGSGSDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKLC
RLKGIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEE
LREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHGKSSFYRNLLWLTEKEGSSYP
KLKNSYVNKKGKEVLVLWGIHHPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIA
ERPKVRDQAGRMNYYWTLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASM
HECNTKCQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPSIQSRFED
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
YKTTTPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.50: 同源二聚体中 h1FN α -Pan-E7 (HPV)-Fc 氨基酸

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED

SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAA
 WTLKAAAGSGSGSMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAG
 QAEPDRAHYNIVTFCCCKCDSTLRRCVQSTHVDIRTLEDLLMGTGIVCPICSQKPFED
 KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
 YKTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.51: 异源二聚体中第一条链 hIFN α -Fc-hole 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGGGGSG
 GGGSGGGSGGGGRTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.52: 异源二聚体 hIFN α -Pan-Pres1-Fc 中第二条链 Pan-Pres1-Fc-knob 氨基酸
 序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNP
 NKDTWPDANKVGAGAFGLGFTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGR
 QPTPLSPPLRNTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
 VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVM
 HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.53: 异源二聚体 hIFN α -Pan-RBD (SARA-CoV-2)-Fc 中第二条链 Pan-RBD
 (SARS-CoV-2)-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNPK
 RISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQ

TGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDIST
 EIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP
 KKSTNLVKNKCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.54: 异源二聚体 hIFN α -Pan-HA-Fc 中第二条链 Pan-HA-Fc-knob 氨基酸序
 列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLEDSH
 NGKLCRLKGIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGD
 FIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTE
 KEGSYPKLNKSYVNKKGKEVLVLWGIHHPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNR
 RFTPEIAERPVRDQAGRMNYYWTLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGII
 TSNASMHECNTKCCQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRSAKLRMVTGLRNNPS
 IQSRFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

SEQ ID NO.55: 异源二聚体 hIFN α -Pan-E7(HPV)-Fc 中第二条链 Pan-HA-Fc-knob 氨基
 酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEED
 EIDGPAGQAEPDRAHYNIVTFCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPIC
 SQKPFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

6. 人源突变 IFN 疫苗 hmIFN α -Pan-抗原-Fc 序列:

SEQ ID NO.56: 同源二聚体中 hmIFN α -Pres1-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSGG
 GSGGGGSRMTMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPDAN
 KVGAGAFGLGFTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTPLSPPLR
 NTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHE
 DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
 ENSGQPENNYKTTTPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVLHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGK

SEQ ID NO.57: 同源二聚体中 hmIFN α -RBD (SARS-CoV-2)-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSGG
 GSGGGGSRTRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYS
 VLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNY
 KLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNVNYLYRLFRKSNLKPFRDISTEIQAGSTPC
 NGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPVRVVLSEFLLHAPATVCGPKKSTNLVKN
 KCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
 EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
 KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTTPVLDSGDFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVLHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

SEQ ID NO.58: 同源二聚体中 hmIFN α -HA-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKDFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSGG
 GSGGGGSRDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDHNGKLCRLKG
 IAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELREQ

LSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKLN
 SYVNKKGKEVLVLWGIHPPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERP
 VRDQAGRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECN
 TKCQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPSIQSRFEDKTH
 CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PVLDS DGSFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.59: 同源二聚体中 hmIFN α -E7 (HPV)-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEGGGGSGG
 GGGGGGSRMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQAE
 PDRAHYNIVTFCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPICSQKPFEDKTH
 TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDS DGSFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.60: 异源二聚体中第一条链 hmIFN-Fc-hole 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGGGGSG
 GGGGGGGGGGGRTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
 KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHE
 ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.61: 异源二聚体 hmIFN α -Pres1-Fc 中第二条链 Pres1-Fc-knob 氨基酸序列

MGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPDANKVGAGAFGLG

FTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTPLSPPLRNTHPQAFEDKT
 HTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
 SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
 TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.62: 异源二聚体 hmIFN α -RBD (SARA-CoV-2)-Fc 中第二条链 RBD (SARS-CoV-2)-Fc-knob 氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP
 LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFFEDKTH
 TCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
 KAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.63: 异源二聚体 hmIFN α -HA-Fc 中第二条链 HA-Fc-knob 氨基酸序列

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLED SHNGKLCRLKGIAPLQLGKCN
 AGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELREQLSSVSSFERFEI
 FPKESSWPNHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKLNKSYVNKKGKE
 VLVLWGIHHPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERP KVRDQAGR MN
 YYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKCQTPLGAI
 NSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPSIQSRFEDKTHTCPCPAPELL
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ
 VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.64: 异源二聚体 hmIFN α -E7 (HPV)-Fc 中第二条链 HA-Fc-knob 氨基酸序列

MHGDPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQAEPDRAHYNIVT
 FCCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPICSQKPFEDKTHTCPCPAPEL

LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

7. 人源突变 IFN 含 Pan 表位疫苗 hmIFN α -Pan 表位-抗原-Fc 序列

SEQ ID NO.65: 同源二聚体中 hmIFN α -Pan -Pres1-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLKDFYTELYQQLNDEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAAW
 TLKAAAGSGSGSMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPD
 ANKVGAGAFGLGFTPPHGGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGRQPTPLSPP
 LRNTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSH
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
 VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHY
 TQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.66: 同源二聚体中 hmIFN α -Pan -RBD (SARS-CoV-2)-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMMLLAQMRRISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLKDFYTELYQQLNDEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAAW
 TLKAAAGSGSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVAD
 YSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNRYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADY
 NYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNLYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGST
 PCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLV
 KNKCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSH
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
 VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHY
 TQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.67: 同源二聚体中 hmIFN α -Pan-HA-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAAW
TLKAAAGSGSGSDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLSHNGKLCRL
KGIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEELR
EQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTEKEGSSYPKL
KNSYVNKKGKEVLVLWGIHPPNSKEQQNLYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAER
PKVRDQAGRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRRGFSGGIITSNASMHE
CNTKQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRSACLRLMVTGLRNNPSIQSRFEDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.68: 同源二聚体中 hmIFN α -Pan-E7 (HPV)-Fc 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKEAKFVAAW
TLKAAAGSGSGSMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEIDGPAGQ
AEPDRAHYNIVTFCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVCPICSQKPFEDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.69: 异源二聚体中第一条链 hmIFN α 4-Fc-hole 氨基酸序列

CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRRISLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKFKYTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKED
SILAVRKYFRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKESGGGGSG
GGSGGGGGSGGGRTDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.70: 异源二聚体 hmIFN α -Pan-Pres1-Fc 中第二条链 Pan-Pres1-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSMGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNP
NKDTWPDANKVGAGAFGLGFTPPHGLLGWSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQTGR
QPTPLSPPLRNTHPQAFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.71: 异源二聚体 hmIFN α -Pan-RBD (SARA-CoV-2)-Fc 中第二条链 Pan-RBD (SARS-CoV-2)-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRK
RISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPSTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQ
TGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDIST
EIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGP
KKSTNLVKNKCVNFFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.72: 异源二聚体 hmIFN α -Pan-HA-Fc 中第二条链 Pan-HA-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSDTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDSEH
NGKLCRLKGIAPLQLGKCNIAWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGD
FIDYEELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHEGKSSFYRNLLWLTE
KEGSYPKLNKSYVNKKGKEVLVLWGIHHPNSKEQQNLYQNENAYVSVVTSNYNR

RFTPEIAERPKVRDQAGRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGII
 TSNASMHECNTKCKQTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNNPS
 IQSRFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

SEQ ID NO.73: 异源二聚体 hmIFN α -Pan-E7 (HPV)-Fc 中第二条链 Pan-HA-Fc-knob 氨基酸序列

AKFVAAWTLKAAAGSGSGSMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEED
 EIDGPAGQAEPDRAHYNIVTFCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGT LGIVCPIC
 SQKPFEDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN
 GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

8. 替代 Fc 的抗体序列

SEQ ID NO.20: ScFv (PD-L1) 氨基酸序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGV
 PSRFGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQYLYHPATFGGQTKVEIKRGGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWV
 AWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGG
 FDYWGQGTTLVTVSA

SEQ ID NO.74: Anti-PD-L1 VH 氨基酸序列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAVISPYGG
 STYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQG
 TLVTVSA

SEQ ID NO.75: Anti-PD-L1 VL 氨基酸序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGV

PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR

9. 其它病毒抗原序列

SEQ ID NO. 76 SARS-CoV-2 Spike 蛋白的氨基酸序列

VNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVS
 NGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNNATNVVIKVC
 EFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNF
 KNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALH
 RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
 LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNC
 VADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKI
 ADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQ
 AGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKS
 TNLVKNKCVNFNENGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDIT
 PCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQT
 RAGCLIGAEHVNNSYECDIPGAGICASYQTQTNPRRARSVASQSIAYTMSLGAEN
 SVAYSNNISAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQ
 LNRALTGIAVEQDKNTQEVEFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDL
 LFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALL
 AGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQ
 DSLSSTASALGKLQD

VVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTY
 VTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFL
 HVTYVPAQEKNFTTAPAICHGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNT
 FVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVV
 NIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLC
 CMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT

SEQ ID NO. 77 SARS-CoV-2 S1 蛋白的氨基酸序列

VNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVS
 NGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLIVNNATNVVIKVC
 EFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNF
 KNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALH

RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
 LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNC
 VADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKI
 ADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQ
 AGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKS
 TNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDIT
 PCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGNSNVFQT
 RAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNPRRAR

SEQ ID NO. 78 SARS-CoV-2 原始毒株 RBD 蛋白的氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP
 LQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

SEQ ID NO. 79 SARS-CoV-2 英国突变株 (B.1.1.7, Alpha) RBD 蛋白的氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFP
 LQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

SEQ ID NO. 80 SARS-CoV-2 南非突变株 (B.1.351, Beta) RBD 蛋白的氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVKGFNCFYF
 PLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

SEQ ID NO. 81 SARS-CoV-2 巴西突变株 (P.1) RBD 蛋白的氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGTIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVKGFNCFYF
 PLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

SEQ ID NO. 82 SRAS-CoV-2 加州突变株(B.1.429) RBD 蛋白的氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSPKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI

AWNSNNLDSKVGGNYNRYRRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYF
 PLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF
 SEQ ID NO. 83 SRAS-CoV-2 印度 B.1.617、B.1.617.1 (Kappa)、B.1.617.3 突变株 RBD
 蛋白的氨基酸序列

RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNRYRRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSTPCNGVQGFNCYF
 PLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

SEQ ID NO. 84 SRAS-CoV-2 印度二代 B.1.617.2 (Delta)突变株 RBD 蛋白的氨基酸序列
 RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTF
 KCYGVSP TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVI
 AWNSNNLDSKVGGNYNRYRRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGSKPCNGVEGFNCYF
 PLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNF

10. 其它肿瘤抗原序列:

实施例中所涉及的鼠源 Her2 胞外段结构域 II、III 和 IV 的氨基酸序列:

SEQ ID NO. 85 Mouse Her2-extracellular domain 2:

SRACPPCAPACKDNHCWGESPEDCQILTGTICTSGCARCKGRLPTDCCHEQCAAGCT
 GPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMHNPEGRYTFGASCVTTCYPYN
 YLSTEVGSCTLVCPNNEVTAEDGTQRCEKCSKPC

SEQ ID NO. 86 Mouse Her2-extracellular domain 3:

GCKKIFGSLAFLPESFDGDPSSGIAPLRPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLRLDSVF
 QNLRRIIRGRILHDGAYSLTLQGLGIHSLGLRSLRELGSGLALIHNAHLCFVHTVPWD
 QLF

SEQ ID NO. 87 Mouse Her2-extracellular domain 4:

VCNSLCAHGHCWGPPTQCVNCSHFLRGQECVEECRVWKGLPREYVSDKRCLPCH
 PECQPQNSSETCFGSEADQCAACAHYKDS SSCVARCPSGVKPDLSYMPIWKYPDEE
 GICQPCPINCTHSCVDLDERGCP

实施例中所涉及的人源 Her2 胞外段结构域 II、III 和 IV 的氨基酸序列:

SEQ ID NO. 88 Human Her2-extracellular domain 2:

SRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQLTRTV CAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAG
 CTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACP

YNYLSTDVGSCTLVCPLHNQEVTAE DGTQRCEKCSKPC

SEQ ID NO. 89 Human Her2-extracellular domain 3:

GCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPLDSV
FQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGISWLGLRSLRELGSGLALIHNTHLCFVHTVP
W

SEQ ID NO. 90 Human Her2-extracellular domain 4:

CHQLCARGHCWGPPTQCVNCSQFLRGQECVVEECRVLQGLPREYV NARHCLPCHP
ECQPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDP PFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEG
ACQPCPINCTHSCVDLDDKGCP

11. 实施例中涉及的疱疹病毒抗原序列:

SEQ ID NO. 91 VZV Envelope glycoprotein E (aa 31-538)

SVLRYDDFHTDEDKLDTNSVYEPYYHSDHAESSWVNRGESSRKAYDHNSPYTWPR
NDYDGFLENAHEHHGVYNQGRGIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVIPTLNG
DDRHKIVNVDQRQYGDVFKGDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRY
TETWSFLPSLTCTGDAAPAIQHICLKHTTCFQDVVVDV DCAENTKEDQLAEISYRFQ
GKKEADQPWIVVNTSTL FDELELDPPEIEPGVLKVL RTEKQYLG VYIWNMRGSDGT
STYATFLVTWK GDEKTRNPTPAVTPQPRGAEFHMWNYHSHVFSVGD TFSLAMHLQ
YKIHEAPFDL LLEWLYVPIDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLA
QRVASTVYQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTTLKFVDTPESLSGLYVF
VVYFNGHVEAVAYTVVSTVDHFVNAIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPL
RY

SEQ ID NO. 92 EBV Envelope glycoprotein GP350 (aa 1-425)

MEAALLVCQYTIQSLIH LTGEDPGFFNVEIPEFPFYPTCNVCTADV NVTINFDVGGKK
HQLDLDFGQLTPHTKAVYQPRGAFGGSENATNLFLELLGAGELAL TMRSKKLPINV
TTGEEQQVSLESVDVYFQDVFGTMWCHHAEMQNPVYLIPETVPYIKWDNCNSTNIT
AVVRAQGLDVTLPLSLPTSAQDSNFSVKTQMLGNEIDIECIME DGEISQVLPGDNKF
NITCSGYESHVPSGGILTSTSPVVTPIPGTYAYSRLTPRPVSRFLGNNSILYVFYSGN
GPKASGGDYCIQSNIVFSDEIPASQDMPTNTTDITYVGD NATYSVPMVTSEDANSPN
VTVTAFWAWPNN TETDFKCKWTLTSGTPSGCENISGAFASNRTFDITV SGLGTAPKT

LIITRTATNATTTTHKVIFSKAP

SEQ ID NO. 93 HSV-2 Envelope glycoprotein gD (aa 26-339)

KYALADPSLKMADPNRFRGKNLPVLDRLTDPPGVKRVYHIQPSLEDPFQPPSIPITVY
YAVLERACRSVLLHAPSEAPQIVRGASDEARKHTYNLTIAWYRMGDNCAIPITVMEY
TECPYNKSLGVCPIRTQPRWSYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKIND
WTEITQFILEHRARASCKYALPLRIPPAACLSKAYQQGVTVD SIGMLPRFIPENQRTV
ALYSLKIAGWHGPKPPYTSTLLPELSDTTNATQPELVPEDPEDSALLEDPAGTVSSQI
PPNWHIPSIQDVAPHHAPAAPSNP

附图说明

图 1. 疫苗平台以同源二聚体的形式，按照干扰素-连接片段 1-靶抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）顺序排列组合的示意图；

图 2. 疫苗平台以异源二聚体的形式，按照干扰素-连接片段 1-IgG1-hole、靶抗原-IgG1-knob（或抗体）组合的示意图；

图 3. 疫苗平台以异源二聚体的形式，分别按照干扰素-连接片段 1-IgG1-knob 组合和靶蛋白-IgG1-hole（或抗体）的示意图；

图 4. 疫苗平台以同源二聚体的形式，按照干扰素-连接片段 1-Th 细胞辅助表位-连接片段 2-靶抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）顺序排列组合的示意图；

图 5. 疫苗平台以异源二聚体的形式，分别按照干扰素-连接片段 1-IgG1-hole 和 Th 细胞辅助表位-连接片段 2-靶抗原-IgG1-knob（或抗体）组合的示意图；

图 6. 疫苗平台以异源二聚体的形式，分别按照干扰素-连接片段 1-IgG1-knob 和 Th 细胞辅助表位-连接片段 2-靶抗原-IgG1-hole（或抗体）组合的示意图。

图 7. Pres1-Fc、IFN-Pres1-Fc 非变性蛋白 SDS-PAGE 电泳鉴定图

图 8. 相比于游离 preS1，融合蛋白 preS1-Fc 和 IFN-preS1-Fc，能显著增强抗原分子的免疫性，并能引起广谱的中和性抗体的产生。(a) 对 C57/BL6 (n=8/组) 小鼠采用皮下免疫的方式接种游离的乙肝 Pres1、Pres1-Fc、IFN α -Pres1-Fc 蛋白，在指定的时间采用 Elisa 的方法检测血清中 Pres1 特异性抗体的水平。(b) 三种 HBV 基因型稳定携带小鼠(n=4)通过静脉注射的方式注射来自 IFN α -Pres1-Fc 蛋白免疫小鼠的血清，12 小时后检测血清中 Pres1 抗原的变化。

图 9. IFN α -Pres1-Fc 可应用为乙型肝炎预防性疫苗。C57/BL6 小鼠皮下免疫接种游

离的乙肝 Pres1、Pres1-Fc、IFN α -Pres1-Fc 蛋白，接种 28 天时，采用尾静脉注射的方式感染 1×10^{11} μg 的 AAV-HBV1.3 病毒。(a) 病毒接种前及病毒接种后第 1、2、3、4 周血清 Anti-Pres1 水平。(b) 在指定时间点检测血清中 Pres1 的水平。(c) 通过 Elisa 的方式检测第 1、2、3、4 周血清 HBsAg 的水平。(d) AAV-HBV1.3 病毒接种后，HBsAg 阳性小鼠的比例。

图 10. IFN α -Pres1-Fc 作为慢性乙型感染的治疗性疫苗。C57/BL6 小鼠通过尾静脉注射的方式感染 1×10^{11} μg 的 AAV-HBV1.3 病毒，感染 6 周后筛选出稳定感染的小鼠 (n=8/组)，通过皮下免疫的方式接种重组 Pres1、IFN α -Pres1-Fc 蛋白，每隔离 2 周免疫一次一共免疫三次。(a) 血清中 Anti-Pres1 抗原的检测；(b) 血清中 Pres1 抗原的检测；(c) 小鼠血清中 HBV 相关抗原 HBsAg 的水平检测

