

一种含有阳离子脂质的药物组合物及其用途

技术领域

本公开属于医药领域，涉及制备一种含有阳离子脂质的药物组合物及其用途。

背景技术

基于核酸类的药物，例如信使 RNA (mRNA)、反义寡核苷酸、小干扰 RNA (siRNA)、质粒等具有广阔的应用前景，如何安全有效地递送到体内靶器官和靶细胞是制约该技术发展的难题。

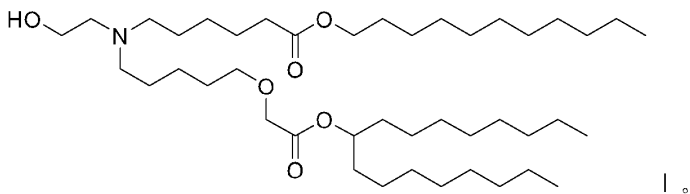
目前核酸药物递送载体可分为病毒载体和非病毒载体两大类，脂质纳米颗粒介导的核酸药物递送是属于非病毒递送载体的主要方法。

在基因治疗和疫苗应用中，脂质纳米颗粒已经被证明是治疗各种疾病的核酸的优良载体。由阳离子脂质和其他辅助脂质，例如胆固醇、磷脂和 PEG 化的脂质形成的脂质纳米颗粒包封核酸，保护核酸免于降解并且促进细胞摄取，降低免疫反应。另外，脂质纳米颗粒进行生物活性成分的细胞传递具有其他优点，如靶向性好、副作用小、稳定性好和转染效率较高等。

尽管脂质纳米颗粒已经展示递送的优势，但安全性、功效和特异性仍有待改良。仍需要开发有助于将治疗剂和/或预防剂如核酸递送至细胞的改进的阳离子脂质组合物。

发明内容

本公开提供了一种药物组合物，其包含载体，所述载体包含有阳离子脂质，所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐，阳离子脂质与载体摩尔百分比大于等于 10%，且小于 50%，



在一些实施方案中，药物组合物中阳离子脂质占载体摩尔量的 15~49%，包括但不限于 15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%或任意两数之间的值。

在一些实施方案中，药物组合物中阳离子脂质占载体摩尔量的 42~49%。

在一些实施方案中，药物组合物中阳离子脂质占载体摩尔量的 45%。

在一些实施方案中，药物组合物中阳离子脂质占载体摩尔量的 46%。

在一些实施方案中，药物组合物中阳离子脂质占载体摩尔量的 47%。

在一些实施方案中，药物组合物中阳离子脂质占载体摩尔量的 48%。

在一些实施方案中，药物组合物中阳离子脂质占载体摩尔量的 49%。

在另一些实施方案中，药物组合物中所述载体还含有非阳离子脂质，所述非阳
5 离子脂质选自磷脂、胆固醇或其衍生物的中至少一种。

在一些实施方案中，药物组合物中非阳离子脂质选自磷脂与胆固醇或其衍生物
的混合物。

一些实施方案中提供的药物组合物中磷脂的含量占载体摩尔量的 5~40%，包
括但不限于 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、
10 17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、
30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%或任意两数之
间的值。

在一些实施方案中，药物组合物中磷脂的含量占载体摩尔量的 15%。

在一些实施方案中，药物组合物中磷脂的含量占载体摩尔量的 20%。

15 在一些实施方案中，药物组合物中磷脂的含量占载体摩尔量的 10~20%。

在一些实施方案中，药物组合物中磷脂的含量占载体摩尔量的 10%。

另一些实施方案中提供的药物组合物中磷脂选自 1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷
酸胆碱(DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二油酰基-sn-甘
油-3-磷酸胆碱(DOPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-二硬脂酰
基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DUPC)、1-棕
20 榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-二-O-十八碳烯基-sn-甘油-3-磷酸
胆碱(18:0 Diether PC)、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱
(OChemPC)、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)、1,2-二亚麻酰基-sn-甘
油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基
-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二植烷酰基
-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-
25 二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二
花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙
醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘
30 油(DPPG)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰-乙醇胺
(DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺(DMPE)、1-
硬脂酰基-2-油酰基-硬脂酰乙醇胺(SOPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱
(SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂
酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)以及
35 其混合物。

在一些实施方案中，药物组合物中磷脂为 1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱

(DSPC)。

在一些实施方案中，药物组合物中磷脂为 1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺 (DOPE)。

另一方面，本公开药物组合物中胆固醇或其衍生物占载体摩尔量的 30~60%，
5 包括但不限于 30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、
41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、
54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%或任意两数之间的值。

在一些实施方案中，药物组合物中胆固醇或其衍生物含量占载体摩尔量的
35~45%。

10 在一些实施方案中，药物组合物中胆固醇或其衍生物含量占载体摩尔量的
40.5%。

在一些实施方案中，药物组合物中胆固醇或其衍生物含量占载体摩尔量的
45%。

在另一些实施方案中，胆固醇衍生物包括但不限于谷固醇、麦角固醇、菜油固
15 醇、豆固醇、菜籽固醇、番茄碱、熊果酸。

在一些实施方案中，药物组合物中非阳离子脂质占载体摩尔量的 35~70%，包
括但不限于 35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、
46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、
59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%或任意
20 两数之间的值。

在一些实施方案中，药物组合物中非阳离子脂质占载体摩尔量的 50~65%。

在一些实施方案中，药物组合物中非阳离子脂质占载体摩尔量的 40~55%。

在一些实施方案中，药物组合物中非阳离子脂质占载体摩尔量的 55~62%。

另一方面，本公开药物组合物中胆固醇或其衍生物与磷脂的摩尔比为 1.0~5.0，
25 包括但不限于 1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、
2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、
3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0 或任意两数之间的值。

在一些实施方案中，药物组合物中胆固醇或其衍生物与磷脂的摩尔比 2.0~5.0。

另一方面，本公开所述药物组合物中载体还含有缀合脂质，所述缀合脂质包括
30 但不限于 PEG 修饰的磷脂酰乙醇胺、PEG 修饰的磷脂酸、PEG 修饰的神经酰胺、
PEG 修饰的二烷基胺、PEG 修饰的二酰基甘油、PEG 修饰的二烷基甘油。

在一些实施方案中，所述药物组合物中缀合脂质选自二硬脂酰基磷脂酰乙醇
胺聚乙二醇 2000 (DSPE-PEG2000)，二肉豆蔻酰甘油-3-甲氧基聚乙二醇 2000
(DMG-PEG2000) 和甲氧基聚乙二醇双十四烷基乙酰胺 (ALC-0159)。

35 在一些实施方案中，所述药物组合物中缀合脂质选自二肉豆蔻酰甘油-3-甲氧
基聚乙二醇 2000。

在一些实施方案中，所述药物组合物中缀合脂质选自二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺聚乙二醇 2000。

在一些实施方案中，缀合脂质起抑制载体（颗粒）聚集。在一些实施方案中，药物组合物中缀合脂质的含量占载体摩尔量的 0.5~4%，包括但不限于 0.5%、0.6%、
5 0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、1.2%、1.4%、1.6%、1.8%、2.0%、2.2%、2.4%、2.6%、2.8%、3.0%、3.2%、3.4%、3.6%、3.8%、4.0%或任意两数之间的值。

在一些实施方案中，药物组合物中缀合脂质的含量占载体摩尔量的 0.5~1.0%。
在一些实施方案中，药物组合物中缀合脂质的含量占载体摩尔量的 1.5~2.5%。
在一些实施方案中，药物组合物中缀合脂质的含量占载体摩尔量的 1~2%。
10 在一些实施方案中，药物组合物中缀合脂质的含量占载体摩尔量的 1.5%。
在一些实施方案中，药物组合物中缀合脂质的含量占载体摩尔量的 2.0%。

本公开药物组合物中还含有活性剂，所述活性剂选自核酸，包括核糖核酸或脱氧核糖核酸。

在一些实施方案中，所述活性剂选自小干扰 RNA(siRNA)、微 RNA(miRNA)、
15 小发夹 RNA(shRNA)、信使 RNA(mRNA)、环状 RNA、自复制 RNA 中的任一或其任意组合。

在一些实施方案中，所述活性剂选自 mRNA。
在一些实施方案中，所述 mRNA 包含 ORF，所述 ORF 表达蛋白或多肽。
在一些实施方案中，所述 mRNA 编码蛋白或多肽。
20 在一些实施方案中，所述 mRNA 编码抗原。
在一些实施方案中，所述 mRNA 编码蛋白或多肽源自传染因子，或为传染因子抗原。

在一些实施方案中，所述蛋白或多肽为病毒抗原和/或细菌抗原。
在一些实施方案中，所述病毒选自腺病毒、疱疹病毒(例如，I 型单纯疱疹病毒、
25 II 型单纯疱疹病毒 8 型人疱疹病毒)、脑炎病毒、乳头瘤病毒、水痘带状疱疹病毒 (VZV)、爱泼斯坦-巴尔病毒、人巨细胞病毒、人乳头瘤病毒、BK 病毒、JC 病毒、天花、脊髓灰质炎病毒、肝炎病毒(例如，甲型、乙型、丙型、丁型或戊型肝炎病毒)、人博卡病毒、细小病毒(例如，B19)、人星状病毒、诺沃克病毒、柯萨奇病毒、鼻病毒、严重急性呼吸道综合征病毒、黄热病毒、登革热病毒、西尼罗病毒、风疹
30 病毒、人免疫缺陷病毒(HIV)、甲型或乙型流感病毒、瓜纳里托病毒、胡宁病毒、拉沙病毒、马丘波病毒、萨比亚病毒、克里米亚-刚果出血热病毒、埃博拉病毒、马尔堡病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒(RSV)、人偏肺病毒、亨德拉病毒、尼帕病毒、狂犬病病毒、轮状病毒、环状病毒、科罗拉多壁虱热病毒、汉坦病毒、中东呼吸道冠状病毒、基孔肯亚病毒或版纳病毒。

35 在一些实施方案中，所述病毒选自流感病毒(例如甲型流感病毒、乙型流感病毒)、冠状病毒或其组合。例如，所述冠状病毒为 SARS-COV-2；所述冠状病毒抗

原为刺突蛋白；所述刺突蛋白选自 SARS-COV-2、SARS-COV-2 Alpha、SARS-COV-2 Beta、SARS-COV-2 Gamma、SARS-COV-2 Kappa、SARS-COV-2 Delta 或 SARS-COV-2 Omicron 任一病毒株的刺突蛋白。例如，所述流感病毒选自 A 型流感病毒或 B 型流感病毒；所述流感病毒抗原为血凝素蛋白(HA)和/或神经氨酸酶(NA)；所述流感病毒抗原选自 A 型流感病毒 H1N1、A 型流感病毒 H3N2、B 型流感病毒 Victoria、B 型流感病毒 Yamagata 任一病毒株的血凝素蛋白和/或神经氨酸酶。

在一些实施方案中，所述病毒为 RSV。例如，所述 RSV 抗原为 RSV 附着蛋白(G)或其免疫原性片段、RSV 融合(F)糖蛋白或其免疫原性片段，或其组合；例如，所述 RSV 抗原为融合前糖蛋白 F。此处全文引入 WO2017070622A 中的 RSV 抗原性多肽或其免疫原性片段及其序列，WO2014160463A、WO2012158613A、WO2017109629A、WO2017172890A 中的融合前糖蛋白 F 及其序列。

在一些实施方案中，所述病毒为 VZV。例如，所述 VZV 抗原为 VZV 糖蛋白。例如，VZV 糖蛋白可以是 VZV gE、gI、gB、gH、gK、gL、gC、gN 或 gM 多肽或其免疫原性片段或表位。在一些实施方案中，所述 VZV 糖蛋白是 VZV gE 蛋白，例如野生型 VZV gE 蛋白或其截短体、片段、突变体。在一些实施方案中，所述野生型 VZV gE 蛋白来自 Oka 毒株。在一些实施方案中，野生型 VZV gE 蛋白包含(或为) SEQ ID NO:1 所示氨基酸序列和/或包含(或为) SEQ ID NO:2 所示核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述截短体可以是任何截短多肽，例如包括氨基酸 1 至 200、1 至 250、1 至 300、1 至 350、1 至 400、1 至 450、1 至 500、1 至 540、1 至 544、1 至 545、1 至 546、1 至 550、1 至 560、1 至 561、1 至 570、1 至 573、1 至 574、1 至 575 的截短 VZV gE 多肽。在一些实施方案中，所述 VZV gE 蛋白进一步包含 Y569A 点突变。此处全文引入 WO2017070601A 中的 VZV 抗原性多肽及其序列。

在一些实施方案中，所述截短体的氨基酸序列为野生型 gE 蛋白的第 1-544、1-546、1-561 或 1-574 位氨基酸。在一些实施方案中，所述截短体的氨基酸序列为在野生型 gE 蛋白的第 1-574 位氨基酸的基础上，包含 Y569A 突变。

在一些实施方案中，所述 VZV gE 蛋白的氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:25 中任一项所示或与之具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述编码 VZV gE 蛋白的开放阅读框的核苷酸序列如 SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:8 中任一项所示或与之具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性的核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述蛋白或多肽选自果糖二磷酸醛缩酶 A(ALDOA)、 α -甲基酰基-辅酶 A 消旋酶(AMACR)、血清淀粉样蛋白 P 成分(APCS)、血管生成素 1(ANGPT1)、载脂蛋白 A-I(APOA1)Milano、载脂蛋白 A-I(APOA1)Paris、载脂蛋白