图 11. Th 细胞辅助表位增强 IFN α -Pres1-Fc 疫苗的抗体应答

相比于 IFN-preS1-Fc，IFN-Pan-preS1-Fc 能显著增强抗原分子的免疫原性。对 C57/BL6 (n=8/组) 小鼠采用皮下免疫的方式接种不含铝佐剂的乙肝 Pres1、Pres1-Fc、IFN α -Pres1-Fc 蛋白，在指定的时间采用 Elisa 的方法检测血清中 Pres1 特异性抗体的水平。

图 12. IFN α -Pan-Pres1-Fc 作为慢性乙型感染的治疗性疫苗。C57/BL6 小鼠通过尾静脉注射的方式感染 1×10^{11} μg 的 AAV-HBV1.3 病毒，感染 6 周后筛选出稳定感染的小鼠 (n=8/组)，通过皮下免疫的方式接种重组 Pres1、IFN α -Pres1-Fc 蛋白，每隔离 2 周免疫一次一共免疫三次。(a) 血清中 Anti-Pres1 抗原的检测；(b) 血清中 Pres1 抗原的检测；(c) 小鼠血清中 HBV 相关抗原 HBsAg 的水平检测；(d) 通过 QPCR 的方式检测小鼠血清中 HBV-DNA 的水平。

图 13. IFN α -Pres1-Fc 联合 HBsAg 商业化疫苗，打破针对于 HBsAg 引起的免疫耐受，诱导 HBsAg-HBsAb 血清学转换。HBV Carrier 小鼠皮下免疫 IFN α -Pres1-Fc 与 HBsAg 商业化疫苗，每两周免疫一次一共免疫三次。(a) HBV Carrier 鼠中血清中 Pres1 的水平，(b) HBsAg 的水平，(c) 血清中 Anti-Pres1 的水平 (d)，血清中 Anti-HBsAg 的水平 (e) 血清中 HBV-DNA 的水平。***, $p < 0.001$

图 14. IFN α -RBD (SARS-CoV2)-Fc 相比游离的 SARS-Cov2 RBD 蛋白，可以引起更强的抗体反应。对 Balb/c (n=8/组) 小鼠采用皮下免疫的方式接种游离的 SARS-Cov-2 RBD、RBD-Fc、IFN α -RBD-Fc 蛋白，在指定的时间采用 Elisa 的方法检测血清中 SARS-Cov2 S 蛋白特异性抗体的水平。****, $p < 0.0001$ 。

图 15. IFN α -RBD (SARS-CoV2)-Fc 免疫小鼠后产生高滴度抗病毒血清，在体外

细胞实验中，可以完全阻断 SARS-CoV2 假病毒感染。

图 16. IFN α -Pan-RBD (原始毒株) -Fc 与 IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc 免疫所产生的抗血清 RBD 特异性抗体检测。(a) IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2 原始毒株)-Fc SDS-PAGE 电泳鉴定图。(b) IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc SDS-PAGE 电泳鉴定图。(c) IFN α -Pan-RBD (原始毒株) -Fc 与 IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc 免疫后 14 天血清中 RBD 特异性抗体与原始毒株 RBD 的结合情况。(d) IFN α -Pan-RBD (原始毒株) -Fc 与 IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc 免疫后 14 天血清中 RBD 特异性抗体与南非突变株 RBD 的结合情况。

图 17. (a) Mouse IFN α -RBD-Fc、Mouse IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白 SDS-PAGE 电泳鉴定图谱。(b) Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白 SDS-PAGE 电泳鉴定图谱。

图 18. Pan (Pan DR-binding epitope) CD4 T 细胞辅助表位可进一步增强 IFN α -RBD-Fc 的免疫原性。通过肌肉免疫的方式对小鼠接种 10 μ g Mouse IFN α -RBD-Fc、Mouse IFN α -Pan-RBD-Fc 或 10 μ g Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白，在接种后的 14 天进行一次加强免疫。分别在免疫后的第 7、14、28 天收集小鼠血清，并通过 ELISA 的方法对小鼠血清中的 RBD 特异性抗体进行水平进行检测。*, $p < 0.05$; ****, $p < 0.0001$ 。

图 19. 铝佐剂可以增强 Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白诱导的特异型体液免疫应答。C57BL/6 小鼠在第 0 天和第 14 天在添加 (AL+) 或者不添加铝佐剂 (AL-) 辅助的情况下接种 10 μ g Human IFN α -RBD-Fc 或 Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白，在接种后的第 7、14、28 天收集小鼠血清，通过 ELISA 的方法检测小鼠血清中的 SARS-CoV-2 RBD 特异性抗体水平。*, $p < 0.05$; ****, $p < 0.0001$ 。

图 20. IFN-Pan-RBD-Fc 滴鼻免疫可诱导产生高滴度 RBD 特异的 IgG、IgA 中和抗体。6-8 周 C57BL/6 小鼠分为 5 组，每组 10 只，分别通过滴鼻免疫的方式免疫 10 μ g 的 IFN α -pan-RBD-Fc 或者相同摩尔数的 RBD、RBD-Fc、IFN α -RBD-Fc 蛋白，滴鼻剂体积为 10 μ L/小鼠。采用两次免疫程序在第 0 天与 14 天免疫小鼠。分别在免疫后第 7、14、21、28、35、42 天收集小鼠血清，采用 ELISA 方法检测各组血清中新冠 RBD 特异性抗体 IgG (a) 和 IgA (b) 水平；取 42 天的血清，进行 SARS-CoV-2 假病毒体外中和实验 (c)。统计方法：one-way ANOVA, * $p < 0.05$ 有显著性差异，** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ 。

图 21. 无佐剂新冠疫苗 IFN-Pan-RBD-Fc 滴鼻免疫诱导鼻咽部和肺组织内分泌高滴度 RBD 特异性 IgG、IgA 中和抗体。6-8 周 C57BL/6 小鼠免疫 28 天后处死，取小鼠鼻黏膜，用组织匀浆破碎仪破碎。将匀浆后的液体 13000rpm 高速离心 10 分钟，取其上清即为鼻黏膜上清 (NMDS)。采用 ELISA 方法检测各组鼻黏膜上清 (NMDS) 中新冠 RBD 特异性抗体 IgG (a) 和 IgA (b) 水平；取 28 天的血清，进行 SARS-CoV-2 假病毒体外中和实验 (c)。统计方法：one-way ANOVA, * $p < 0.05$ 有显著性差异, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ 。

图 22. 无佐剂新冠疫苗 IFN-Pan-RBD-Fc 滴鼻免疫诱导肺组织内分泌高滴度 RBD 特异性 IgG 和 IgA 抗体。6-8 周 C57BL/6 小鼠免疫 28 天后 (如图 19) 处死。小鼠肺部，用 1ml 注射器吸取约 0.8ml 的 HBSS+100uMEDTA，注入气管插管，轻柔地反复吹吸三遍后，将液体吸出，收集到离心管里，重复该步骤三遍，最终大约能获得 2ml 的肺灌洗液。将小鼠肺灌洗液 500g 离心 5 分钟，上清即为小鼠肺灌洗液 (BALF)，采用 ELISA 方法检测各组小鼠肺灌洗液 (BALF) 中新冠 RBD 特异性抗体 IgG (a) 和 IgA (b) 含量。统计方法：one-way ANOVA, * $p < 0.05$ 有显著性差异, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ 。

图 23. Her2 疫苗蛋白表达和纯化。293F 细胞中表达并纯化相关蛋白，SDS-PAGE 和考马斯亮蓝染色检测蛋白的大小和纯度。a. IFN α -3-Fc (62.6kDa) ; b. IFN α -pan-3-Fc (63.9kDa) ; c. IFN α -pan-4-Fc (74.9kDa) 和 IFN α -4-Fc (73.6kDa)。

图 24. 分析 Her2 疫苗 IFN α -3-Fc 和 IFN α -pan-3-Fc 的抗肿瘤活性。构建 TUBO 乳腺癌模型小鼠，肿瘤大小在 50-80mm³ 给药治疗，给小鼠瘤内注射相关融合蛋白，每周一次，共治疗 3 次。给药剂量为 IFN α -3-Fc 是 10ug/剂/小鼠，其他融合蛋白等摩尔给药，CpG 作为佐剂。测量肿瘤大小，绘制肿瘤生长曲线。

图 25. 分析 IFN α 和 Pan 提高 Her2 抗原免疫原性功能。6-8 周的 BALB/C 小鼠 (n=5)，皮下接种小鼠 Her2 融合蛋白疫苗 4-Fc、IFN α -4-Fc 和 IFN α -pan-4-Fc 进行免疫，无添加佐剂。免疫剂量为 IFN α -4-Fc 10ug/剂/小鼠，其他融合蛋白等摩尔接种。在免疫接种后 14 天、21 天采静脉血，用 ELISA 检测 Her2 血清中特异性 IgG 的抗体水平。

图 26. IFN-HA1-Fc 融合蛋白 SDS-PAGE 电泳鉴定图谱。

图 27. 通过肌肉免疫的方式对小鼠接种 10ug IFN 方式对小鼠接种瘤或相同摩尔量的 HA1 蛋白，并在初次接种后的 14 天进行一次加强免疫。在免疫后的第 28 天收集小鼠血清，并通过 ELISA 的方法对小鼠血清中的 HA1 特异性抗体进行水平进行检测。小鼠在免疫后的 42 通过鼻腔感染的方式感染 1000 PFU 的 A/PR8 流感病毒，在病毒感

染后的第三天起，对小鼠进行观察并对其体重变化进行记录。(a) 初次免疫 28 天后收集小鼠血清，通过 ELISA 的方法检测小鼠血清中 HA1 特异性抗体水平。(b) 在病毒感染后小鼠体重变化。

图 28

IFNa-Pan-VZV-gE-Fc、IFNa-Pan-EBV-gp350-Fc、IFNa-Pan-HSV-2-gD-Fc 蛋白 SDS-PAGE 电泳鉴定图。

具体实施方式

为使本发明目的、技术方案和优势更加清楚了，下面将参考实施例和附图详细描述本发明。所介绍实施例仅是举例说明本发明，而不是意图限定本发明的范围，所述实例仅是本发明的一部分，而不是全部的实施例。本发明的范围由后附的权利具体要求限定。

实施例 1. 疫苗平台的设计

干扰素-靶抗原-免疫球蛋白 Fc（或抗体）结构单元的疫苗平台，由于三个结构单元构成，第一结构单元为干扰素部分，第二结构单元为免疫球蛋白 Fc 区(或抗体)，第三单元为靶抗原。现实构建中，三个结构单元可以以任意形式排列组合并且靶抗原可以通过连接序列 2 与 Th 细胞辅助表位相连接。其代表形式如下：

图 1. 为所述疫苗平台以同源二聚体的形式，按照干扰素-连接片段 1-靶抗原-免疫球蛋白 Fc 顺序排列组合的示意图。

图 2. 为所述疫苗平台以异源二聚体的形式，分别按照干扰素-连接片段 1-IgG1-hole 和靶抗原-IgG1-knob 组合的示意图。

图 3. 为所述疫苗平台以异源二聚体的形式，按照干扰素-连接片段 1-IgG1-knob 和靶蛋白-IgG1-hole 组合的示意图。

接下来我们通过连接片段 2，将靶抗原与细胞辅助表位相连接，然后与其他两个疫苗平台组件相结合其代表形式如下：

图 4. 为所述疫苗平台以同源二聚体的形式，按照干扰素-连接片段 1-Th 细胞辅助表位-连接片段 2-靶抗原-免疫球蛋白 Fc 顺序排列组合的示意图。

图 5. 为所述疫苗平台以异源二聚体的形式，分别按照干扰素-连接片段 1-IgG1-hole 和 Th 细胞辅助表位-连接片段 2-靶抗原-IgG1-knob 组合的示意图。

图 6. 为所述疫苗平台以异源二聚体的形式，分别按照干扰素-连接片段 1-IgG1-knob

和 Th 细胞辅助表位-连接片段 2-靶抗原-IgG1-hole 组合的示意图。

实施例 2. 疫苗平台的构建纯化和生产

我们以乙型肝炎病毒 Pres1、冠状病毒 SARS-CoV-2 RBD 蛋白同源二聚体形式为例对该疫苗平台的表达生产进行描述。

1、载体的构建、宿主细胞的转染及诱导表达

1.1、以 PEE12.4 为载体通过分子克隆的方式将疫苗结构单元构建到该载体上，从而得到可以表达融合蛋白的质粒，然后瞬时转染 293F 细胞的,收集培养上清，最后通过 Protein A 亲和层析柱纯化目标蛋白。

载体构建（以含有 HBV preS1 抗原为例）

- (1) PEE12.4-HindIII-信号肽 1-干扰素素- BsiwI-Pres1-BstbI-hIgG1-EcoRI
- (2) PEE12.4-HindIII-信号肽 1-干扰素-BsiwI-RBD(SARS-CoV-2)-BstbI-hIgG1-EcoRI
- (3) PEE12.4-HindIII-信号肽 1-干扰素-Bsiwi-PADER-Pres1-hIgG1-EcoRI
- (4) PEE12.4-HindIII-信号肽 1-干扰素
-Bsiwi-PADER-RBD(SARS-CoV-2)-hIgG1-EcoRI

各个融合蛋白片段之间的连接序列为

- (1) 干扰素与 Pres1 之间为连接片段 1
- (2) 干扰素与 RBD(SARS-CoV-2)之间为连接片段 1
- (3) 干扰素与 PADER 之间连接序列为连接片段 1, PADER 与 Pres1 之间连接片段为连接片段 2
- (4) 干扰素与 PADER 之间连接序列为连接片段 1, PADER 与 RBD(SARS-CoV-2)之间连接片段为连接片段 2

1.2、瞬时转染快速表达目的蛋白：

- (1) 细胞复苏：Freestyle 293F 细胞以 3×10^7 cells/ml 的浓度于 CD OptiCHOTM media（含 10% DMSO）中冻存。从液氮中取出后在 37°C 水浴锅中快速溶化，加入到含有 10ml OptiCHOTM media 的 15ml 离心管中离心，1,000rpm，5min。弃上清，将细胞沉淀悬浮培养于 30ml OptiCHOTM media 中，37°C，8% CO₂，135rpm。4 天后将细胞进行扩大培养，扩大培养时浓度不要超过 3×10^6 cells/ml。
- (2) 转染前两天，准备悬浮培养的 293F 细胞用于瞬时转染（200ml），接种密度为 $0.6-0.8 \times 10^6$ cells/ml。

- (3) 两天后对待转染细胞悬液进行计数, 预计细胞密度 $2.5-3.5 \times 10^6$ cells/ml, 随后取细胞悬液 1,000rpm 离心 5min, 弃上清。
- (4) 用 50ml 的新鲜的 Freestyle 293 media 重新悬浮细胞, 再次 1,000rpm 离心 5min, 弃上清液。
- (5) 用 200ml Freestyle 293 media 重新悬浮 293F 细胞。
- (6) 用 5ml Freestyle 293 media 培养基稀释 600 μ g 质粒, 并利用 0.22 μ M 滤器过滤除菌。
- (7) 用 5ml Freestyle 293 media 培养基稀释 1.8mg PEI 并利用 0.22 μ M 滤器过滤除菌。随后立即将 5ml 质粒和 5ml 的 PEI 混匀, 室温静置 5 分钟。
- (8) 将质粒/PEI 混合物加入细胞悬液中, 放置在 37°C, 8% CO₂, 85rpm 培养箱中培养, 同时补加生长因子 50ug/L LONG™ R3IGF-1。
- (9) 4 小时后补加 200ml EX-CELL™ 293 media 培养基和 2mM Glutamine, 将转速调至 135rpm 继续培养。
- (10) 24 小时后加入细胞增殖抑制剂 3.8mM VPA, 72 小时后加入 40ml medium D 继续培养, 转然后 6-8 天 (细胞存活率低于 70%) 收集上清液进行下一步纯化。

1. 3、融合蛋白的收集、纯化和电泳验证

2. 利用Protein A进行目的蛋白纯化:

- (1) 样品准备: 将悬浮细胞培养液转至 500ml 离心桶中离心, 8,000rpm, 20min 弃沉淀, 将上清经 0.45 μ M 滤器过滤除去杂质, 然后加入终浓度为 0.05% NaN₃ 防止纯化过程中细菌污染。
- (2) 组装层析柱: 取适量 Protein A Agarose (每 1ml Protein A 纯化 20mg human Fc 融合蛋白计算) 混匀后加入层析柱, 室温静置约 10min, 待 Protein A 与 20%乙醇溶液分层后把底部的出口打开, 让乙醇溶液通过重力作用缓慢流出。
- (3) 分别用 10 倍柱体积的蒸馏水和 Binding buffer (20mM sodium phosphate + 0.15M NaCl, pH 7.0) 冲洗和平衡层析柱。
- (4) 利用恒流泵进行上样, 流速为 10 倍柱体积/小时, 收集流穿液, 重复上样 2 次。
- (5) 用 10 倍柱体积以上的 Binding buffer 冲洗柱子, 洗去杂蛋白, 冲洗至流出液无蛋白检出。
- (6) 使用 Elution Buffer (0.1 M Glycine, pH 2.7) 进行洗脱, 洗脱液分管收集, 每 1ml 收集 1 管, 并采用蛋白指示液 (Bio-Rad protein assay) 观察洗脱峰。将洗脱峰

的收集管混合后加入适量的 1 M Tris, pH 9.0 中和 (调节 pH 值至 6-8, 应于所纯化蛋白等电点相差 0.5 以上)。

- (7) 利用 Zeba 脱盐离心柱或浓缩离心柱将目的蛋白溶液置换到所需要的缓冲液中 (注意调节缓冲液 pH, 避开蛋白的等电点)。利用 BSA 为标准品, 通过 SDS-PAGE 电泳和 NanoDrop2000 确定蛋白浓度。
- (8) 洗脱结束后, 依次使用 20 倍柱体积的蒸馏水冲洗柱子, 再用 10 倍柱体积的 20% 乙醇冲洗柱子, 最后乙醇溶液要浸没凝胶介质, 4°C 保存。

3. 所述蛋白 SDS-PAGE 电泳鉴定图如图 7 所示。

实施例 3. IFN α -Pres1-Fc, Pres1-Fc 相较于单纯的 Pres1 抗原在小鼠体内可以引起更强的免疫应答。

材料: C57BL/6 雄性小鼠 (5-8) 周购买于北京维通利华实验动物技术有限公司; 辣根过氧化物氧化酶 (HRP) 标记的山羊抗小鼠 IgG 买自北京康为生物技术有限公司; 96 孔 ELISA 测定板购自 Corning Costar 公司; ELISA 显色液购自 eBioscience 公司; 所用酶标仪 SPECTRA max PLUS 384 购自美国 Molecular 公司。所用铝佐剂购自 SIGMA 公司。

方法:

- (1) Pres1 融合蛋白免疫小鼠, 将 80 pmol IFN-Pres1-Fc 或者 80 pmol 的 Pres1-Fc、Pres1 蛋白与铝佐剂混合后皮下免疫小鼠。在指定的时间点通过眼眶取血的方式收集小鼠的血清, 进行抗体检测。
- (2) IFN α -Pres1-Fc 所产生的抗体对不同基因型的 HBV 病毒有广泛的中和作用。5 周年龄雄性 C57BL/6 通过尾静脉的方式感染 AAV-HBV 1.3 (其中 HBV 基因型为 B、C、D 型) 1×10^{11} vg 病毒, 6 周后筛选 HBV 抗原持续稳定表达的小鼠进行试验。将筛选出的小鼠 (4 只/组) 通过静脉注射的方式注射来自 IFN α -Pres1-Fc 免疫小鼠的血清 200ul/只。12 小时后, 收集小鼠血清, 通过 Elisa 的方式检测注射抗血清前后小鼠体内 Pres1 抗原的变化。
- (3) ELISA 检测血清中 anti-Pres1 特异性抗体。将 Pres1 (2ug/ml) 包被液以每孔 50ul 的体系加入到 Elisa 板 (Corning 9018) 中, 4°C 包被过夜。用 PBS 洗一遍, 260ul 每孔。5% 的封闭液 (5% FBS) 37°C 封闭两小时。用 PBS 稀释血清样品 (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000), 每孔加 50ul 到封闭好的 Elisa 板中 37°C 孵育 1 小时。PBST 洗 5 次, 每次 260ul, 每孔加入 50ul 酶标二抗 (enzyme-conjugated

anti-mouse IgG-HRP 1:5000 diluted by PBS), 37°C 孵育 1 小时。用 PBST 洗五遍, 每次 260ul, 加底物 TMB 100ul/孔, 室温避光孵育, 等待底物显色; 每孔加 50ul 终止液(2N H₂SO₄)终止显色, 酶标仪读板, OD450-630。

结果: 游离的 Pres1 免疫原性较弱, 当在 Pres1 的基础上加上 IFN α 、Fc 部分构成 IFN α -Pres1-Fc 融合蛋白时其免疫原性得到了极大的提升, 如图 8 (a) 所示。并且由 IFN α -Pres1-Fc 所引起的抗体, 能对不同的 HBV 基因型病毒产生广泛的中和作用, 如图 8 (b) 所示。

实施例4. IFN α -Pres1-Fc可作为乙肝预防性疫苗来使用

材料: C57BL/6 (6-8) 周雄性小鼠购自北京维通利华生物技术有限公司, HBsAg检测试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司。AAV-HBV 1.3病毒购买自广州派真生物技术有限公司。其他实验材料同实施例3。

方法:

- (1) 小鼠通过皮下免疫的方式接种 80 pmol 不同形式的 Pres1 疫苗包括单纯的 Pres1、Pres1-Fc、IFN α -Pres1-Fc 蛋白, 在免疫 28 天时, 收集小鼠血清并对小鼠感染 1×10^{11} vg AAV-HBV 1.3 病毒, 之后每周收集小鼠血清检测血清中的 anti-Pres1 抗体、HBsAg、Pres1 抗原, 连续检测四周。在第三周时检测小鼠外周 HBV-DNA 水平。
- (2) ELISA 检测血清中 Pres1 特异性抗原。抗原包被: 将 Pres1 抗体 XY007 (4ug/ml) 包被液以每孔 50ul 的体系加入到 Elisa 板 (Corning 9018) 中, 4°C 包被过夜。用 PBS 洗一遍, 260ul 每孔。用 5% 的封闭液 (5% FBS) 37°C 封闭两小时。用 PBS 稀释血清样品 (1:10, 1:100), 每孔加 50ul 到封闭好的 Elisa 板中, 每个稀释度设置两个复孔, 37°C 孵育 1 小时。PBST 洗 5 次, 每次 260ul, 每孔加入 50ul 酶结合物 (来自科华 HBsAg 检测 Kit), 37°C 孵育 1 小时。用 PBST 洗五遍, 每次 260ul, 加底物 TMB 100ul/孔, 室温避光孵育, 等待底物显色; 每孔加 50ul 终止液(2N H₂SO₄)终止显色, 酶标仪读板, OD450-630。

结果: IFN α -Pres1-Fc 免疫组的小鼠在接种病毒前即能产生高水平的 Pres1 抗体并且抗体在病毒感染过程中持续维持在较高水平如图 9 (a)。相较于未进行蛋白免疫组而言, IFN-Pres1-Fc 疫苗免疫能够显著预防 HBV 感染, 免疫后产生的抗-preS1 抗体能够很快完全清除血清中 preS1 抗原图 9(b), 并且在 IFN-Pres1-Fc 免疫组接受病毒感染的小鼠大

部分表现为外周 HBsAg 阴性图 9(c、d)。以上实验结果表明, IFN-Pres1-Fc 作为疫苗, 能够有效预防 HBV 感染, 如图 9 所示。

实施例 5. IFN α -Pres1-Fc 作为慢性乙型感染的治疗性疫苗

材料: C57BL/6 雄性小鼠(4 周)购自北京维通利华生物技术有限公司。AAV-HBV 1.3 购自广州派真生物技术有限公司。HBsAg 检测试剂盒购买自上海科华生物技术有限公司, 其他实验材料同实施例 4。

方法:

- (1) HBV Carrier 小鼠的筛选, 4 周龄 HBV C57BL/6 小鼠通过尾静脉的方式注射 1×10^{11} vg AAV-HBV 1.3 病毒, 1-6 周通过检测 HBV 抗原 HBsAg, 筛选出 HBsAg 稳定表达的小鼠, 作为 HBV Carrier 小鼠进行实验。
- (2) 筛选出的小鼠通过皮下注射的方式注射 80 pmol 不同形式的 Pres1 蛋白, 每两周进行一次一共进行三次免疫。在免疫 14 天时收集小鼠血清, 之后每周采集一次小鼠血清, 通过 ELISA 检测小鼠血清中抗-Pres1 抗体、HBsAg、Pres1 抗原的水平。在最后一次取血后检测小鼠外周血中的 HBV-DNA 含量。

结果: 我们检测 IFN-Pres1-Fc 疫苗免疫 Carrier 小鼠后其血清中 preS1 抗原, 以及血清中 Pres1 抗体和 HBsAg 的变化情况。结果显示, 在 IFN α -Pres1-Fc 疫苗免疫之后, 小鼠高水平的 anti-Pres1 抗体的产生如图 10(a)所示, 并且伴有血清中 preS1 抗原能够被完全清除,如图 10(b)所示,。同时血清中的 HBsAg 也有一定程度的下降如图 10(c), 而未处理对照组以及单独 Pres1 疫苗免疫组都没有治疗效果图 10 所示。

实施例 6. T 细胞辅助表位增强 IFN α -Pres1-Fc 疫苗的抗体应答

材料: 同实施例 3

方法:

- (1) Pres1 融合蛋白免疫小鼠, 将 80 pmol 含有 Pan 表位的 IFN-Pan-Pres1-Fc 或者 80 pmol 的 IFN-Pan-Pres1-Fc、Pres1-Fc、Pres1 蛋白皮下免疫小鼠。在指定的时间点通过眼眶取血的方式收集小鼠的血清, 进行抗体检测。
- (2) ELISA 检测血清中 anti-Pres1 特异性抗体, 同实施例 3。

结果: 相比于 IFN-preS1-Fc 等融合蛋白疫苗, IFN-Pan-preS1-Fc 能显著增强抗原分子的免疫原性, 并能引起广谱的中和性抗体的产生。对 C57/BL6 (n=8/组) 小鼠采用皮下免疫的方式接种不含铝佐剂的乙肝 Pres1、Pres1-Fc、IFN α -Pres1-Fc 蛋白, 在指定的

时间采用 Elisa 的方法检测血清中 Pres1 特异性抗体的水平。

实施例 7. IFN α -Pan-Pres1-Fc 作为慢性乙型感染的治疗性疫苗

材料: C57BL/6 雄性小鼠 (4 周) 购自北京维通利华生物技术有限公司。AAV-HBV 1.3 购自广州派真生物技术有限公司。HBsAg 检测试剂盒购买自上海科华生物技术有限公司, 其他实验材料同实施例 4。

方法:

- (1) HBV Carrier 小鼠的筛选, 4 周龄 HBV C57BL/6 小鼠通过尾静脉的方式注射 1×10^{11} vg AAV-HBV 1.3 病毒, 1-6 周通过检测 HBV 抗原 HBsAg, 筛选出 HBsAg 稳定表达的小鼠, 作为 HBV Carrier 小鼠进行实验。
- (2) 筛选出的小鼠通过皮下注射的方式注射 80pmol 不同形式的 Pres1 蛋白, 每两周进行一次一共进行三次免疫。在免疫 14 天时收集小鼠血清, 之后每周采集一次小鼠血清, 通过 ELISA 检测小鼠血清中抗-Pres1 抗体、HBsAg、Pres1 抗原的水平。在最后一次取血后检测小鼠外周血中的 HBV-DNA 含量。

结果: 我们检测 IFN-Pan-Pres1-Fc 疫苗免疫 Carrier 小鼠后其血清中 preS1 抗原, 以及血清中 Pres1 抗体和 HBsAg 的变化情况。结果显示, 在 IFN-Pan-Pres1-Fc 疫苗免疫之后, 小鼠产生高水平的 anti-Pres1 抗体的产生如图 12(a)所示。并且伴有血清中 preS1 抗原能够被完全清除如图 12(b)所示, 同时血清中的 HBsAg 也有一定程度的下降 12(c), 而未处理对照组以及单独 Pres1 疫苗免疫组都没有治疗效果。并且 HBV DNA 在 IFN α -Pan-Pres1-Fc 免疫组中也有明显的下降如图 12(d)所示。

实施例 8. IFN α -Pan-Pres1-Fc 联合 HBsAg 商业化疫苗, 打破针对于 HBsAg 引起的免疫耐受, 诱导 HBsAg-HBsAb 血清学转换。

材料: C57BL/6 雄性小鼠 (4 周) 购自北京维通利华生物技术有限公司。AAV-HBV 1.3 购自广州派真生物技术有限公司。HBsAg 检测试剂盒购买自上海科华生物技术有限公司, Anti-HBsAg 试剂盒购买自北京万泰生物制药有限公司。商业化 HBsAg 疫苗购买自艾美汉信疫苗 (大连) 有限公司。其他实验材料同实施例 7。

方法:

- (1) HBV Carrier 小鼠的筛选, 4 周龄 HBV C57BL/6 小鼠通过尾静脉的方式注射 1×10^{11} vg AAV-HBV 1.3 病毒, 1-6 周通过检测 HBV 抗原 HBsAg, 筛选出 HBsAg 稳定表达的小鼠, 作为 HBV Carrier 小鼠进行实验。

- (2) 筛选得出的 HBV Carrier 小鼠，免疫 80 pmol IFN α -pan-Pres1-Fc，同时免疫商业化 HBsAg 疫苗 2 μ g 连续免疫两次，每次间隔 14 天。在第一次免疫后 14 天收集小鼠血清，之后每周采集小鼠血清，并检测血清中 anti-Pres1、Pres1、anti-HBsAg、HBsAg 的变化。并在最后一次小鼠血清采集时，检测血清中 HBV-DNA 的水平。

结果：我们发现，以 IFN α -Pan-Pres1-Fc 联合商业化 HBsAg 作为治疗慢性乙型肝炎的策略，最终能够打破 HBsAg 耐受。HBV 耐受小鼠中产生的免疫反应能够完全清除血清中 preS1 抗原能够被图 13 (a)，而且血清中存在高浓度的 Pres1 抗体 13(c)。令人兴奋的是，IFN-Pan-Pres1-Fc 疫苗同时有效清除血清中 HBsAg，同时诱导了部分的血清学 HBsAb 的转化图 13(b) 和 4(d)，这在临床上被认为是 HBV 治愈的关键指标。另外我们分别通过荧光定量 PCR (real-time PCR)的方法检测了外周血中 HBV 相关的 DNA 的表达水平，结果显示，相对于对照组而言，以 IFN α -Pan-Pres1-Fc 联合商业化 HBsAg 的免疫方式能够最终降低外周 HBV DNA 的水平图 13(e)，通过以上结果，我们发明了联合以 IFN α -Pan-Pres1-Fc 和商业化 HBsAg 疫苗治疗慢性乙型肝炎的疫苗策略

实施例 9. IFN α -RBD(SARS-CoV2)-Fc 相比游离的 SARS-Cov2 RBD 蛋白，可以引起更强的抗体反应

材料：Balb/c 雌雄小鼠（6-8 周）购买自北京维通利华实验动物技术有限公司，所用 SARS-CoV-2 RBD 蛋白购买自北京科跃中楷生物技术有限公司。293-hACE2 细胞来自张政教授（深圳第三人民医院）提供。Luciferase Reporter 检测试剂盒购买自 promega 公司。

其他实验材料同实施例 3。

方法：

(1) IFN α -RBD(SARS-Cov-2)-Fc 融合蛋白免疫小鼠，将 10ug IFN α -RBD-Fc、RBD-Fc 或者 10ug RBD 蛋白与铝佐剂混合后皮下免疫小鼠。在免疫 28 天时通过眼眶取血的方式收集小鼠的血清，进行新冠特异性抗体的检测。

(2) 检测血清 SARS-cov2 RBD 抗体。抗原包被：将 RBD (1.5ug/ml) 包被液以每孔 100ul 的体系加入到 Elisa 板 (Corning 9018) 中，4 $^{\circ}$ C 包被过夜。用 PBS 洗一遍，260ul 每孔。用 5% 的封闭液 (5% FBS) 100ul，37 $^{\circ}$ C 封闭两小时。用 PBS 稀释血清样品 (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000...)，每孔加 100ul 到封闭好的 Elisa 板中 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。PBST 洗 5 次，每次 260ul，每孔加入 100ul 酶标二抗 (enzyme-conjugated anti-mouse IgG-HRP

1:5000 diluted by PBS), 37°C 孵育1小时。用PBST洗五遍, 每次260ul, 加底物TMB 100ul/孔, 室温避光孵育15分钟, 等待底物显色。每孔加50ul 终止液(2N H₂SO₄)终止显色, 酶标仪读板, OD450-630。滴度计算方法, 选取结果为阳性的最大稀释倍数, 以该稀释倍数对应的OD值/Cutoff值 (0.1) 乘 (X) 稀释倍数, 所得的值为该血清对应的抗体滴度。

(3) SARS-CoV-2 S 蛋白假病毒体外中和实验。抗血清按 1: 3 稀释加入到 96 孔板中, 50ul 带有 luciferase spike 蛋白的假病毒颗粒加入到孔中, 病毒抗体混合物 37°C 放置 1 小时, 每孔 10⁴ 的 293-hACE2 细胞加入到 96 孔板中。将 96 孔板放置到 37°C 细胞培养箱, 48 小时后检测 luciferase 的活性。

结果: 游离的新冠 RBD 免疫原性较弱, 当在新冠 RBD 多肽蛋白区域的基础添加 IFN α 、Fc 部分构成 IFN α -RBD-Fc 融合蛋白时, 其免疫原性得到了极大的提升, 如图 14 所示。并且由 IFN α -RBD-Fc 所引起的抗体, 能够在体外阻断 SARS-CoV-2 S 蛋白的假病毒对细胞的感染如图 15 所示。

实施例 10. IFN α -Pan-RBD(原始毒株)-Fc 与 IFN α -RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc 免疫所产生的抗血清 RBD 特异性抗体检测。

材料: Balb/c 雌雄小鼠 (6-8 周) 购买自北京维通利华实验动物技术有限公司, 所用 SARS-CoV-2 原始毒株 RBD 蛋白购买自北京科跃中楷生物技术有限公司。所用 SARS-CoV-2 南非突变毒株 RBD 蛋白购买自北京义翹神州科技有限公司。

其他实验材料同实施例 3。

方法:

(1) IFN α -Pan-RBD(原始毒株)-Fc 与 IFN α -RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc 蛋白构建表达方法同实施例 2。

(2) IFN α -Pan-RBD(原始毒株)-Fc 与 IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc 融合蛋白免疫小鼠, 将 10ug IFN α -Pan-RBD(原始毒株)-Fc 或者 IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2 南非突变株)-Fc 蛋白与铝佐剂混合后皮下免疫小鼠。在免疫 14 天时通过眼眶取血的方式收集小鼠的血清, 进行新冠特异性抗体的检测。

(3) ELISA方法分析抗体应答同实施例9。

结果: SDS-PAGE结果显示出IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2原始毒株)-Fc正确的条带大小, 说明成功构建、表达、纯化突变的新冠病毒IFN α -RBD(SARS-CoV-2原始毒株)-Fc

疫苗蛋白（图16a），SDS-PAGE结果显示IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2南非突变株)-Fc正确的条带大小，说明成功构建、表达、纯化突变的新冠病毒IFN α -RBD(SARS-CoV-2南非突变株)-Fc疫苗蛋白（图16b）。ELISA结果显示IFN α -Pan-RBD(原始毒株)-Fc免疫小鼠，同IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2南非突变株)-Fc免疫小鼠，诱导产生的抗体，都可以与原始毒株新冠病毒RBD蛋白结合，并且两者诱导产生的抗体与原始毒株RBD的结合能力并无显著性差异（图16c）。同时针对南非突变株RBD的ELISA结果也显示IFN α -Pan-RBD（原始毒株）-Fc免疫小鼠，同IFN α -Pan-RBD(SARS-CoV-2南非突变株)-Fc免疫小鼠，诱导产生的抗体，均可与南非突变株RBD结合，并且其结合能力相当（图16d）。

实施例 11.