A-I(APOA1)、精氨酸琥珀酸裂解酶(ASL)、artemin(ARTN)、芳基硫酸酯酶 B(ARSB)、杀菌/通透性增加蛋白(rBPI-21)、骨形态发生蛋白 2(BMP2)、骨形态发生蛋白 7(BMP7)、支链酮酸脱氢酶 E1 α 多肽(BCKDHA)、集落刺激因子 2(粒细胞-巨噬细胞)(GM-CSF)、集落刺激因子 3(粒细胞)(GCSF)、脱氧核糖核酸酶 I(DNA 酶 1)、促红细胞生成素(EPO)、IX 因子、VII 因子、XI 因子、纤维蛋白原 A(FGA)、成纤维细胞生长因子 18(FGF18)、成纤维细胞生长因子 23(FGF23)、成纤维细胞生长因子 7(FGF7 或 KGF)、卵泡抑素(FST)、延胡索酰乙酰乙酸水解酶(延胡索酰乙酰乙酸酶)(FAH)、半乳糖激酶 1(GALK1)、半乳糖苷酶 α (GLA)、葡聚糖(1,4- α -)分支酶 1(GBE1)、糖蛋白激素 α 多肽(CGA 或 FSH- α)、血红蛋白 β (HBB)、肝细胞生长因子(HGF)、人生长激素(hGH)、门冬胰岛素、甘精胰岛素、谷赖胰岛素、赖脯胰岛素、干扰素 β (IFNB)、干扰素 α 2(IFNA2)、白细胞介素 10(IL-10)、白细胞介素 15(IL-15)、白细胞介素 7(IL-7)、klotho(KL)、卵磷脂-胆固醇酰基转移酶(LCAT)、溶酶体酸性脂肪酶 A 胆固醇酯酶(LIPA)、脂蛋白脂肪酶(LPL)、低密度脂蛋白受体(LDLR)、甘露糖苷酶 α 2B 类成员 1(MAN2B1)、微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)、N-乙酰谷氨酸合成酶(NAGS)、神经调节蛋白 1(NRG1)、鸟氨酸氨甲酰基转移酶(OTC)、磷酸化酶激酶 α 2(肝脏)(PHKA2)、纤溶酶原(PLAT)、胞裂蛋白 4(ARTS 或 SEPT4)、serpin 肽酶抑制剂分化体 C(抗凝血酶)成员 1(SERPINC1)、serpin 肽酶抑制剂分化体 F(α -2 抗纤维蛋白溶酶色素上皮衍生因子)成员 2(SERPINF2)、sirtuin 1(SIRT1)、sirtuin 6(SIRT6)、溶质载体家族 16 成员 3(单羧酸转运蛋白 4)(SLC16A3)、溶质载体家族 2(易化葡萄糖转运蛋白)成员 1(SLC2A1 或 GLUT1)、分拣蛋白 1(SORT1)、血小板生成素(THPO)、转化生长因子 β (TGFB1)、釉丛蛋白 1(TUFT1)、肿瘤蛋白 p53(TP53)、酪氨酸酶(TYR)、UDP 葡萄糖苷酰转移酶 1 家族多肽 A1(UGT1A1)、血管内皮生长因子(VEGF)和 X 连锁细胞凋亡抑制剂(XIAP), 或其任意组合。此处全文引入 WO2013151736A 中 mRNA 编码目标多肽及其序列。

25 在一些实施方案中,所述蛋白或多肽为癌抗原。所述癌抗原包括但不限于:一种或多种传统癌抗原或受试者特异性癌抗原(包括编码一种或多种已知的为肿瘤所特有的癌抗原或为各受试者所特有的癌抗原的 RNA,所述癌抗原被称为新表位或受试者特异性表位或抗原)。在一些具体实施方案中,所述癌抗原是受试者特异性癌抗原。在一些具体实施方案中,受试者特异性癌抗原可代表受试者的肿瘤样品的外显子组,或代表受试者的肿瘤样品的转录物组。在一些实施方案中,受试者特异性癌抗原可代表受试者的外来体。此处全文引入 WO2012159754A 和 WO2017070618A 中所描述的受试者特异性癌抗原及其鉴定方法。在一些具体实施方案中,所述癌抗原传统癌抗原。在一些实施方案中,传统癌抗原是非突变抗原。在一些具体实施方案中,传统癌抗原是突变抗原。例如,癌抗原可以是癌胚抗原、 α 1-胎蛋白、异铁蛋白和胎儿磺基糖蛋白(fetal sulphoglycoprotein)、 α 2-H-铁蛋白以及 γ -胎蛋白。

在一些实施方案中，所述蛋白或多肽为抗体或其抗原结合片段。例如，抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段。一些具体实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段例如为骆驼抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人抗体或其抗原结合片段。一些具体实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段例如为重组抗体或其片段。一些具体实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段为线性抗体、单链抗体、纳米抗体、肽抗体 peptibody、结构域抗体和多特异性抗体(双特异性抗体、diabody、triabody 和 tetraabody、串联二-scFv、串联三-scFv)。

在一些实施方案中，所述 mRNA 包含：

- (a) 开放阅读框(ORF)，
- (b) 非翻译区元件(UTR)，
- (c) 多聚腺苷酸(poly-A)尾；

其中，(b) 非翻译区元件(UTR)可包含(b1) 5'UTR 和/或(b2) 3'UTR；

其中，(b) 非翻译区元件(UTR)、(c) 多聚腺苷酸(poly-A)尾可同时存在，同时不存在，或则一存在。

在一些实施方案中，所述 mRNA 还包含 5'Cap 结构。

在一些实施方案中，从 5'至 3'方向上，如上任一项所述的 RNA 分子含有 i)-v) 中任一：

- i) 5'UTR，和开放阅读框(ORF)；
 - ii) 开放阅读框(ORF)，和 3'UTR；
 - iii) 5'UTR，开放阅读框(ORF)，和 3'UTR；
 - iv) 5'UTR，开放阅读框(ORF)，3'UTR，和 poly-A 尾巴；
 - v) 5'帽结构(5'Cap)，5'UTR，开放阅读框(ORF)，3'UTR，和 poly-A 尾巴；
- 其中所述 ORF 与所述 5'UTR 和/或所述 3'UTR 源自相同和/或不同的基因。

在一些实施方案中，所述 5'UTR 选自 β -珠蛋白 5'UTR、含有强 Kozak 翻译起始信号的 5'UTR、细胞色素 b-245 α 多肽(CYBA)5'UTR、羟基类固醇(17- β)脱氢酶(HSD17B4)5'UTR、烟草蚀纹病毒(TEV)5'UTR、热休克蛋白 70(Hsp70)5'UTR、eIF4G 5'UTR、ACTG1 5'UTR、CTSB 5'UTR 或 ARHGAP15 基因的 5'UTR。一些实施方案中，其中所述的 5'UTR 是源自或为 ACTG1 或 ARHGAP15 基因的 5'UTR 序列或其衍生序列。在一些实施方案中，所述 ARHGAP15 基因是来源任意物种的，如人类 ARHGAP15、狒狒 ARHGAP15、小鼠 ARHGAP15 等。

一些实施方案中，其中所述的 5'UTR 是源自或为人类 ARHGAP15 基因的 5'UTR 序列或其衍生序列。一些实施方案中，所述的 ARHGAP15 基因的 5'UTR 包含或为如 SEQ ID NO: 9 所示的核苷酸序列或与之具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、100%同一性的核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述 3'UTR 选自 α -珠蛋白 3'UTR、 β -珠蛋白(hemoglobin subunit beta, HBB)3'UTR、 β -肌动蛋白 3'UTR、CYBA 3'UTR、白蛋白 3'UTR、生

长激素(GH)3'UTR、VEEV 3'UTR、乙型肝炎病毒(HBV)3'UTR、ACTG1 3'UTR、CTSB 3'UTR 或 ARHGAP15 基因的 3'UTR。

一些实施方案中，其中所述的 3'UTR 是源自或为 HBB、CTSB 或 ARHGAP15 基因的 3'UTR 序列或其衍生序列。

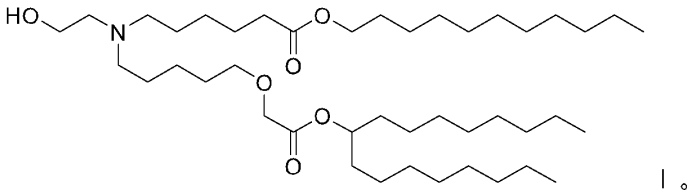
5 一些实施方案中，所述 3'UTR 包含或为如 SEQ ID NO: 10 所示的核苷酸序列或与之具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、100%同一性的核苷酸序列。在一些实施方案中，所述 poly-A 尾选自 A120、A30L70、HGH polyA、SV40polyA、BGH polyA、rbGlob polyA 或 SV40late polyA。

一些具体实施方案中，所述 poly-A 尾巴选自 120A 或 A30L70，所述 A30L70 10 的序列如 SEQ ID NO:11 所示，所述 120A 的序列如 SEQ ID NO:12 所示。

一些具体实施方案中，所述 RNA 分子的核苷酸序列如 SEQ ID NO:13- SEQ ID NO:20 中任一项所示。在一些实施方案中，所述 mRNA 包含经修饰的核苷酸或核苷。所述经修饰的核苷酸和核苷可为天然存在的经修饰的核苷酸和核苷或非天然存在的经修饰的核苷酸和核苷。所述修饰可包括如本领域中公认的在核苷酸和/或 15 核苷的糖、主链或核碱基部分的那些修饰。在一些具体实施方案中，所述 mRNA 中经修饰的核碱基包含 1-甲基-假尿苷(m1ψ)、1-乙基-假尿苷(e1ψ)、5-甲氧基-尿苷(mo5U)、5-甲基-胞苷(m5C)和/或假尿苷(ψ)。在一些具体实施方案中，所述 mRNA 中的经修饰的核碱基包含 5-甲氧基甲基尿苷、5-甲硫基尿苷、1-甲氧基甲基假尿苷、5-甲基胞苷和/或 5-甲氧基胞苷。在一些具体实施方案中，所述 mRNA 包括至少两 20 种(例如，2、3、4 种或更多种)任何上文所提及的经修饰的核碱基的组合，包括但不限于化学修饰。

在一些具体实施方案中，所述 5'Cap 结构位于 5'UTR 的上游，例如，位于 5'UTR 的 5'末端。在一些具体实施方案中，5'帽结构是本领域技术人员已知的帽结构，如 25 Cap0(第一个核碱基的甲基化，例如 m7GpppN)、Cap1(m7GpppN 的相邻核苷酸的核糖的额外甲基化，例如 m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG)、Cap2(m7GpppN 下游第 3 个核苷酸的核糖的额外甲基化)、Cap3(m7GpppN 下游第 3 个核苷酸的核糖的额外甲基化)、Cap4(m7GpppN 下游第 4 个核苷酸的核糖的额外甲基化)、ARCA(抗反向帽类似物)、修饰的 ARCA(例如，硫代磷酸酯修饰的 ARCA)、肌苷、N1-甲基-鸟苷、2'-氟代-鸟苷、7-脱氮-鸟苷、8-氧代-鸟苷、2-氨基-鸟苷、LNA-鸟苷和 2-叠氮基-鸟 30 苷。

在一些实施方案中，所述药物组合物含有：阳离子脂质，所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐，所述阳离子脂质与载体的摩尔百分比 40-49%，

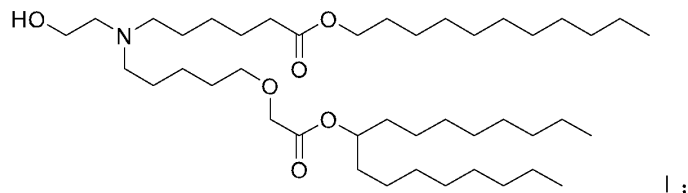


I。

在一些实施方案中，所述药物组合物含有：

a) 活性剂；

b) 阳离子脂质，所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐，所述阳离子脂质与载体摩尔百分比大于等于 10%，且小于 50%，



5

c) 非阳离子脂质，所述非阳离子脂质选自磷脂和胆固醇或其衍生物，其中所述磷脂占载体摩尔量的 5~40%，所述胆固醇或其衍生物占载体摩尔量的 30~60%；

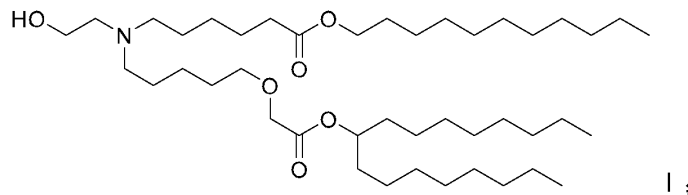
和 d) 缀合脂质，所述缀合物占载体摩尔量的 0.5~4%。

在一些实施方案中，所述药物组合物含有：

10

a) 活性剂，所述活性剂包含 mRNA；

b) 阳离子脂质，所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐，所述阳离子脂质与载体摩尔百分比大于等于 10%，且小于 50%，



15

c) 非阳离子脂质，所述非阳离子脂质选自磷脂 DSPC 和胆固醇，其中所述磷脂 DSPC 占载体摩尔量的 5~40%，所述胆固醇占载体摩尔量的 30~60%；

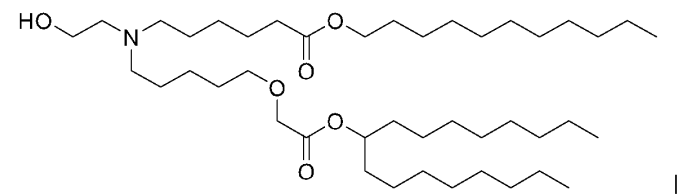
和 d) 缀合脂质，所述缀合物占载体摩尔量的 0.5~4%。

在一些实施方案中，所述药物组合物含有：

a) 活性剂，所述活性剂包含 mRNA；

20

b) 阳离子脂质，所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐，所述阳离子脂质与载体的摩尔百分比大于等于 10%，且小于 50%，



25

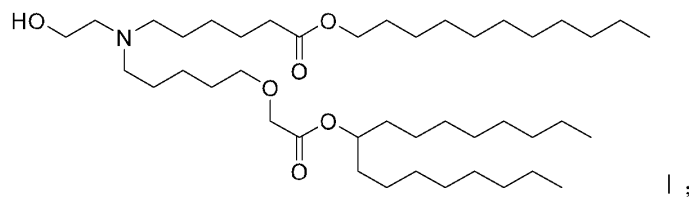
c) 非阳离子脂质，所述非阳离子脂质选自磷脂 DSPC 和胆固醇，其中所述磷脂 DSPC 占载体摩尔量的 5~40%，所述胆固醇占载体摩尔量的 30~60%；

和 d) 缀合脂质 DMG-PEG，所述缀合物占载体摩尔量的 0.5~2%。

在一些实施方案中，所述药物组合物含有：

a) 活性剂，所述活性剂包含 mRNA；

b) 阳离子脂质, 所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐, 所述阳离子脂质与载体的摩尔百分比 40-49%,