材料：C57BL/6 雌性小鼠（6-8 周）购自北京维通利华生物技术有限公司。ELISA 所用 SARS-CoV-2 RBD 蛋白购买自北京科跃中楷生物技术有限公司；免疫用的 Mouse IFN α -RBD-Fc、Mouse IFN α -Pan-RBD-Fc、Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白均产自本实验室，其他实验材料同实施例 3。

方法：

- （1）融合蛋白设计、质粒构建和蛋白纯化方法同实施例 1 和 2 所示。
- （2）对小鼠进行疫苗蛋白的免疫。10 μ g Mouse IFN α -RBD-Fc、Mouse IFN α -Pan-RBD-Fc 或 10 μ g Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 疫苗蛋白分别与 20 μ g 铝佐剂混合过夜后，通过肌肉免疫的方式对小鼠接种，并在初次接种后的 14 天进行一次加强免疫。在免疫后的第 7、14、28 天收集小鼠血清，并通过 ELISA 的方法对小鼠血清中的 RBD 特异性抗体进行水平进行检测。
- （3）检测血清 SARS-cov2 RBD 抗体。抗原包被：将 RBD（1.5 μ g/ml）包被液以每孔 100ul 的体系加入到 Elisa 板（Corning 9018）中，4 $^{\circ}$ C 包被过夜。用 PBS 洗一遍，260ul 每孔。用 5%的封闭液（5% FBS）100ul，37 $^{\circ}$ C 封闭两小时。用 PBS 稀释血清样品（1:10,1:100,1:1000,1:10000,1:100000...），每孔加 100ul 到封闭好的 Elisa 板中 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。PBST 洗 5 次，每次 260ul，每孔加入 100ul 酶标二抗（enzyme-conjugated anti-mouse IgG-HRP 1:5000 diluted by PBS），37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。用 PBST 洗五遍，每次 260ul，加底物 TMB 100ul/孔，室温避光孵育 15 分钟，等待底物显色。每孔加 50ul 终止液(2N H₂SO₄)终止显色，酶标仪读板，OD₄₅₀₋₆₃₀。滴度计算方法，选取结果为

阳性的最大稀释倍数，以该稀释倍数对应的 OD 值/Cutoff 值 (0.1) 乘 (X) 稀释倍数，所得的值为该血清对应的抗体滴度。

结果：

如图 17 所示，蛋白经过表达纯化后，SDS-PAGE 结果表明蛋白大小符合预期并且在目标位置处展现出单一条带。

如图 18 所示，Pan (Pan DR-binding epitope) CD4 T 细胞辅助表位的加入可以增强 Mouse IFN α -RBD-Fc 与 Human IFN α -RBD-Fc 的免疫性。实验结果显示不管是在疫苗蛋白免疫后的第 7 天还是第 14 天、28 天，Mouse IFN α -Pan-RBD-Fc 相较于 Mouse IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 相比于 Human IFN α -RBD-Fc，pan 表位的加入均能引起更高的 RBD 特异性抗原的产生。

实施例. 12

材料：C57BL/6 雌性小鼠（6-8 周）购自北京维通利华生物技术有限公司；ELISA 所用 SARS-CoV-2 RBD 蛋白购买自北京科跃中楷生物技术有限公司。免疫用的 Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白均产自本实验室。其他实验材料同实施例 3。

方法：

(1) Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白免疫小鼠。10 μ g Human IFN α -RBD-Fc 或 Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白与铝佐剂混合过夜，作为含有铝佐剂的疫苗样品，另一组 10 μ g Human IFN α -RBD-Fc 或 Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白经 PBS 稀释，作为不含佐剂的疫苗样品。在有铝佐剂存在或者没有铝佐剂存在的情况下，通过肌肉免疫的方式对小鼠接种 10 μ g Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白，在接种后的 14 天进行一次加强免疫。分别在免疫后的第 7、14、28 天收集小鼠血清，并通过 ELISA 的方法对小鼠血清中的 RBD 特异性抗体水平进行检测。

(2) 检测血清 SARS-cov2 RBD 抗体。抗原包被：将 RBD (1.5 μ g/ml) 包被液以每孔 100 μ l 的体系加入到 Elisa 板 (Corning 9018) 中，4 $^{\circ}$ C 包被过夜。用 PBS 洗一遍，260 μ l 每孔。用 5% 的封闭液 (5% FBS) 100 μ l，37 $^{\circ}$ C 封闭两小时。用 PBS 稀释血清样品 (1:10,1:100,1:1000,1:10000,1:100000...),每孔加 100 μ l 到封闭好的 Elisa 板中 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。PBST 洗 5 次，每次 260 μ l，每孔加入 100 μ l 酶标二抗 (enzyme-conjugated anti-mouse IgG-HRP 1:5000 diluted by PBS)，37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。用 PBST 洗五遍，每次 260 μ l，加底物 TMB 100 μ l/孔，室温避光孵育 15 分钟，等待底物显色。每孔加 50 μ l

终止液(2N H₂SO₄)终止显色，酶标仪读板，OD₄₅₀₋₆₃₀。滴度计算方法，选取结果为阳性的最大稀释倍数，以该稀释倍数对应的 OD 值/Cutoff 值 (0.1) 乘 (X) 稀释倍数，所得的值为该血清对应的抗体滴度。

结果：

如图 19 所示，铝佐剂的应用可以增强 Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白的免疫原性。虽然无佐剂 Human IFN α -RBD-Fc、Human IFN α -Pan-RBD-Fc 疫苗可以产生高滴度抗体应答，但是铝佐剂辅助的 Human IFN α -RBD-Fc 和 Human IFN α -Pan-RBD-Fc 蛋白在接种后的第 7 天、14 天、28 天相比于无佐剂辅助组均可进一步提高 RBD 特异性抗体应答水平。

实施例 13.

材料：

实验动物购自北京维通利华实验动物有限公司，所用动物为 6-8 周 C57BL/6 小鼠；动物合格证编号：No. 110011200106828974；免疫用的 RBD 蛋白购自北京科跃中楷生物技术有限公司；RBD-Fc，IFN α -RBD-Fc 及 IFN-pan-RBD-Fc 蛋白为本实验室生产；所有佐剂购自德国 SERVA 公司；辣根过氧化酶 (HRP) 标记山羊抗小鼠 IgG 购自北京康为生物技术有限公司；96 孔 ELISA 测定板购自 Corning Costar 公司；ELISA 显色液购自 eBioscience 公司；所用酶标仪 SPECTRA max PLUS 384 购自美国 Molecular 公司；组织匀浆破碎仪购自北京昊诺斯科技有限公司。

方法：

6-8 周小鼠分为 5 组，每组 10 只，分别通过滴鼻免疫的方式免疫 10 μ g 的 IFN α -pan-RBD-Fc 或者相同摩尔数的 RBD、RBD-Fc、IFN α -RBD-Fc 蛋白，滴鼻剂量为 10 μ L 每只小鼠。采用两次免疫程序在第 0 天与 14 天免疫小鼠。分别在免疫后第 7、14、21、28、35、42 天收集小鼠血清，采用 ELISA 方法检测各组血清中 SARS-CoV-2 RBD 特异性抗体含量；取 28 天的血清，进行 SARS-CoV-2 假病毒体外中和实验。

结果：

如图 20 所示，RBD, RBD-Fc 蛋白两次滴鼻免疫可以引起一定程度的抗体反应，IFN α -pan-RBD-Fc 两次滴鼻免疫后同时间点所诱导产生的血清 IgG 和 IgA 水平均都明显高于 RBD, RBD-Fc 与 IFN -RBD-Fc 组，假病毒中和实验结果显示相比于 RBD 和 RBD-Fc 免疫组，IFN -RBD-Fc 可以诱导更高水平的中和抗体产生。

实施例 14.

材料:

同实施例 10

方法:

6-8 周小鼠分为 4 组, 每组 5 只, 分别通过滴鼻免疫的方式免疫 10ug 的 IFN α -pan-RBD-Fc 或者相同摩尔数的 RBD、RBD-Fc、IFN α -RBD-Fc 蛋白, 剂量为 10uL 每只小鼠。采用两次免疫程序在第 0 天与 14 天免疫小鼠。在免疫后第 28 天收集小鼠鼻黏膜上清以及肺灌洗液, 采用 ELISA 方法检测各组血清中 SARS-CoV-2 RBD 特异性抗体含量, 采用 SARS-CoV-2 假病毒中和实验测血清和鼻黏膜上清的新冠假病毒中和实验。

免疫实验动物小鼠鼻黏膜上清和肺泡灌洗液获取: 小鼠休眠处死后, 取小鼠鼻黏膜, 用组织匀浆破碎仪破碎。将匀浆后的液体 13000rpm 高速离心 10 分钟, 取其上清即为鼻黏膜上清 (NMDS)。小鼠肺部, 用 1ml 注射器吸取约 0.8ml 的 HBSS+100uMEDTA, 注入气管插管, 轻柔地反复吹吸三遍后, 将液体吸出, 收集到离心管里, 重复该步骤三遍, 最终大约能获得 2ml 的肺灌洗液。将小鼠肺灌洗液 500g 离心 5 分钟, 上清即为小鼠肺灌洗液 (BALF), 沉淀为小鼠肺中有的淋巴细胞, 可进行进一步分析。

结果:

如图 21 所示, IFN α -pan-RBD-Fc 蛋白相比于 RBD 和 RBD-Fc 蛋白, 两次滴鼻免疫的可以引起强烈的鼻黏膜局部 IgG 抗体反应和 IgA 黏膜免疫。IFN α -pan-RBD-Fc 蛋白反应强度均强于 RBD、RBD-Fc 组。假病毒中和实验结果显示, IFN α -pan-RBD-Fc 蛋白免疫组在鼻黏膜处可以诱导更高滴度的中和抗体产生。

如图 22 所示, IFN α -pan-RBD-Fc 融合蛋白两次滴鼻免疫 C57BL/6 小鼠在局部肺组织同样引起强烈的 IgG 抗体和 IgA 抗体分泌。假病毒中和实验结果显示 IFN α -pan-RBD-Fc 相比于 RBD、RBD-Fc 其诱导产生了更高滴度的中和抗体。

实施例 15.

Her2 属于 I 型跨膜生长因子受体 HER 家族, 由胞外配体结合结构域、跨膜结构域和胞内酪氨酸激酶结构域组成。一旦配体结合到胞外结构域, HER 蛋白将二聚化并反式磷酸化其胞内结构域, 磷酸化的酪氨酸残基可与多种胞内信号分子结合, 激活下游信号通路, 调控基因转录。被调控的基因多与细胞增殖、存活、分化、血管生成、侵袭和转移等过程有关。Her2 蛋白的胞外段较大, 有 600 多个氨基酸, 可分为四个结构域, 分别为结构域 I、II、III、IV。目前批准的 Trastuzumab 主要结合在结构域 IV,

Pertuzumab 主要结合在结构域 II，正在开展临床试验的多肽类疫苗 E75 则靶向结构域 III。说明不同的结构域中都具有一些重要的位点，可能介导抗肿瘤作用。为研究该疫苗平台用于肿瘤预防与治疗，该专利研究选取肿瘤抗原 Her2 作为靶点，构建 IFN-Her2-Fc 和 IFN-Pan-Her2-Fc 构建融合蛋白疫苗，分析体内抗肿瘤活性和疫苗免疫活性。

材料和方法：

材料：

BALB/c 雌性小鼠（6-8 周）购自北京维通利华生物技术有限公司；TUBO 细胞来源于 TCGA；其他材料同实施例 3。

方法：

（1）融合蛋白设计、质粒构建构建和蛋白纯化方法如实施例 1 和 2 所示。

首先针对小鼠 Her2 胞外段的结构域 III 和 IV 构建表达质粒，（分别记作：IFN α -3-Fc、IFN α -pan-3-Fc、IFN α -pan-4-Fc 和 IFN α -4-Fc），在人 293F 细胞系中表达并纯化相关蛋白。利用 SDS-PAGE 和考马斯亮蓝染色对蛋白的大小和纯度进行鉴定。

（2）IFN α -3-Fc 和 IFN α -pan-3-Fc 直接抗肿瘤活性分析

TUBO 是来源于 BALB-NeuT 小鼠的乳腺癌细胞系，用于研究 Her2 阳性乳腺癌的生长和治疗。利用 TUBO 肿瘤检测蛋白中 IFN α 的抗肿瘤活性。构建 TUBO 乳腺癌模型小鼠， 5×10^5 TUBO 细胞皮下接种于 BALB/C 小鼠，肿瘤大小在 50-80mm³ 给药治疗，每周一次，共治疗 3 次。给药剂量为 IFN α -3-Fc 是 10ug/小鼠，其他药物等摩尔给药，CpG 作为佐剂。测量肿瘤大小，绘制肿瘤生长曲线。

（3）分析 IFN α 和 Pan 对 Her2 疫苗免疫原性的提升

6-8 周的 BALB/C 雌性小鼠皮下接种不含佐剂的 HER2 结构域 V 融合蛋白疫苗 4-Fc、IFN α -4-Fc 和 IFN α -pan-4-Fc，每周 1 次，共接种 3 次。免疫剂量为 IFN α -4-Fc 10ug/小鼠，其他蛋白等摩尔接种。在免疫接种后 14 天、21 取静脉血，用 ELISA 方法检测 Her2 特异性 IgG 的抗体水平。

结果：

（1）如图 23 所示，Her2 融合蛋白大小基本符合预期，纯度达到实验要求。IFN α -3-Fc（62.6kDa）、IFN α -pan-3-Fc（63.9kDa）、IFN α -pan-4-Fc（74.9kDa）和 IFN α -4-Fc（73.6kDa）。非变形条件下，蛋白处于二聚体状态，符合 Fc 片段自动二聚化的特性。

（2）如图 24 所示，与对照组相比，肿瘤内注射 Her2 融合蛋白 IFN α -pan-3-Fc 和

IFN α -3-Fc 显著抑制 TUBO 肿瘤的生长, 且控制效果与 IFN α -Fc 组相当。说明蛋白疫苗中 IFN α 的活性良好, 并没有出现空间位阻等因素影响其 IFN α 活性, 可用于进一步探究其在抗肿瘤免疫中的功效和机制。

(3) 如图 25 所示, 与对照组相比, Her2 融合蛋白疫苗免疫后 14 天和 21 天, 4-Fc、IFN α -4-Fc 和 IFN α -pan-4-Fc 均能诱导明显的 Her2 特异性 IgG 抗体反应; 相比于 4-Fc, IFN α -4-Fc 和 IFN α -pan-4-Fc 诱导的抗体滴度有增加的趋势。而且, 免疫后 21 天时, IFN α -pan-4-Fc 诱导的抗体滴度显著高于 4-Fc 组。说明 IFN α 和 pan 的添加有助于增加 4-Fc 的免疫原性, 诱导出更加强烈的抗原特异性抗体反应, 因此 IFN-Pan-HER2-Fc 和 IFN-Pan-HER2-Fc 是有潜力的抗 Her2 阳性肿瘤的有效肿瘤疫苗。

实施例 16.

材料: BALB/c 雌性小鼠 (6-8 周) 购自北京维通利华生物技术有限公司; ELISA 所用 HA1 (A/PR8) 蛋白购买自北京一翹神州生物技术有限公司; 免疫用的 HA1 蛋白蛋白 (A/PR8) 购买自北京一翹神州生物技术有限公司, IFN α -HA1-Fc 产自本实验室; 感染小鼠所用的 H1N1(A/PR8) 流感病毒由本实验室所生产; 其他实验材料同实施例三。

方法:

(1) IFN α -HA1-Fc 蛋白的设计、质粒构建和蛋白纯化同实施例 1 和 2 所示。

(2) HA1、IFN α -HA1-Fc 蛋白免疫小鼠。10 μ g IFN α -HA1-Fc 或相同摩尔量的 HA1 蛋白分别与 20 μ g 铝佐剂混合过夜后, 通过肌肉免疫的方式对小鼠接种, 并在初次接种后的 14 天进行一次加强免疫。在免疫后的第 28 天收集小鼠血清, 并通过 ELISA 的方法对小鼠血清中的 HA1 特异性抗体进行水平进行检测。

(3) 检测血清 HA1 抗体。抗原包被: 将 HA1(2 μ g/ml) 包被液以每孔 100ul 的体系加入到 Elisa 板 (Corning 9018) 中, 4 $^{\circ}$ C 包被过夜。用 PBS 洗一遍, 260ul 每孔。用 5% 的封闭液 (5% FBS) 100ul, 37 $^{\circ}$ C 封闭两小时。用 PBS 稀释血清样品 (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000...), 每孔加 100ul 到封闭好的 Elisa 板中 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。PBST 洗 5 次, 每次 260ul, 每孔加入 100ul 酶标二抗 (enzyme-conjugated anti-mouse IgG-HRP 1:5000 diluted by PBS), 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。用 PBST 洗五遍, 每次 260ul, 加底物 TMB 100ul/孔, 室温避光孵育 15 分钟, 等待底物显色。每孔加 50ul 终止液(2N H₂SO₄)终止显色, 酶标仪读板, OD₄₅₀₋₆₃₀。滴度计算方法, 选取结果为阳性的最大稀释倍数, 以该稀释倍数对应的 OD 值/Cutoff 值 (0.1) 乘 (X) 稀释倍数, 所得的值为该血清对应的抗体滴度。

(4) 小鼠免疫 42 天后将小鼠麻醉通过滴鼻的方式对小鼠感染 1000PFU A/PR8 流感病毒，感染后的第三天起，每两天对小鼠进行一次观察并称量小鼠体重。

结果：

如图 26 所示，蛋白经表达纯化后，经 SDS-PAGE 对蛋白的大小和纯度进行检测结果显示在目的条带大小位置展现出了单一的条带。如图 27 所示，IFN α -HA1-Fc 相比与 HA1 蛋白可以诱导产生更高滴度的 HA1 特异性抗体（图 27a），表明该疫苗平台可以提升 HA1 蛋白的免疫原性。小鼠经过攻毒后其体重会发生明显的变化，但是 IFN α -HA1-Fc 免疫组小鼠体重相比与 PBS 组和 HA1 蛋白免疫组，其体重会得到快速的回升，表明了 IFN α -HA1-Fc 疫苗免疫对流感病的感染表现出了良好的保护性(图 27b)。

实施例 17

材料和方法：

IFN α -Pan-VZV-gE-Fc、IFN α -Pan-EBV-gp350-Fc、IFN α -Pan-HSV-2-gD-Fc 蛋白的设计、质粒构建和蛋白纯化同实施例 1 和 2 所示。

结果：

如图28所示，IFN α -Pan-VZV-gE-Fc、IFN α -Pan-EBV-gp350-Fc、IFN α -Pan-HSV-2-gD-Fc 融合蛋白经表达纯化后，经SDS-PAGE对蛋白的大小和纯度进行检测结果显示在目的条带位置正确。

参考文献：

- [1] WHO W. Global hepatitis report 2017 [J]. Geneva: World Health Organization, 2017,
- [2] RAZAVI-SHEARER D, GAMKRELIDZE I, NGUYEN M H, et al. Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study [J]. The lancet Gastroenterology & hepatology, 2018, 3(6): 383-403.
- [3] SCHWEITZER A, HORN J, MIKOLAJCZYK R T, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013 [J]. The Lancet, 2015, 386(10003): 1546-55.
- [4] VOS T, ABAJOBIR A A, ABATE K H, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. The

Lancet, 2017, 390(10100): 1211-59.

[5] KRAMMER F, SMITH G J D, FOUCHIER R A M, et al. Influenza [J]. Nature reviews Disease primers, 2018, 4(1): 3.

[6] HANNOUN C. The evolving history of influenza viruses and influenza vaccines [J]. Expert review of vaccines, 2013, 12(9): 1085-94.

[7] HOUSER K, SUBBARAO K. Influenza vaccines: challenges and solutions [J]. Cell host & microbe, 2015, 17(3): 295-300.

[8] HU B, GUO H, ZHOU P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19 [J]. Nature Reviews Microbiology, 2020, 1-14.

[9] LURIE N, SAVILLE M, HATCHETT R, et al. Developing Covid-19 vaccines at pandemic speed [J]. New England Journal of Medicine, 2020, 382(21): 1969-73.