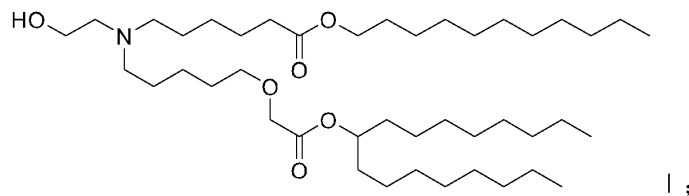
c) 非阳离子脂质, 所述非阳离子脂质选自磷脂 DSPC 和胆固醇, 其中所述磷脂 DSPC 占载体摩尔量的 10~15%, 所述胆固醇占载体摩尔量的 35~42%;

和 d) 缀合脂质 DMG-PEG, 所述缀合物占载体摩尔量的 1~2%。

在一些实施方案中, 所述药物组合物含有:

a) 活性剂, 所述活性剂包含 mRNA;

b) 阳离子脂质, 所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐, 所述阳离子脂质与载体的摩尔百分比 45~49%,



c) 非阳离子脂质, 所述非阳离子脂质选自磷脂 DSPC 和胆固醇, 其中所述磷脂 DSPC 占载体摩尔量的 10~15%, 所述胆固醇占载体摩尔量的 35~42%;

和 d) 缀合脂质 DMG-PEG, 所述缀合物占载体摩尔量的 1~2%。

另一方面, 本公开药物组合物为纳米颗粒制剂, 所述纳米颗粒制剂的平均粒径为 10nm~220nm。在一些实施方案, 所述纳米颗粒制剂的平均粒径为 100~150nm。在一些实施方案, 所述纳米颗粒制剂的平均粒径为 150~200nm。在一些实施方案, 所述纳米颗粒制剂的平均粒径为 80~160nm。在一些实施方案, 所述纳米颗粒制剂的平均粒径为 80~150nm。在一些实施方案, 所述纳米颗粒制剂的平均粒径为 70~160nm。

在一些实施方案中, 所述纳米颗粒平均粒径采用动态光散射法测定。

本公开还提供一种冻干制剂, 其由前述药物组合物经冷冻干燥获得。在一些实施方案中, 冷冻干燥包括冷冻步骤、初级干燥和二次干燥步骤。在一些实施方案中, 本公开冷冻干燥参照 CN107567497A 中方法进行, 并将相关内容引入本文以示说明。

本公开还提供一种复溶溶液, 其由前述冻干制剂经复溶的步骤获得, 其复溶所用溶剂为注射用水。

本公开还提供前述药物组合物、冻干制剂或复溶溶液的制备方法, 所述方法包括将阳离子脂质、非阳离子脂质和缀合脂质在有机溶剂中混合的步骤。在一些实施

方案中，所述有机溶剂选自乙醇。

在一些实施方案中，制备药物组合物的方法参照期刊文献(*Pharm. Res.* 22(2005) 362 – 372) 或 US9504651 中方法制备，并将相关内容引入本文中以示说明。

本公开还提供了前述药物组合物、冻干制剂或复溶溶液在制备用于在脊柱动物体内引起保护性免疫应答的药物中用途。

本公开还提供了前述药物组合物、冻干制剂或复溶溶液在制备用于在哺乳动物中治疗疾病或功能障碍的药物中用途。在一些实施方案中，所述疾病优选自病毒感染（如冠状病毒、流感病毒或 HIV 病毒引起的疾病）、肝疾病、癌症或疱疹。

术语

术语“脂质”是指一类有机化合物，其包括但不限于脂肪酸的酯，并且特征是在水中不溶，但是在许多有机溶剂中是可溶的。通常将它们分成至少三类：(1) “简单脂质”，其包括脂肪和油以及蜡；(2) “化合物脂质”，其包括磷脂和糖脂；和 (3) “衍生的脂质” 诸如类固醇。

术语“阳离子脂质”指在选定的 pH 值，诸如生理 pH 值(例如，pH 为约 7.0) 下携带净正电荷的许多脂质物种中的任何一种。

术语“阴离子脂质”指在生理 pH 值下带负电荷的任何脂质。这些脂质包括，但不限于，磷脂酰甘油、心磷脂、二酰磷脂酰丝氨酸、二酰磷脂酸、N-十二酰磷脂酰乙醇胺、N-琥珀酰磷脂酰乙醇胺、N-戊二酰磷脂酰乙醇胺、赖氨酰磷脂酰甘油、棕榈酰油酰磷脂酰甘油(POPG)，和其它与中性脂质连接的阴离子修饰基团。

术语“中性脂质”指在选定的 pH 值下以不带电荷或中性两性离子形式存在的许多脂质物种中的任何一种。在生理 pH 值下，这样的脂质包括，例如，二酰磷脂酰胆碱、二酰磷脂酰乙醇胺、神经酰胺、鞘磷脂、脑磷脂、胆固醇、脑苷脂和二酰甘油。

术语“两亲性脂质”部分地指任何适合的材料，其中脂质材料的疏水部分定向到疏水相中，而亲水部分定向到水相。亲水性质来自极性或带电基团诸如糖类、磷酸根、羧基、硫酸根、氨基、巯基、硝基、羟基和其它类似基团的存在。疏水性可以通过包含非极性基团而赋予，所述基团包括但不限于长链饱和和不饱和脂族烃基和由一个或多个芳族、脂环族或杂环基团取代的这样的基团。两亲性化合物的实例包括但不限于磷脂、氨基脂和鞘脂类。

术语“非阳离子脂质”指任何两亲性脂质以及任何其他中性脂质或阴离子脂质。

术语“缀合脂质”指抑制脂质颗粒聚集的结合脂质。所述缀合脂质包括，但不限于 PEG 修饰的磷脂酰乙醇胺、PEG 修饰的磷脂酸、PEG 修饰的神经酰胺、PEG 修饰的二烷基胺、PEG 修饰的二酰基甘油、PEG 修饰的二烷基甘油。

术语“哺乳动物”指任何哺乳动物物种诸如人、小鼠、大鼠、狗、猫、仓鼠、豚鼠、兔、家畜等。

“活性剂”是指当对受试者施用时具有治疗、诊断和/或预防作用和/或引起所需的生物学和/或药理学作用的任何药剂。活性剂也被称为“活性物质”或“治疗剂”。这类药剂包括但不限于细胞毒素、放射性离子、化疗剂、小分子药物、蛋白质和核酸。

5 术语“核酸”用于本文中时，指含有处于单链或双链形式的至少两个脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸的聚合物，包括 DNA 和 RNA。如本文所用的术语“核酸分子”与“核酸”和“多核苷酸”同义。DNA 可以采用下列形式：例如，反义分子、质粒 DNA、预浓缩 DNA、PCR 产物、载体(P1, PAC, BAC, YAC, 人工染色体)、表达盒、嵌合序列、染色体 DNA、或这些组的衍生物和组合。RNA 可以采用下列
10 形式：小干扰 RNA(siRNA)、微 RNA(miRNA)、小发夹 RNA(shRNA)、信使 RNA(mRNA)、环状 RNA、自复制 RNA。