[10] LI Q, WU J, NIE J, et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity [J]. Cell, 2020, 182(5): 1284-94. e9.

[11] KONTERMANN R E. Strategies for extended serum half-life of protein therapeutics [J]. Current opinion in biotechnology, 2011, 22(6): 868-76.

[12] MEKHAIEL D N, CZAJKOWSKY D M, ANDERSEN J T, et al. Polymeric human Fc-fusion proteins with modified effector functions [J]. Scientific reports, 2011, 1(1): 1-11.

[13] ROOPENIAN D C, AKILESH S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age [J]. Nature reviews immunology, 2007, 7(9): 715-25.

[14] VILCEK J. Fifty years of interferon research: aiming at a moving target [J]. Immunity, 2006, 25(3): 343-8.

[15] BRACCI L, LA SORSA V, BELARDELLI F, et al. Type I interferons as vaccine adjuvants against infectious diseases and cancer [J]. Expert review of vaccines, 2008, 7(3): 373-81.

[16] HAHM B, TRIFILO M J, ZUNIGA E I, et al. Viruses evade the immune system through type I interferon-mediated STAT2-dependent, but STAT1-independent, signaling [J]. Immunity, 2005, 22(2): 247-57.

[17] ITO T, AMAKAWA R, INABA M, et al. Differential regulation of human blood dendritic cell subsets by IFNs [J]. The Journal of Immunology, 2001, 166(5): 2961-9.

[18] MONTOYA M, SCHIAVONI G, MATTEI F, et al. Type I interferons produced by dendritic cells promote their phenotypic and functional activation [J]. Blood, 2002, 99(9):

3263-71.

[19]LE BON A, ETCHART N, ROSSMANN C, et al. Cross-priming of CD8+ T cells stimulated by virus-induced type I interferon [J]. *Nature immunology*, 2003, 4(10): 1009-15.

[20]LE BON A, DURAND V, KAMPHUIS E, et al. Direct stimulation of T cells by type I IFN enhances the CD8+ T cell response during cross-priming [J]. *The Journal of Immunology*, 2006, 176(8): 4682-9.

[21]SPADARO F, LAPENTA C, DONATI S, et al. IFN- α enhances cross-presentation in human dendritic cells by modulating antigen survival, endocytic routing, and processing [J]. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2012, 119(6): 1407-17.

[22]PARLATO S, SANTINI S M, LAPENTA C, et al. Expression of CCR-7, MIP-3 β , and Th-1 chemokines in type I IFN-induced monocyte-derived dendritic cells: importance for the rapid acquisition of potent migratory and functional activities [J]. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2001, 98(10): 3022-9.

[23]ROUZAUT A, GARASA S, TEIJEIRA Á, et al. Dendritic cells adhere to and transmigrate across lymphatic endothelium in response to IFN - α [J]. *European journal of immunology*, 2010, 40(11): 3054-63.

[24]LE BON A, SCHIAVONI G, D'AGOSTINO G, et al. Type I interferons potently enhance humoral immunity and can promote isotype switching by stimulating dendritic cells in vivo [J]. *Immunity*, 2001, 14(4): 461-70.

权 利 要 求

1. 一种疫苗，其包含含有干扰素-靶抗原-免疫球蛋白 Fc 区（或抗体 Ab）为结构单元的融合蛋白，

其中所述干扰素为第一结构单元，可以是 I 型干扰素、II 型干扰素和/或 III 型干扰素例如 IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- λ 1(IL-29)、IFN- λ 2(IL-28a)、IFN- λ (IL-28b) 和 IFN- ω ，所述干扰素可来自人源或鼠源，优选所述干扰素为 I 型干扰素，例如 IFN- α ，例如小鼠 IFN- α 4、人 IFN- α 2、人 IFN- α 2 的突变体（结合人和小鼠的 IFN 受体），例如 SEQ ID NO.1、SEQ ID NO.21、SEQ ID NO.22 氨基酸序列所示，

其中所述靶抗原为第三结构单元，其所述靶抗原可以是例如肿瘤抗原，病原体抗原，如病毒或细菌抗原，其中所述靶抗原可以是例如与野生型不同的突变的靶抗原，包括例如野生型抗原的天然点突变/缺失突变/增多突变/截短体、人工点突变/缺失突变/增多突变/截短体、天然或人工突变的任何组合、突变后所产生的亚型，其中所述病毒可以是例如 SARS-COV-2，或者其中所述靶抗原可以是例如 SARS-COV-2 病毒 S 蛋白全长或 S1 区，例如所述靶抗原可以为 SEQ ID NO.76 或 SEQ ID NO.77 所示的抗原，

其中所述免疫球蛋白 Fc 区（或抗体）为第二结构单元，可以为 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 和/或 IgM 的恒定区氨基酸序列，例如 IgG1 的 Fc 区，以及用于形成异源二聚体的 IgG1-Fc-hole 和 IgG1-Fc-knob 的氨基酸序列 SEQ ID NO.2、SEQ ID NO.23、SEQ ID NO.24 所示的 Fc 区，其中作为第二结构单元的所述抗体（包括例如抗体重链和轻链，或单链抗体，简称 Ab）可以为 DC 靶向活化抗体，包括 anti-PD-L1，anti-DEC205，anti-CD80/86 等抗体，

任选地所述疫苗可以为靶向性疫苗，任选地所述融合蛋白还可以包含一个或多个 Th 细胞辅助表位和/或连接片段。

2. 权利要求 1 所述的疫苗，其中所述靶抗原是病毒抗原，所述病毒可以为例如 HBV，HPV，VZV，EBV，HSV-2，HIV，流感病毒，冠状病毒，如 SARS-COV，SARS-COV-2，MERS-CoV，例如，所述抗原可以是 HBV 抗原，例如 HBV Pres1 抗原，HBsAg 抗原或肽段，例如 ad 亚型或 ay 亚型 HBV Pres1 抗原，例如 SEQ ID NO.6 氨基酸序列所示的 ad 亚型 HBV Pres1 抗原，例如 SEQ ID NO.26 氨基酸序列所示的 ay 亚型 HBV Pres1 抗原；例如 HBV HBsAg 抗原（包含各个亚型和肽段），例如 SEQ ID NO.7 氨基酸序列所示的 adr 亚型 HBV HBsAg 抗原，例如 SEQ ID NO.27 氨基酸序列所示的

adw 亚型 HBV HBsAg 抗原, 例如 SEQ ID NO.28 氨基酸序列所示的 ayw 亚型 HBV HBsAg 抗原; 例如, 所述抗原可以是例如 SARS-COV-2 抗原, 例如 SARS-COV2 RBD 抗原, 例如 SEQ ID NO.8 氨基酸序列所示的 SARS-COV2 RBD 抗原; 例如流感病毒抗原, 例如流感病毒 HA 抗原, 例如 SEQ ID NO.9 氨基酸序列所示流感病毒 HA 抗原; 例如 HPV 抗原, 例如 SEQ ID NO.10 氨基酸序列所示的 HPV E7 抗原; 例如 gE 抗原, 例如 SEQ ID NO.91 氨基酸序列所示的带状疱疹病毒(VZV)gE 抗原; 例如 EBV-gp350, 例如 SEQ ID NO.92 氨基酸序列所示的埃博斯坦-巴尔病毒(EBV) gp350 蛋白; 例如 gD 抗原, 例如 SEQ ID NO.93 氨基酸序列所示的单纯疱疹病毒 2 (HSV-2) gD 抗原; 所述抗原可以是例如 EBV EBNA1/LMP2, VZV-IE62, HSV-2 ICP0, HIV gp120 抗原;

其中所述靶抗原可以是突变的病毒抗原, 例如前述任一病毒抗原的突变体, 例如 SARS-COV-2 的突变体, 包括例如 SARS-COV-2 蛋白(例如 S 蛋白、N 蛋白、M 蛋白、E 蛋白中的一个或多个)的天然点突变/缺失突变/增多突变/截短体、人工点突变/缺失突变/增多突变/截短体、天然或人工突变的任何组合、突变后所产生的亚型, 例如所述突变的病毒抗原可以为野生型 SARS-COV-2 的 S 蛋白全长(SEQ ID NO.76)、S1 区(SEQ ID NO.77)、RBD 区(SEQ ID NO.78)的突变体, 例如所述突变的病毒抗原可以包含 SARS-COV-2 的 S 蛋白的下述一个或多个突变: NTD 区域 69-70 缺失、Y144 缺失、242-244 缺失、L18F、D80A、D215、R246I 突变, RBD 区域 K417、E484、N501Y, L452R 突变, D614G, H655Y 突变, 例如所述突变的病毒抗原可以包含存在于来源于英国 B.1.1.7(501Y.1)突变株、南非 B.1.351(501Y.2) 突变株和巴西 P1 (501Y.3) 突变株、加州 B.1.429 突变株中的突变, 例如所述突变的病毒抗原可以包含 SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82 中任一个所示突变的突变体, 例如所述突变的病毒抗原可以为包含 SEQ ID NO.79、SEQ ID NO.80、SEQ ID NO.81、SEQ ID NO.82 中任一个所示序列的突变体,

所述病毒抗原可以融合表达增强 B 细胞和 T 细胞应答的辅助多肽表位, 可以位于抗原表位的 N 端或 C 端, 例如以 Pan HLA DR-binding 表位 (PADER), 例如 SEQ ID NO.3 其氨基酸序列所示;

所述各个结构单元的连接片段为柔性多肽序列, 可以为连接片段 1 和 2, 例如 SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.25 氨基酸序列所示,

所述结构单元组成的每一条多肽序列 N 端可以均含有能够促进蛋白分泌的相应信号肽, 例如 SEQ ID NO.5 氨基酸序列所示,

所述疫苗可以通过真核表达系统产生, 例如通过真核表达系统 293F、CHO 细胞产

生。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的疫苗，其中所述靶抗原是肿瘤抗原，例如肿瘤细胞高表达蛋白分子，例如，所述抗原可以是人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2/neu) 和表皮生长因子 (Epidermal growth factor receptor, EGFR); 例如，肿瘤细胞高表达蛋白分子 Her2 及其各功能区和截短体，例如 SEQ ID NO. 85、86、97、88、89、90 所示的抗原及其突变体。

4. 权利要求 1-3 任一项所述的疫苗，其中所述融合蛋白为同源二聚体或者异源二聚体融合蛋白，任选地所述融合蛋白还可以在同源二聚体或者异源二聚体的任意一条或两条链（即第一多肽链和/或第二多肽链）中包含一个或多个 Th 细胞辅助表位和/或连接片段，

任选地所述同源二聚体融合蛋白包含第一多肽链和第二多肽链，所述第一多肽链和第二多肽链完全相同，例如所述第一多肽链和第二多肽链自 N 端到 C 端依次包含 IFN、靶抗原和免疫球蛋白 Fc 区（或 Ab），或三个结构单元任意组合次序的多肽，并生成同源二聚体；优选 N 端到 C 端依次包含 IFN、靶抗原和免疫球蛋白 Fc 区（或 Ab）；其还可以包含 Th 细胞辅助表位的融合蛋白；

任选地所述异源二聚体融合蛋白包含第一多肽链和第二多肽链，所述第一多肽链和第二多肽链不同，例如所述第一多肽链可以从 N 端到 C 端依次包括 IFN 和免疫球蛋白 Fc 区（或 Ab），或从 N 端到 C 端依次包括免疫球蛋白 Fc 区（或 Ab）和 IFN，所述第二条肽链可以包括靶抗原和免疫球蛋白 Fc 区（或 Ab），其中靶抗原可以位于 N 端，免疫球蛋白区（或 Ab）可以位于 C 端，或免疫球蛋白区（或 Ab）可以位于 N 端，靶抗原可以位于 C 端；或三个结构单元任意组合次序的多肽，并生成异源二聚体；优选 IFN 和靶抗原位分别位于两个多肽的 N 端，免疫球蛋白 Fc 区（或 Ab）位于两个多肽 C 端；其还可以包含 Th 细胞辅助表位的融合蛋白。

5. 权利要求 4 所述的疫苗，其中

1) 所述同源二聚体的第一多肽和第二多肽可以包含 SEQ ID NO.11、12、13、14、29、30、31、32、38、39、40、47、48、49、50、51、56、57、59、58、65、66、67、68 所示氨基酸序列，

2) 所述异源二聚体第一多肽可以包含 SEQ ID NO.15、33、42、51、60、69 所示核苷酸序列，第二多肽包含 SEQ ID NO. 16、17、18、19、34、35、36、37、43、44、45、46、52、53、54、55、61、62、63、64、70、71、72、73 所示氨基酸序列，

3) 所述抗体可以包括 DC 靶向抗体，免疫检查点阻断抗体，免疫激活抗体等，例

如含有 anti-PD-L1 抗体 (SEQ ID NO.20), anti-DEC205 抗体, anti-CD80/86 等抗体氨基酸序列的疫苗。

6. 编码权利要求 1-5 任一项所述疫苗中的融合蛋白的核酸分子, 包含所述核酸分子的表达载体, 或者包含所述核酸分子或表达载体的宿主细胞, 例如真核细胞。

7. 权利要求 1-5 任一项所述的疫苗中的融合蛋白在制备组合物或试剂盒, 例如药物或免疫原性组合物或试剂盒, 重组微生物或者细胞系中的应用。

8. 权利要求 7 所述的应用, 其中所述组合物或试剂盒用于肿瘤或病原体的预防或治疗, 例如病毒或细菌的预防或治疗, 所述病毒可以为 HBV, HPV, EBV, 流感病毒, HIV, 冠状病毒, 如 SARS-COV, SARS-COV-2, MERS-CoV, 例如, 所述组合物或试剂盒用作乙肝预防性或治疗性疫苗, HBV 预防性或治疗性疫苗, 流感预防性或治疗性疫苗, SARS-COV2 预防性或治疗性疫苗, HPV 预防性或治疗性疫苗, HPV 相关肿瘤预防性或治疗性疫苗, EBV 预防性或治疗性疫苗, EBV 相关肿瘤预防性或治疗性疫苗, HIV 预防性或治疗性疫苗。

9. 根据权利要求 1-5 任一项所述的疫苗或根据权利要求 7 或 8 所述的应用, 其中所述疫苗、所述组合物或试剂盒可以肌内、静脉内、经皮、皮下或者鼻腔等免疫途径进行接种, 其中所述疫苗、所述组合物或试剂盒还可以包括佐剂, 所述佐剂可以包括铝佐剂(Alum)、Toll 样受体 4 激活剂配体 MPLA、Toll 样受体 9 配体, 寡聚脱氧核苷酸(CpG-ODN), M59 和弗氏佐剂。

10. 根据权利要求 1-5 任一项所述的疫苗或根据权利要求 7 或 8 所述的应用, 其中所述疫苗可以与另外的预防性或治疗性疗法联合使用, 例如所述疫苗可以为 HBV 治疗性疫苗, 所述 HBV 治疗性疫苗可以与另外的预防性或治疗性 HBV 疗法联合使用, 例如所述 HBV 治疗性疫苗可以与乙型肝炎病毒包膜蛋白 HBsAg 疫苗联合使用, 例如用于慢性乙型肝炎病毒感染治疗, 例如所述 HBV 治疗性疫苗可以联合核苷或者核苷酸类似物, 例如用于慢性乙型肝炎病毒感染治疗, 例如用于流感、SARS-COV2、HPV、EBV、HIV 预防性或治疗性疫苗等与抗病毒药物和其他治疗方法的联合应用; HPV、EBV 相关肿瘤预防性或治疗性疫苗与抗病毒抗肿瘤药物和疗法的联合应用, 例如, 任何一种根据权利要求 1-5 任一项所述的疫苗作为疫苗的一个成分与其他病毒或病原体或肿瘤疫苗组成的多价联用疫苗, 例如, 任何一种根据权利要求 1-5 任一项所述的 SARS-COV-2 疫苗与流感疫苗或其他疫苗联用的多价疫苗, 例如任何一种根据权利要求 1-5 任一项所述的疫苗与同一病毒、病原体、肿瘤的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗按照先后顺序或同时免疫程序进行免疫, 例如 SARS-COV-2 融合

蛋白疫苗与 SARS-COV-2 的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗按照先后顺序或同时免疫程序进行免疫，例如先后免疫顺序可以为：1) 先免疫接种本发明的 SARS-COV-2 融合蛋白疫苗，后免疫；2) 先免疫 SARS-COV-2 的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗，后免疫 SARS-COV-2 融合蛋白疫苗；3) SARS-COV-2 融合蛋白疫苗与 SARS-COV-2 的腺病毒疫苗或 mRNA 疫苗或灭活疫苗或 DNA 疫苗同时免疫。