“信使 RNA”(mRNA)指的是编码(至少一种)多肽(天然产生、非天然产生或改性的氨基酸聚合物)并且可通过转译以体外、体内或离体产生经过编码的多肽的任何多核苷酸。本领域技术人员将了解，除另外说明以外，本申请中所述的多核苷酸
15 序列将在代表性 DNA 序列中表示“T”，但其中所述序列表示 RNA(例如，mRNA)，“T”将被“U”取代。因此，由特定序列识别号码标识的 DNA 编码的任何 RNA 多核苷酸也可包含由所述 DNA 编码的相应 RNA(例如，mRNA)序列，其中所述 DNA 序列的每个“T”被“U”取代。mRNA 分子的基本组分通常包括至少一个编码区、5' 非翻译区(UTR)、3' UTR、5' 端帽和聚腺苷酸尾(聚-A 尾)。本发明的多
20 核苷酸可充当 mRNA，但在其功能性和/或结构设计特征方面区别于野生型 mRNA，所述特征用以使用基于核酸的处理来克服有效多肽表达的现有问题。

术语“抗原”涵盖将引发免疫应答的任何物质。特别是，“抗原”涉及任何物质，优选为与抗体或 T 淋巴细胞(T 细胞)特异性反应的肽或蛋白质。本公开中，术语“抗原”包括包含至少一个表位的任何分子。优选地，本文中抗原是这样的分子，
25 其(任选地在加工后)诱导优选地对抗原(包括表达该抗原的细胞)特异的免疫反应。本文中，可使用对于免疫反应而言为候选物的任何合适的抗原，其中所述免疫反应优选地为细胞免疫反应。在一些实施方案的情况下，抗原优选地被细胞、优选被抗原呈递细胞(包括病变细胞、特别是癌症细胞，在 MHC 分子的环境下)呈递，这导致针对该抗原的免疫反应。优选地，抗原是对应于或来源于天然抗原的产物。这种
30 天然抗原包括肿瘤抗原。

术语“癌抗原”与“肿瘤抗原”或“肿瘤相关抗原”通用，其能够刺激免疫应答，优选针对抗原或特征为表达该抗原以及优选地呈递该抗原之细胞(例如病变细胞，尤其是癌症细胞)的细胞应答。一些实施方案中，“癌抗原”在正常条件下在有限数目的组织和/或器官中或者在特定的发育阶段中特异性表达(例如，肿瘤抗原可在正常条件下在胃组织中(优选在胃粘膜中)、在生殖器官中(例如，在睾丸中)、在
35 滋养层组织(例如，在胎盘)或在生殖系细胞中特异性表达)，并且在一种或更多种肿

瘤或癌组织中表达或异常表达。一些实施方案中，“有限数目”是指不超过 3，例如不超过 2。

“多肽”、“蛋白”或“蛋白质”可互换使用，指氨基酸残基的聚合物，适用于天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。除非另外说明，否则特定的多肽序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体。

术语“水痘-带状疱疹病毒(VZV)”：是球形多层结构形式存在的 α 疱疹病毒，病毒基因体被覆盖有非晶形层被膜蛋白的蛋白衣壳结构包围。由病毒编码蛋白和酶组成的被膜位于核鞘与病毒包膜之间的空间，病毒包膜由宿主细胞膜获得并且含有病毒编码的糖蛋白。

术语“VZV 糖蛋白”，编码糖蛋白 gE、gI、gB、gH、gK、gL、gC、gN 和 gM 在病毒复制周期的不同步骤中起作用。在感染细胞中以及在成熟病毒粒子中发现最多的糖蛋白是糖蛋白 E(gE、ORF 68)，它是病毒粒子包膜的主要组分并且为病毒复制所必需。糖蛋白 I(gI，ORG 67)与 gE 在感染细胞中形成复合物，这有利于糖蛋白的胞吞作用并且将其引导至反式高基氏体网络(TGN)，在此获得最终的病毒包膜。在 TGN 中需要糖蛋白 I(gI)进行 VZV 包膜并且在 VZV 复制期间进行有效膜融合。发现 VZV gE 和 gI 在感染宿主细胞表面上复合在一起。作为第二普遍的糖蛋白并且认为在病毒入口中发挥作用的糖蛋白 B(ORF 31)与中和抗体结合。认为糖蛋白 H 具有融合功能，促使病毒在细胞和细胞之间传播。gE、gB 和 gH 的抗体在天然感染之后而且在疫苗接种后普遍存在，并且已证实在体外中和病毒活性。示例性的 gE 蛋白的氨基酸序列为本公开的 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:25 中任一项所示。

术语野生型 VZV gE 蛋白的“突变体”、VZV gE 蛋白的“突变体”、“VZV gE 蛋白突变体”是指相对于野生型 VZV gE 蛋白展现引入的突变且具有针对野生型 VZV gE 蛋白的免疫原性的多肽。

术语“突变”是指与参照蛋白或多肽的氨基酸序列相比，蛋白或多肽的氨基酸序列中缺失、添加或取代氨基酸残基。在说明书和权利要求通篇中，在蛋白序列中的一个特定位置取代氨基酸使用注释“(野生型蛋白中的氨基酸残基)(氨基酸位置)(工程改造的蛋白中的氨基酸残基)”来提及。例如，注释 Y75A 是指参照蛋白的氨基酸序列的第 75 位的酪氨酸(Y)残基被丙氨酸(A)残基取代(在参照蛋白的突变体中)。在不同野生型序列间相同位置的氨基酸残基中存在变异的情况下，该注释中可省略位置编号之前的氨基酸代码，诸如“75A”。

“密码子优化”是指将目标序列中存在的在给定物种的高度表达的基因中一般罕见的密码子替换为在这类物种的高度表达的基因中一般常见的密码子，而替换前后的密码子编码相同的氨基酸。各种物种对特定氨基酸的某些密码子表现出特定的偏好。密码子偏好(生物体之间密码子使用的差异)通常与信使 RNA(mRNA)的翻译效率相关，继而认为所述信使 RNA 尤其取决于翻译的密码子的特性和具体

的转运 RNA(tRNA)分子的利用度。选择的 tRNA 在细胞中的优势通常是肽合成中最常使用的密码子的反映。因此,基于密码子优化,基因可以针对给定生物体中的最佳基因表达进行修改。因此,最佳密码子的选择取决于宿主基因组的密码子使用偏好。

5 如本领域中已知,术语“同一性”或“同源性”是指如通过对比序列所测定的两种或两种以上多肽或多核苷酸的序列之间的关系。在本领域中,同一性还意谓如由两个或两个以上氨基酸残基或核酸残基串之间的匹配数所测定的其间的序列相关程度。同一性测量两种或两种以上序列中具有由特定数学模型或计算机程序(例如,“算法”)提出之间隙比对(如果存在)的较小者之间的一致匹配百分比。“同一性%”在适用于多肽或多核苷酸序列时定义为在比对序列和必要时引入间隙以达成最大同一性百分比后,候选氨基酸或核酸序列中与第二序列的氨基酸序列或核酸序列中的残基一致的残基(氨基酸残基或核酸残基)百分比。用于比对的方法和计算机程序在本领域中熟知。应了解,同一性取决于同一性百分比的计算,但由于计算中引入之间隙和罚分而其值可不同。通常,如通过本文所述且本领域技术人员已知的序列比对程序和参数所测定,特定多核苷酸或多肽的变体与彼特定参考多核苷酸或多肽具有至少 40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、但小于 100% 的序列同一性。用于比对的此类工具包括 BLAST 试剂盒的那些工具(Stephen F.Altschul, 等人(1997), “GappedBLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs”, *Nucleic Acids Res.*25: 3389-3402)。另一种受欢迎的局部比对技术是基于 Smith-Waterman 算法(Smith, T.F.和 Waterman, M.S.(1981) “Identification of common molecular subsequences.” *J.Mol.Biol.*147: 195-197)。基于动态程序设计的通用全局比对技术为 Needleman-Wunsch 算法(Needleman, S.B.和 Wunsch, C.D.(1970) “A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequences of two proteins.” *J.Mol.Biol.*48: 443-453)。最近已研发出一种快速优化全局序列比对算法(Fast Optimal Global Sequence Alignment Algorithm, FOGSAA), 据称其比其他优化全局比对方法(包括 Needleman-Wunsch 算法)更快地产生对核苷酸和蛋白序列的全局比对。本文中描述其他工具,尤其在下文“同一性”的定义中。