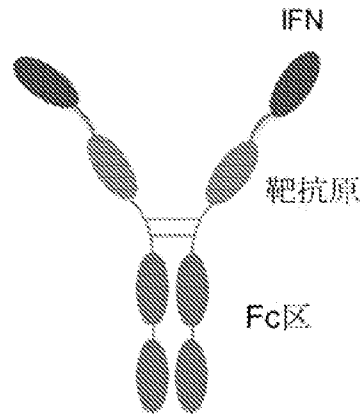


图1

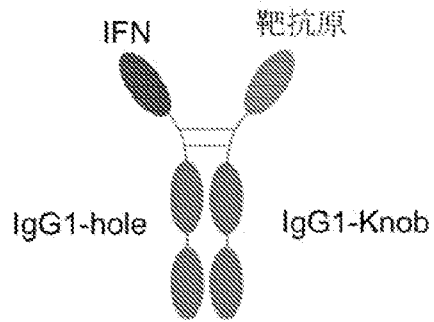


图2

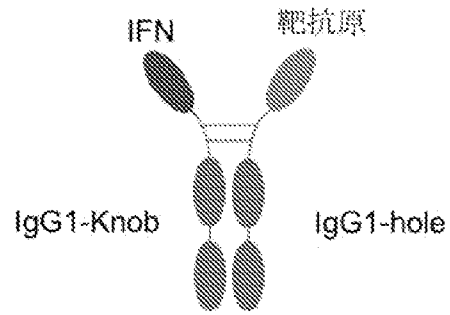


图3

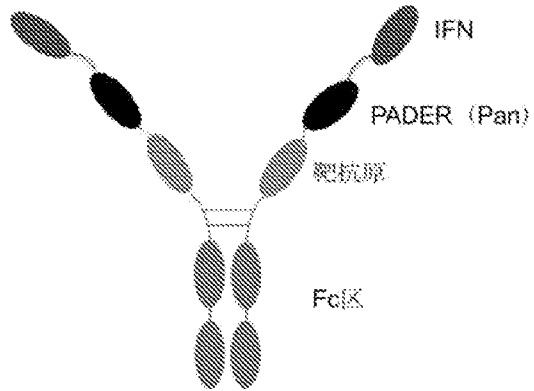


图4

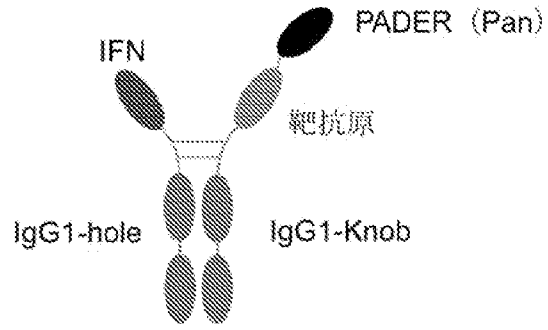


图5

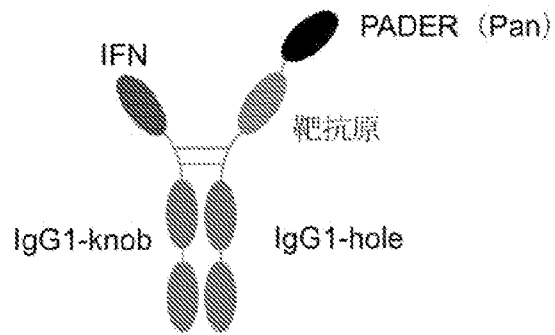


图6

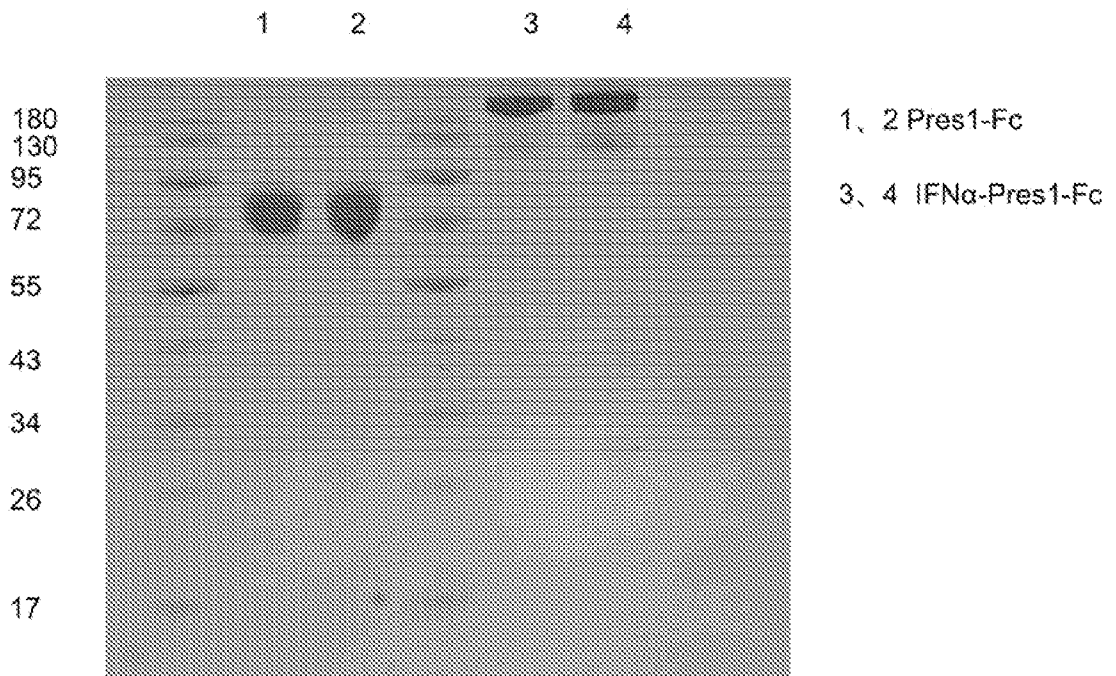


图7

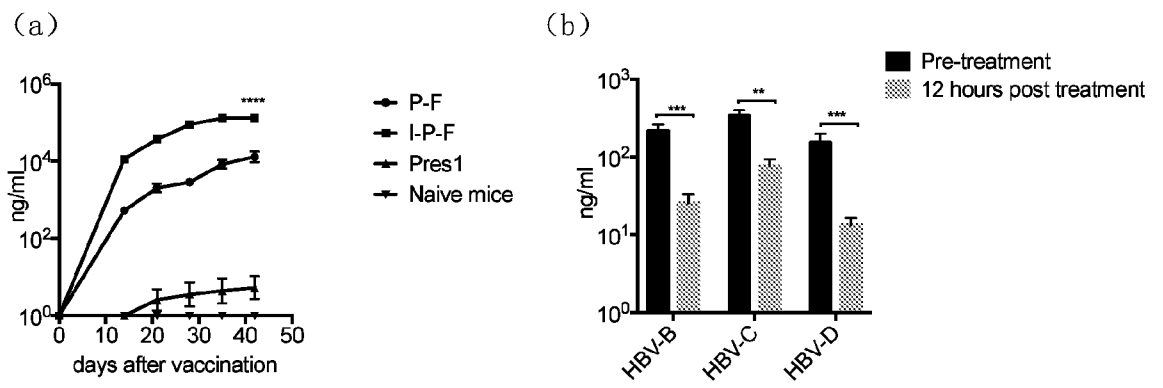


图 8

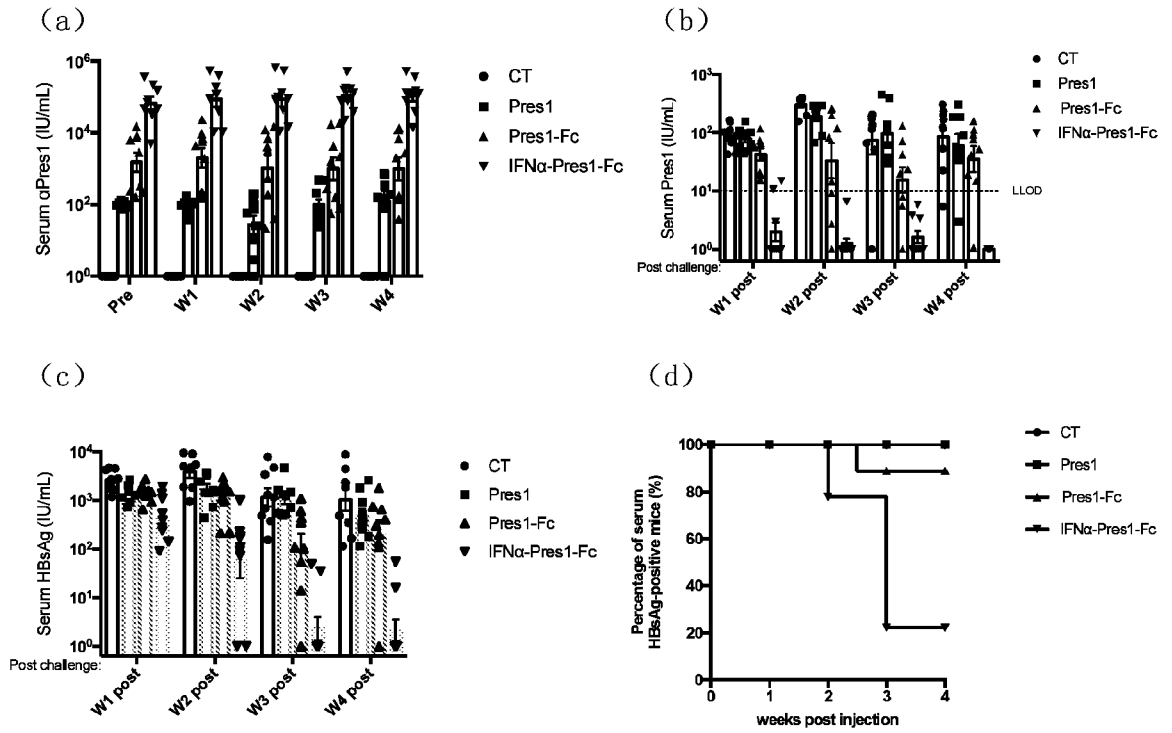


图 9

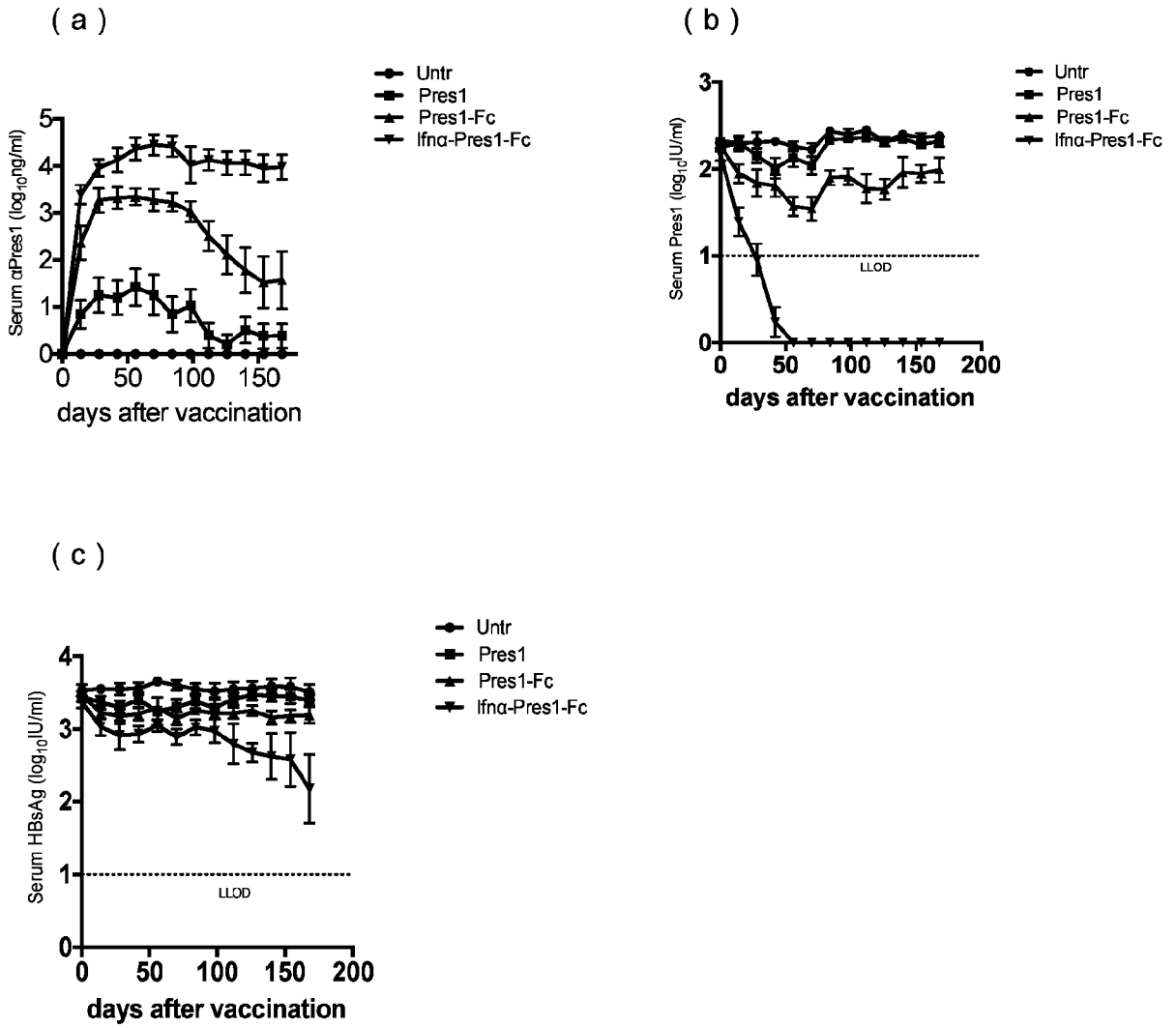


图 10

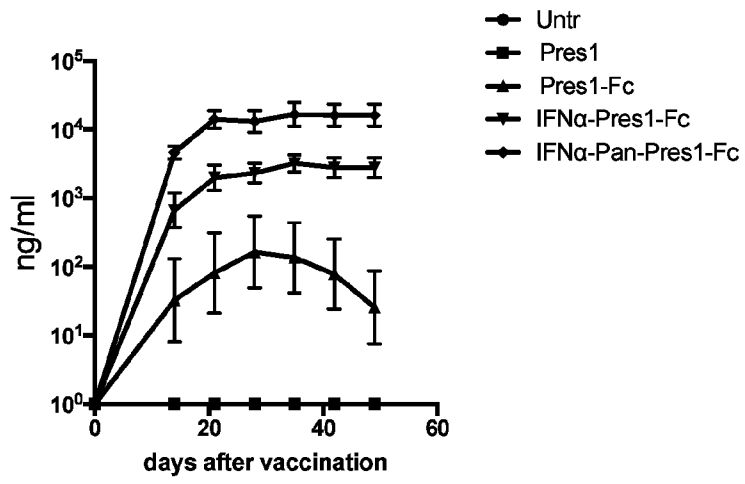


图 11

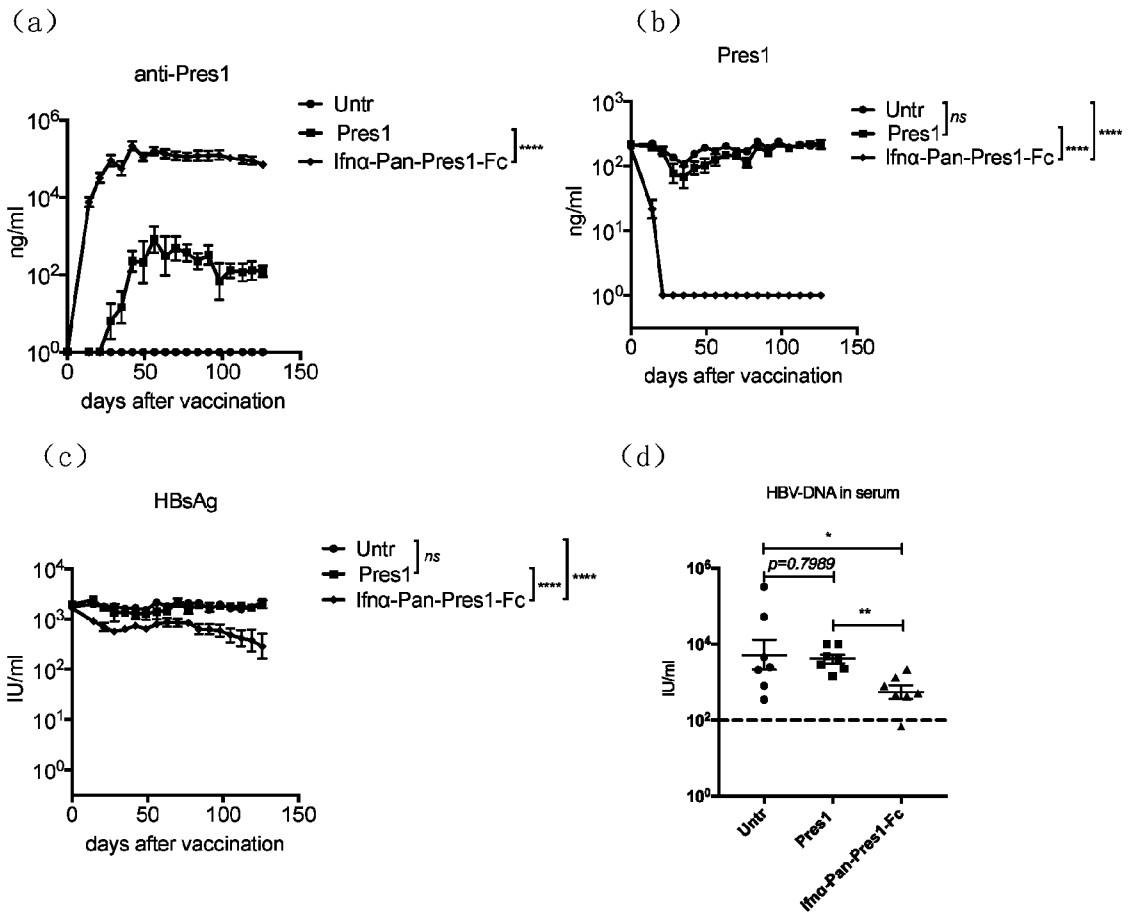


图 12

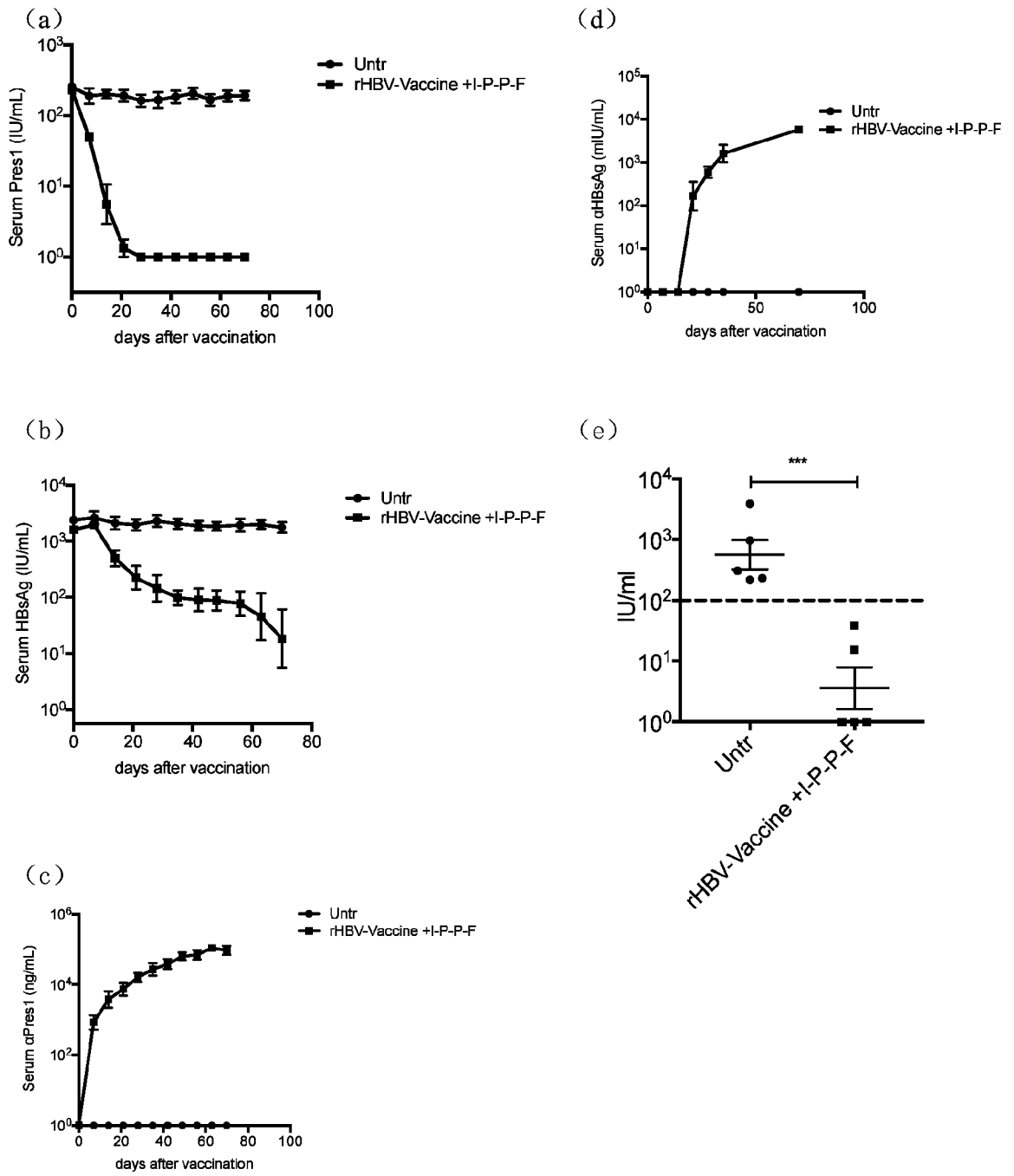


图 13

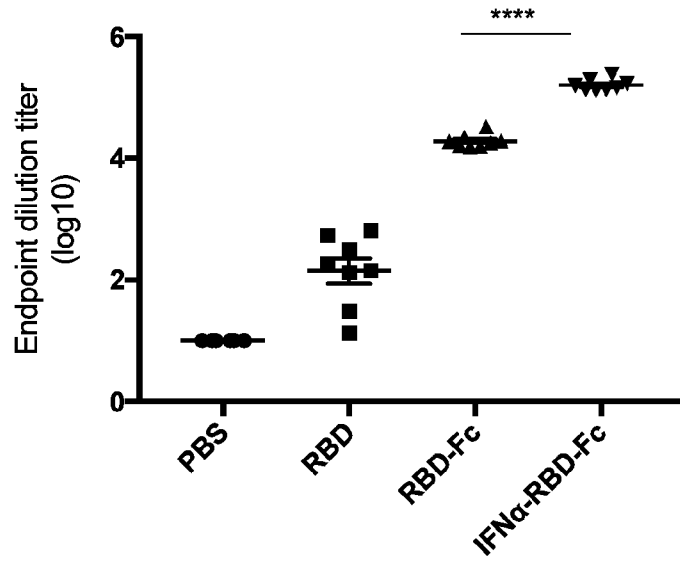


图 14

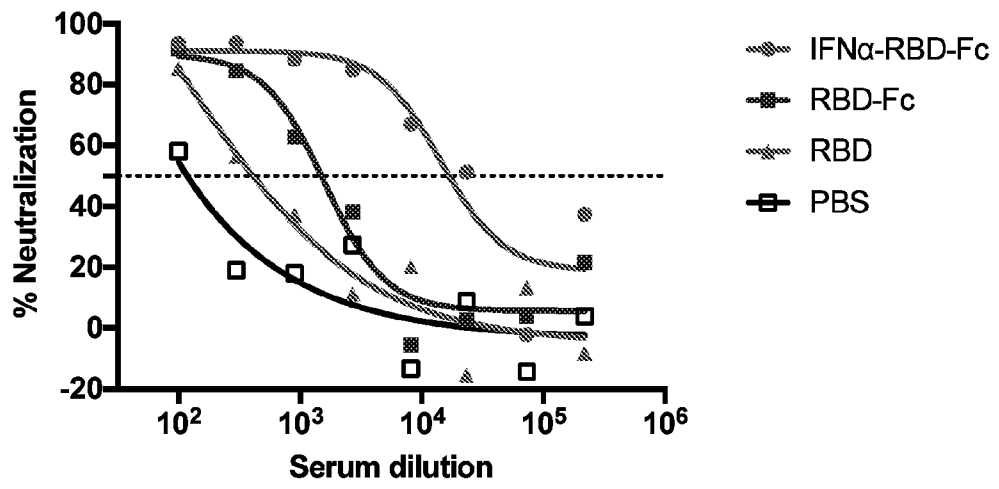


图 15

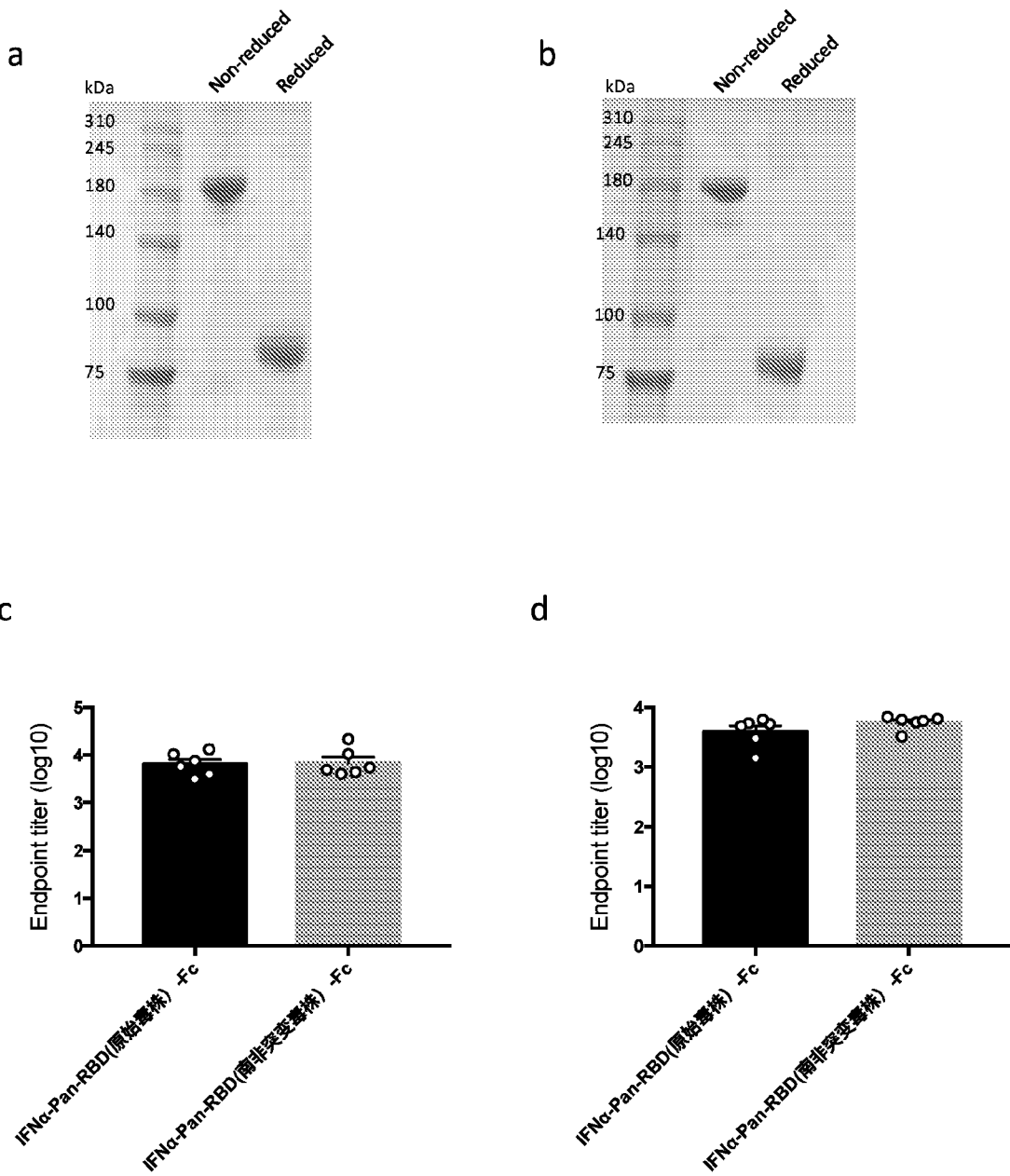


图 16

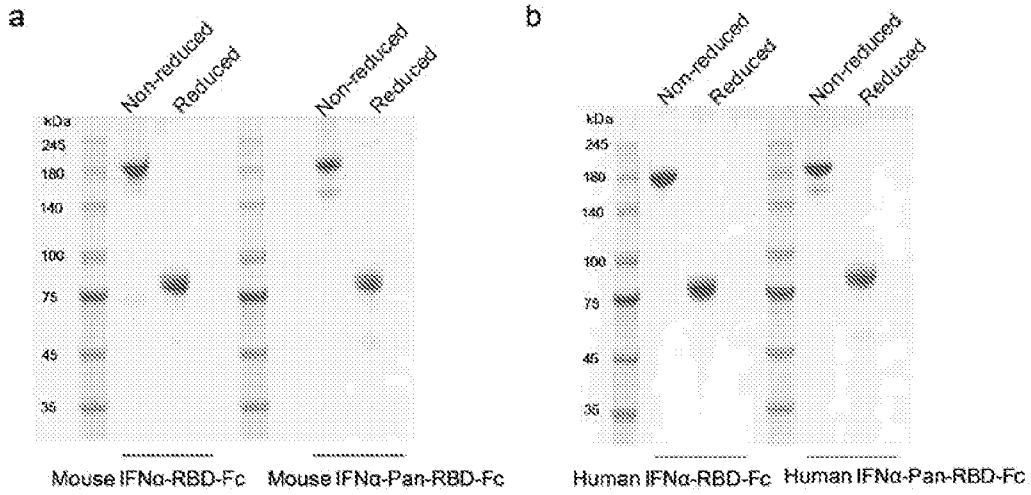


图 17

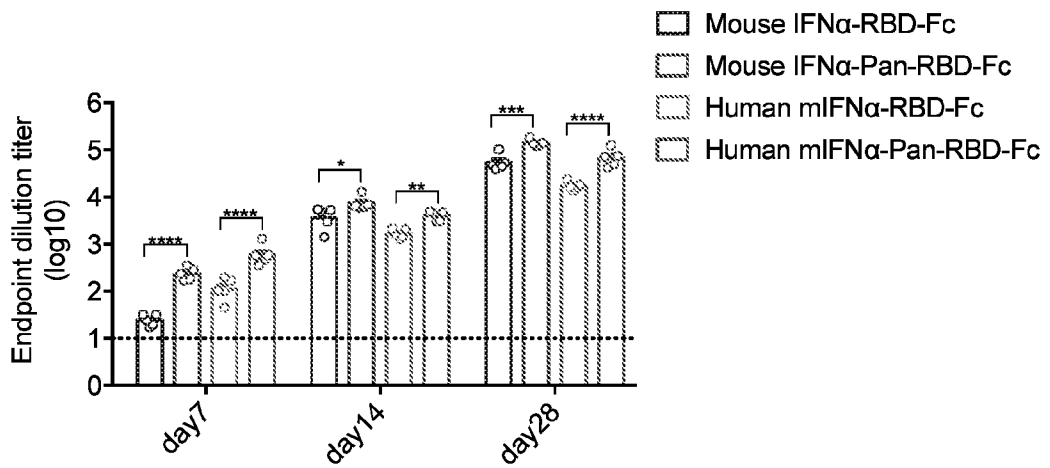


图 18

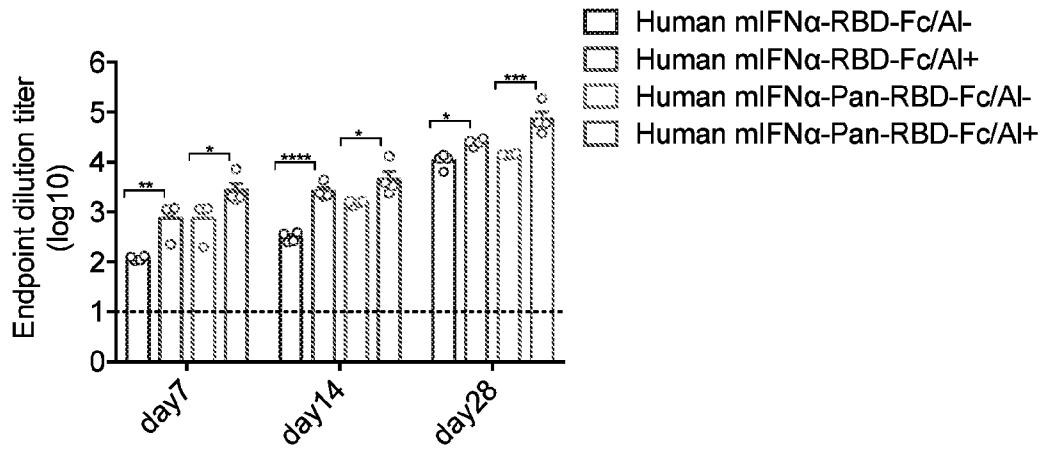


图 19

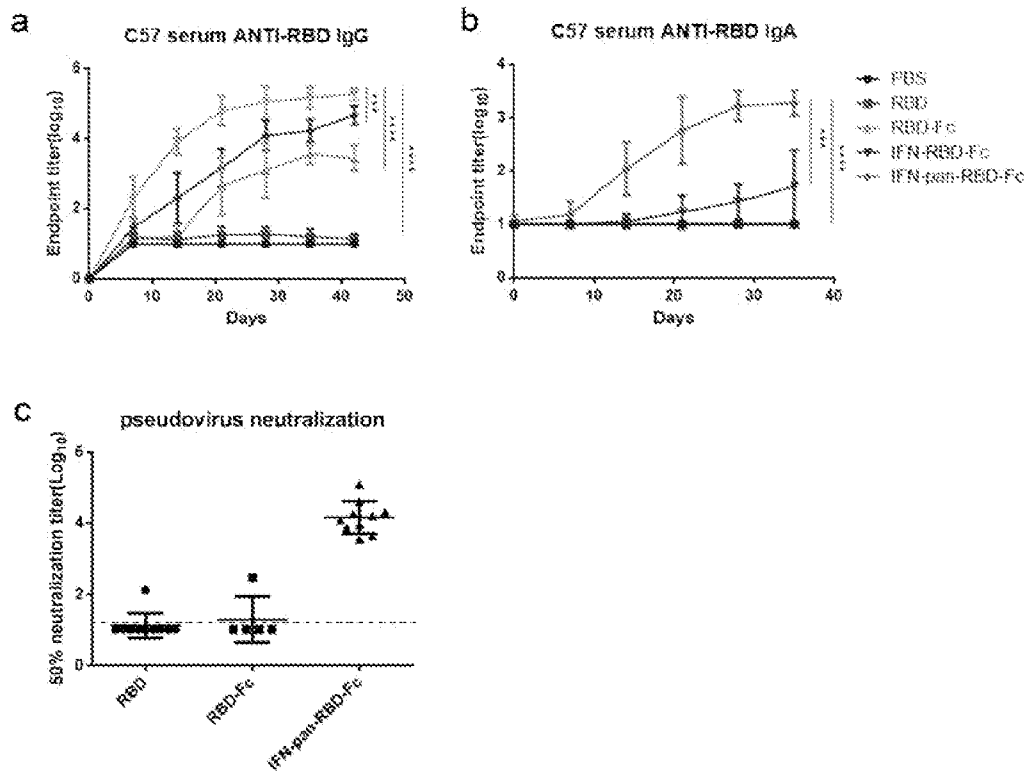


图 20

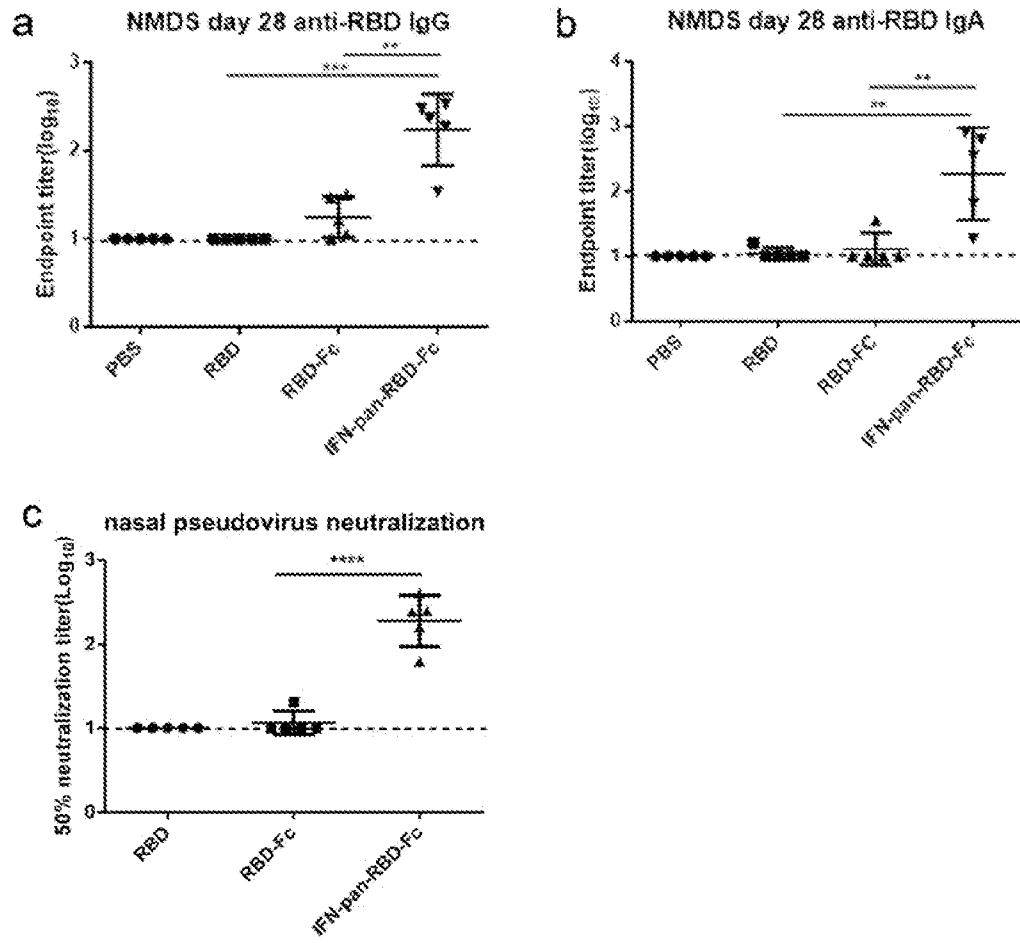


图 21

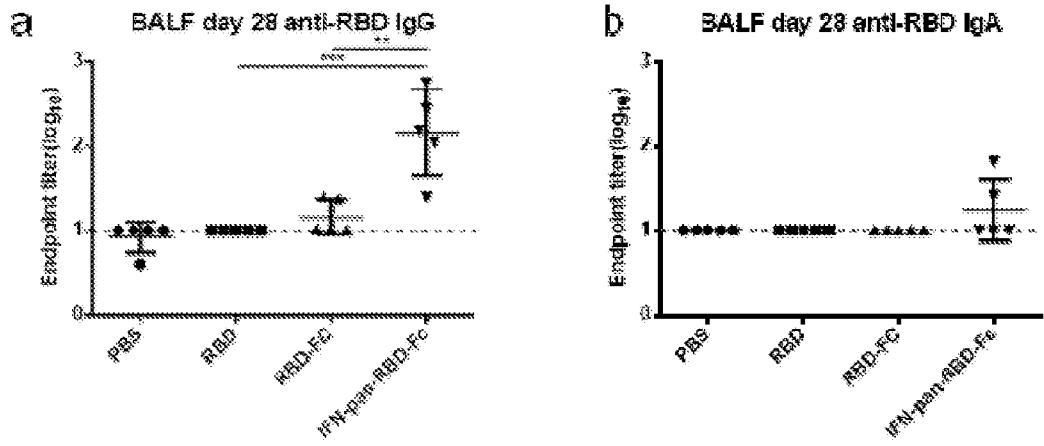


图 22

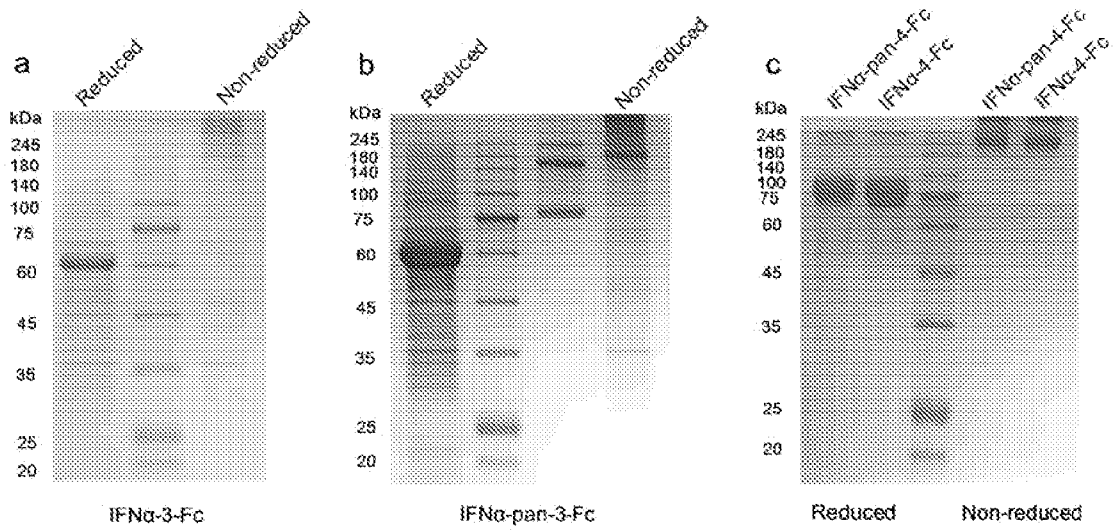


图 23

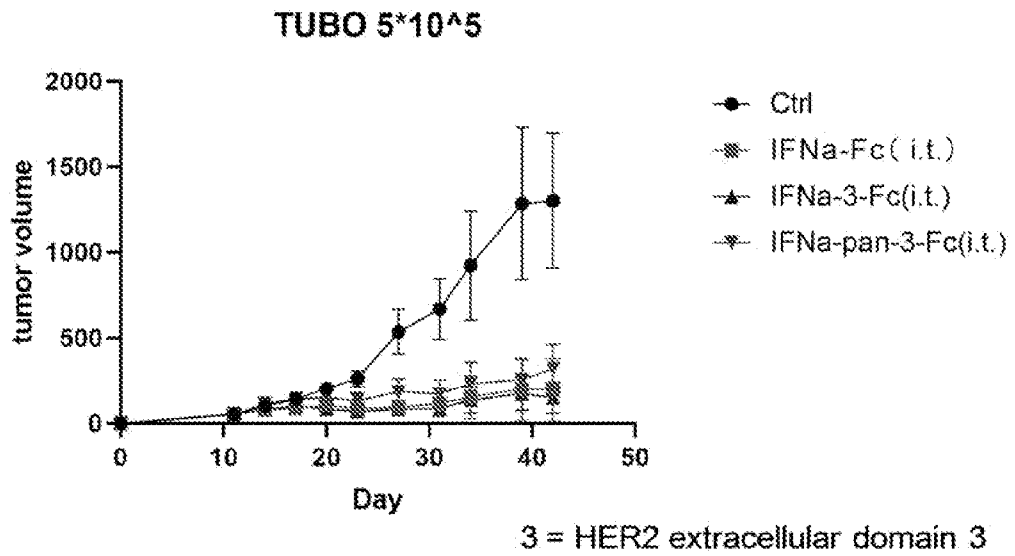


图 24

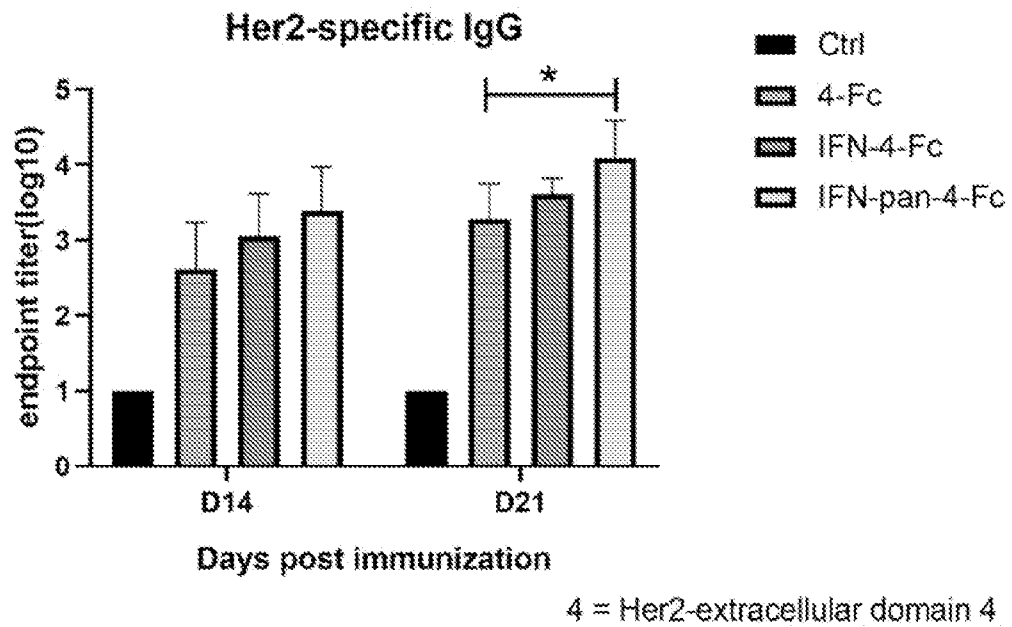


图 25

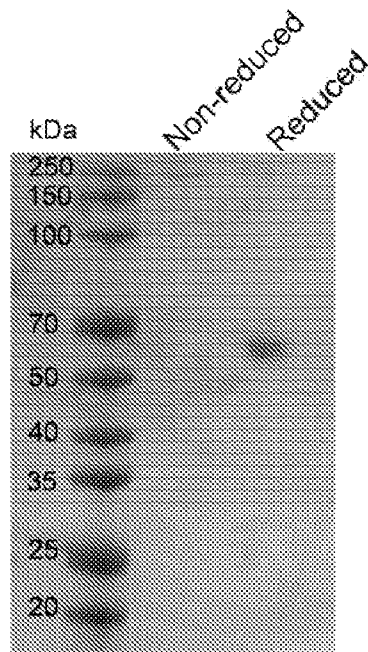


图 26

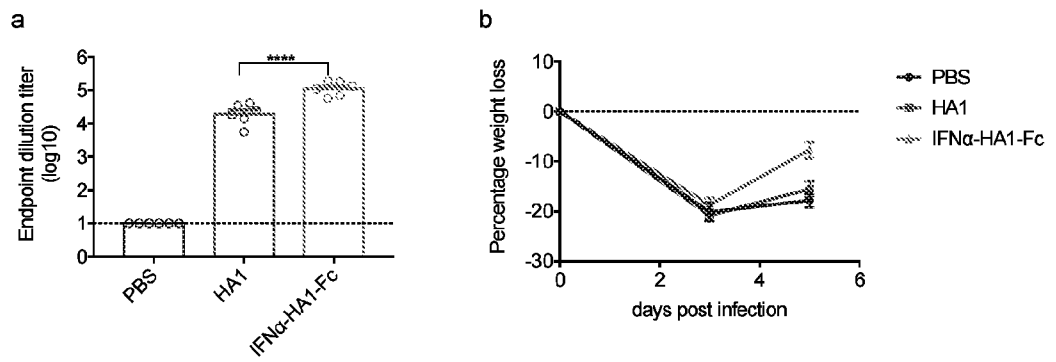


图 27

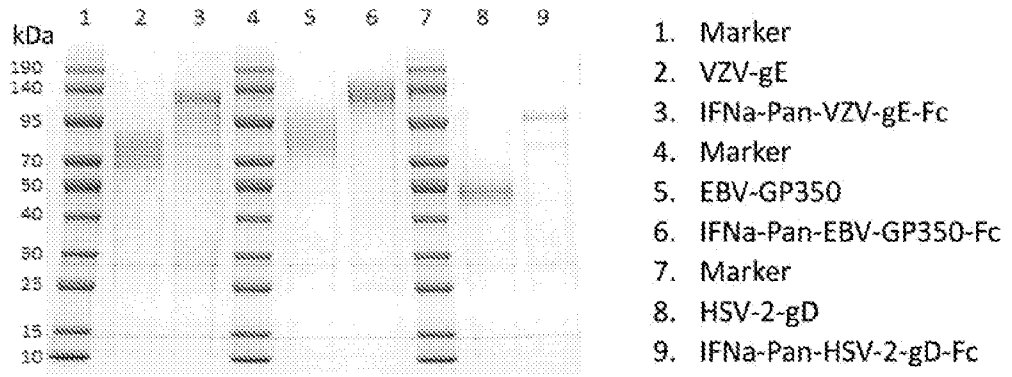


图 28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/103931

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 38/21(2006.01)i; A61K 39/02(2006.01)i; A61K 39/12(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; C12N 15/20(2006.01)i; C12N 15/62(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A61P 31/12(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K, C12N, A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNMED, CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNKI, 万方, WEB OF SCIENCE, PUBMED, ELSEVIER SCIENCE, Genbank, 中国专利生物序列检索系统: 疫苗, 组合物, 融合, 重组, 干扰素, 抗原, 表位, 肽, 免疫球蛋白, 抗体, 恒定区, 二聚体, 蛋白, 突变, 细菌, 病毒, 细胞, 细胞因子, vaccine, composition, fused, fusion, recombinant, interferon, IFN, antigen, epitope, antibody, peptide, IgG, Fc, dimer, protein, mutat+, bacter+, virus, cell, cytokine, sequence search for SEQ ID Nos: 1-93		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2019225673 A1 (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 25 July 2019 (2019-07-25) abstract, and claims 1-33	1-10
Y	CN 104403004 A (DINGFU BIOTARGET CO., LTD.) 11 March 2015 (2015-03-11) abstract, and claims 1-4	1-10
Y	US 2010261248 A1 (HANMI PHAM CO., LTD.) 14 October 2010 (2010-10-14) abstract, and claims 1-11	1-10
Y	陈沁韵等 (CHEN, Xinyun et al.). "IgG-Fc融合蛋白的研究进展 (Advances in Research on IgG-Fc Fusion Proteins)" <i>中国生物制品学杂志 (Chinese Journal of Biologicals)</i> , Vol. 28, No. 11, 30 November 2015 (2015-11-30), pages 1223-1227, see abstract, page 1226 left-hand column, last paragraph	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 29 September 2021		Date of mailing of the international search report 11 October 2021
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/103931

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Qing-Tong Wang et al. "Effect of rhTACI-Ig fusion protein on antigen-specific T cell responses from keyhole limpet haemocyanin challenged mice" <i>Molecular Immunology</i> , Vol. 49, No. 1-2, 02 October 2011 (2011-10-02), pages 380-386, see abstract	1-10
.....		

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/103931

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2019225673	A1	25 July 2019	EP	3519436	A4	09 September 2020
				CA	3038552	A1	05 April 2018
				WO	2018064611	A1	05 April 2018
				AU	2017337073	A1	18 April 2019
				JP	2019529499	A	17 October 2019
				EP	3519436	A1	07 August 2019
				<hr/>			
CN	104403004	A	11 March 2015	CN	104403004	B	13 October 2017
				ES	2752248	T3	03 April 2020
				WO	2016082677	A1	02 June 2016
				EP	3227342	A4	11 April 2018
				JP	6851314	B2	31 March 2021
				DK	3227342	T3	14 October 2019
				JP	2018502147	A	25 January 2018
				CN	107001485	A	01 August 2017
				HR	P20191807	T1	27 December 2019
				EP	3227342	B1	18 September 2019
				US	2017340708	A1	30 November 2017
				US	2020069773	A1	05 March 2020
				JP	6851314	B6	21 April 2021
				EP	3227342	A1	11 October 2017
				US	10471124	B2	12 November 2019
<hr/>							
US	2010261248	A1	14 October 2010	US	8110665	B2	07 February 2012

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61K 38/21(2006.01)i; A61K 39/02(2006.01)i; A61K 39/12(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; C12N 15/20(2006.01)i; C12N 15/62(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A61P 31/12(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61K, C12N, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNMD, CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNKI, 万方, WEB OF SCIENCE, PUBMED, ELSEVIER SCIENCE, Gen- bank, 中国专利生物序列检索系统:疫苗, 组合物, 融合, 重组, 干扰素, 抗原, 表位, 肽, 免疫球蛋白, 抗体, 恒 定区, 二聚体, 蛋白, 突变, 细菌, 病毒, 细胞, 细胞因子, vaccine, composition, fused, fusion, recombinat+, interferon, IFN, antigen, epitope, antibody, peptide, IgG, Fc, dimer, protein, mutat+, bacter+, virus, cell, cytokine, 对SEQ ID Nos: 1-93的序列检索</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>US 2019225673 A1 (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 2019年 7月 25日 (2019 - 07 - 25) 摘要, 权利要求1-33</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 104403004 A (DINGFU BIOTARGET CO LTD) 2015年 3月 11日 (2015 - 03 - 11) 摘要, 权利要求1-4</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2010261248 A1 (HANMI PHAM CO LTD) 2010年 10月 14日 (2010 - 10 - 14) 摘要, 权利要求1-11</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>陈沁韵 等. "IgG-Fc融合蛋白的研究进展" 中国生物制品学杂志, 第28卷, 第11期, 2015年 11月 30日 (2015 - 11 - 30), 第1223-1227页, 参见摘要, 第1226页左栏倒数第1段</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>Qing-Tong Wang 等. "Effect of rhTACI-Ig fusion protein on antigen-specific T cell responses from keyhole limpet haemocyanin challenged mice" Molecular Immunology, 第49卷, 第1-2期, 2011年 10月 2日 (2011 - 10 - 02), 第380-386页, 参见摘要</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	US 2019225673 A1 (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 2019年 7月 25日 (2019 - 07 - 25) 摘要, 权利要求1-33	1-10	Y	CN 104403004 A (DINGFU BIOTARGET CO LTD) 2015年 3月 11日 (2015 - 03 - 11) 摘要, 权利要求1-4	1-10	Y	US 2010261248 A1 (HANMI PHAM CO LTD) 2010年 10月 14日 (2010 - 10 - 14) 摘要, 权利要求1-11	1-10	Y	陈沁韵 等. "IgG-Fc融合蛋白的研究进展" 中国生物制品学杂志, 第28卷, 第11期, 2015年 11月 30日 (2015 - 11 - 30), 第1223-1227页, 参见摘要, 第1226页左栏倒数第1段	1-10	Y	Qing-Tong Wang 等. "Effect of rhTACI-Ig fusion protein on antigen-specific T cell responses from keyhole limpet haemocyanin challenged mice" Molecular Immunology, 第49卷, 第1-2期, 2011年 10月 2日 (2011 - 10 - 02), 第380-386页, 参见摘要	1-10