30 术语“疫苗”涉及药物制备物(药物组合物)或产品,其在施用后诱导识别并攻击病原体(包括病毒或细菌)或病变细胞如癌症细胞的免疫应答,特别是细胞免疫应答。疫苗可用于预防或治疗疾病,例如用于预防病毒感染或治疗癌症。

术语“5'非翻译区元件”(5'UTR)指的是直接位于起始密码子(即,由核糖体翻译的 mRNA 转录物的第一密码子)上游(即,5')的不编码多肽的 mRNA 区域。

35 术语“3'非翻译区元件”(3'UTR)指的是直接位于终止密码子(即,表示转译终止的 mRNA 转录物的密码子)下游(即,3')的不编码多肽的 mRNA 区域。

术语“开放阅读框架”(ORF)是由起始密码子(例如,甲硫氨酸(ATG))开始并以终止密码子(例如,TAA、TAG或TGA)结束的DNA连续延伸段并且编码蛋白或多肽。

术语“聚腺苷酸(polyA)尾”是位于含有多个连续单磷酸腺苷的3'UTR下游,例如直接位于其下游(即3')的mRNA区域。聚腺苷酸尾可含有10至300个单磷酸腺苷。例如,聚腺苷酸尾可含有10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290或300个单磷酸腺苷。在一些实施方案中,聚腺苷酸尾含有50至250个单磷酸腺苷。在一种相关生物的情境中(例如,在细胞中、体内),聚(腺苷酸)尾用来保护mRNA以免酶促降解,例如在细胞质中,并且有助于转录终止和/或由核输出mRNA并转译。

本公开所述“平均粒径”(Z-average Size)例如“平均粒径小于2000 nm”是光强平均值,由不同种类粒子所贡献的光强计算而得。所述“平均粒径”可通过本领域技术人员熟知的常规粒度测量技术测量颗粒的平均粒径。这样的技术包括沉降场流分级,光子相关光谱,光散射等。

本公开多分散系数“PDI”(Polydispersity Index)体现了粒子粒径均一程度,是粒径表征的一个重要指数。

术语“混入”、“混合”表示的意思是无限定组分的加入顺序,例如将A混入B,可以表达A加入B的意思,也可以表达B加入A的意思,将A和B混合,可以表达A加入B混合的意思,也可以表达B加入A混合的意思。

本公开中数值为仪器测量值,存在一定程度的误差,一般而言,正负10%均属于合理误差范围内。当然需要考虑该数值所用之处的上下文,例如,活性成分的粒径,该数值为测量后误差变化不超过正负10%,可以为正负9%、正负8%、正负7%、正负6%、正负5%、正负4%、正负3%、正负2%或正负1%,优选正负5%。

本公开式I化合物参照WO2023125738中方法制备,并将相关内容本申请以示说明。

本公开用于测试的mRNA为荧光素酶mRNA。

附图说明

图1:脂质组合物1-15对应的脂质体纳米颗粒的体在HEK293细胞转染后的荧光素酶蛋白表达量。

图2:脂质组合物4℃粒径稳定性。

图3:脂质组合物25℃粒径稳定性。

图4:VZV mRNA体外活性表达检测。

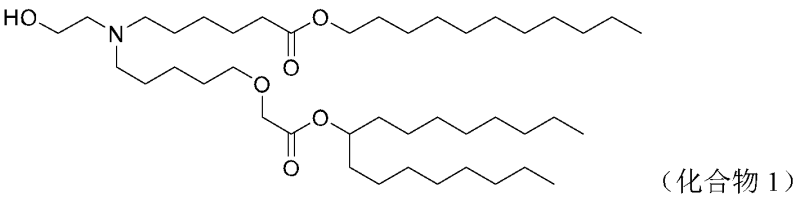
图5:血清anti-VZV gE IgG检测。

具体实施方式

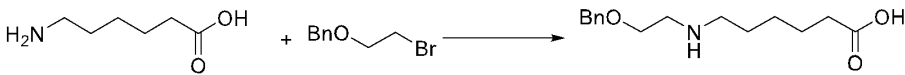
以下结合实施例进一步描述本公开中，但这些实施例并非限制本公开中的范围。

本公开中实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂，为市场购买的常规试剂。

实施例 1



步骤 1)



称取 6-氨基己酸(21.5 g, 100 mmol)溶于乙醇和水的混合液(EtOH/H₂O, v/v = 2 : 1, 200 mL), 加入 CsOH·H₂O(4.0 g, 100 mmol), 加入苄氧溴乙烷(13.1 g, 100 mmol), 室温反应 40 h, 浓缩除去绝大部分乙醇, 残留物直接反相柱层析 (乙腈/水/0.1%三氟乙酸), 直接浓缩, 抽干, 得到白色固体 5.6g, 收率: 21%。

15 MS: 266.2[M+H]⁺。

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.36 (s, 5H), 4.53 (s, 2H), 3.72 – 3.67 (m, 2H), 3.20 – 3.14 (m, 2H), 2.95 – 2.88 (m, 2H), 2.10 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.57 (dd, J = 15.3, 7.7 Hz, 2H), 1.47 (dd, J = 15.0, 7.5 Hz, 2H), 1.30 – 1.22 (m, 2H)。

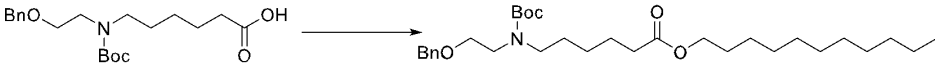
步骤 2)



称取 6-((2-(苄氧)乙基)氨基)己酸 (5.6 g, 21.1 mmol) 于反应瓶中, 加入 1,4-二氧六环 (80 mL), 氢氧化钠水溶液(42.2 mL, 1.0 M), 滴加 Boc₂O(5.5 g, 25.2 mmol), 室温反应 1h, LC-MS 显示反应完毕, 浓缩掉二氧六环, 水相用稀盐酸调 PH 至 5 左右, 乙酸乙酯萃取(50 mL*3), 合并有机相, 干燥, 浓缩, 得到近无色胶状物 7.2g, 收率 93%。直接用于下一步反应。

25 MS: 366.2[M+H]⁺。

步骤 3)