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
Y	US 2019225673 A1 (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 2019年 7月 25日 (2019 - 07 - 25) 摘要, 权利要求1-33	1-10																		
Y	CN 104403004 A (DINGFU BIOTARGET CO LTD) 2015年 3月 11日 (2015 - 03 - 11) 摘要, 权利要求1-4	1-10																		
Y	US 2010261248 A1 (HANMI PHAM CO LTD) 2010年 10月 14日 (2010 - 10 - 14) 摘要, 权利要求1-11	1-10																		
Y	陈沁韵 等. "IgG-Fc融合蛋白的研究进展" 中国生物制品学杂志, 第28卷, 第11期, 2015年 11月 30日 (2015 - 11 - 30), 第1223-1227页, 参见摘要, 第1226页左栏倒数第1段	1-10																		
Y	Qing-Tong Wang 等. "Effect of rhTACI-Ig fusion protein on antigen-specific T cell responses from keyhole limpet haemocyanin challenged mice" Molecular Immunology, 第49卷, 第1-2期, 2011年 10月 2日 (2011 - 10 - 02), 第380-386页, 参见摘要	1-10																		
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																				
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的 公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体 说明的)</p> <p>"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解 发明之理论或原理的在后文件</p> <p>"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是 新颖的或不具有创造性</p> <p>"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并 且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发 明不具有创造性</p> <p>"&" 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2021年 9月 29日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2021年 10月 11日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>杜娟</p> <p>电话号码 01062411561</p>																		

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a. 作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
 - 纸件或图形文件形式
- b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))
 - 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)
2. 另外,在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下,提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。
3. 补充意见:

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/103931

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	2019225673	A1	2019年 7月 25日	EP	3519436	A4	2020年 9月 9日
				CA	3038552	A1	2018年 4月 5日
				WO	2018064611	A1	2018年 4月 5日
				AU	2017337073	A1	2019年 4月 18日
				JP	2019529499	A	2019年 10月 17日
				EP	3519436	A1	2019年 8月 7日
<hr/>							
CN	104403004	A	2015年 3月 11日	CN	104403004	B	2017年 10月 13日
				ES	2752248	T3	2020年 4月 3日
				WO	2016082677	A1	2016年 6月 2日
				EP	3227342	A4	2018年 4月 11日
				JP	6851314	B2	2021年 3月 31日
				DK	3227342	T3	2019年 10月 14日
				JP	2018502147	A	2018年 1月 25日
				CN	107001485	A	2017年 8月 1日
				HR	P20191807	T1	2019年 12月 27日
				EP	3227342	B1	2019年 9月 18日
				US	2017340708	A1	2017年 11月 30日
				US	2020069773	A1	2020年 3月 5日
				JP	6851314	B6	2021年 4月 21日
				EP	3227342	A1	2017年 10月 11日
				US	10471124	B2	2019年 11月 12日
<hr/>							
US	2010261248	A1	2010年 10月 14日	US	8110665	B2	2012年 2月 7日