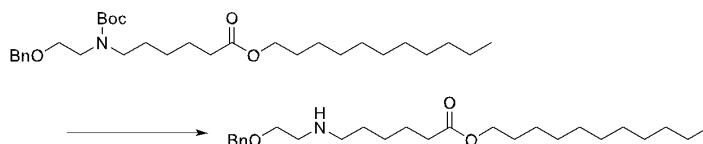


中，加二氯甲烷（150 mL），冰浴，依次加入十一醇（2.73 g, 15.9 mmol），DMAP（408 mg, 3.34 mmol）及 DIPEA（4.3 g, 33.4 mmol），加入 EDCI（3.84 g, 20.0 mmol），搅拌 10 分钟，撤冰浴，室温反应过夜，TLC 监测，反应完毕，向反应液加入水（100 mL），分液，有机相依次用稀盐酸洗，水洗，碳酸氢钠洗，干燥，浓缩，柱层析（PE:EtOAc = 20 : 1 ~ 10 : 1），得到近无色胶状物 6.8 g，收率 82%。

MS: 520.4[M+H]⁺。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30 – 7.20 (m, 5H), 4.44 (s, 2H), 3.98 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.51 (d, *J* = 18.6 Hz, 2H), 3.32 (d, *J* = 21.5 Hz, 2H), 3.16 (s, 2H), 2.21 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.55 (tt, *J* = 13.3, 6.8 Hz, 6H), 1.36 (d, *J* = 8.4 Hz, 9H), 1.21 (d, *J* = 15.5 Hz, 18H), 0.81 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H)。

步骤 4)

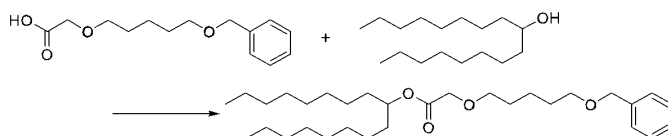


称取 6-((2-(苄氧)乙基)(叔丁氧羰基)氨基)己酸十一酯（7.6 g, 14.6 mmol）溶液二氯甲烷中，加入 TFA（20 mL），室温反应 2h，直接浓缩，残留物用二氯甲烷（100 mL）溶解，加入饱和碳酸氢钠（100 mL），分液，有机相干燥，浓缩，得到胶状物，再用二氯甲烷溶解，加入 HCl/dioxane（4.0 M, 4 mL），直接浓缩，得到白色固体 5.0 g，收率 81%。

MS: 420.3[M+H]⁺。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.51 (s, 2H), 7.39 – 7.28 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.03 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.88 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.18 (s, 2H), 3.03 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H), 2.28 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.02 (s, 1H), 1.93 – 1.84 (m, 2H), 1.61 (dd, *J* = 13.8, 6.7 Hz, 4H), 1.42 – 1.17 (m, 18H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H)。

步骤 5)

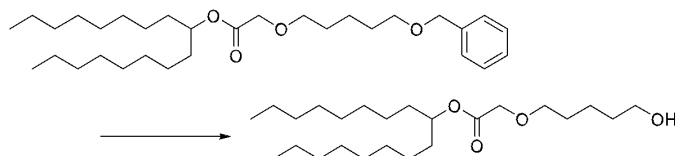


称取 2-((5-(苄氧基)戊基)氧基)乙酸（制备文献 Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1992, vol. 40, # 3, p. 617 - 623）（7.6 g, 30.12 mmol）于反应瓶中，加二氯甲烷（150 mL），冰浴，依次加入十七-9-醇（参照文献 WO2020/219876 制备）（6.18 g, 24.1 mmol），DMAP（3.68 g, 30.12 mmol），加入 EDCI（6.93 g, 36.14 mmol），搅拌 10 分钟，撤冰浴，室温反应过夜，TLC 监测，反应完毕，向反应液加入水（100 mL），分液，有机相依次用稀盐酸洗，水洗，碳酸氢钠洗，干燥，浓缩，柱层析（PE:EtOAc = 50 : 1 ~ 10 : 1），得到近无色胶状物 10.9 g，收率 92%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 – 7.31 (m, 4H), 7.30 – 7.26 (m, 1H), 4.96 (p, *J*

= 6.3 Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.04 (s, 2H), 3.52 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.47 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 1.69 – 1.61 (m, 4H), 1.56 (d, J = 16.5 Hz, 6H), 1.25 (s, 24H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

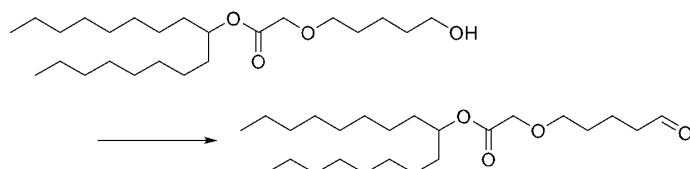
步骤 6)



称取十七烷-9-基 2-((5-(苄氧基)戊基)氧基)乙酸酯 (4.0 g, 8.15 mmol) 溶于 THF(100 mL)中, 加入 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (400 mg, 20%), 通入氢气, 室温反应 2h, TLC 监测, 反应完毕。过滤, 浓缩。得到无色胶状物 3.2 g, 收率 98%。直接用于下一步反应。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.97 (dd, *J* = 12.4, 6.1 Hz, 1H), 4.04 (s, 2H), 3.66 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.54 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 1.71 – 1.57 (m, 4H), 1.56 – 1.42 (m, 6H), 1.25 (s, 24H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 6H).

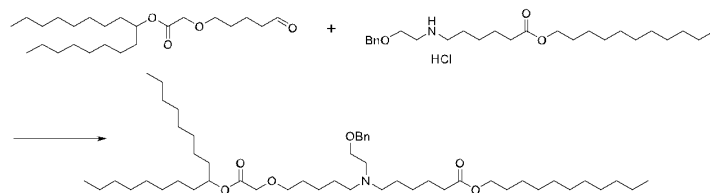
步骤 7)



称取十七烷-9-基 2-((5-羟基戊基)氧基)乙酸酯 (2.4 g, 6.0 mmol) 溶于二氯甲烷(100 mL)中, 冰浴下, 加入 DMP(3.82 g, 9.0 mmol), 室温反应 1.5h, 加入饱和硫代硫酸钠水溶液(100 mL), 搅拌 30 分钟, 分液, 有机相用饱和碳酸氢钠水溶液洗(100 mL*2), 干燥, 浓缩, 得到浅黄色胶状物 2.5g, 超重, 直接用于下一步反应。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.78 (s, 1H), 4.96 (p, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.04 (s, 2H), 3.55 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.49 (td, *J* = 7.2, 1.5 Hz, 2H), 1.81 – 1.72 (m, 2H), 1.68 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.60 – 1.48 (m, 4H), 1.26 (s, 24H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 6H).

步骤 8)

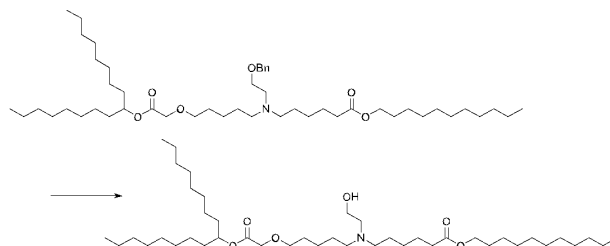


称取十七烷-9-基 2-((5-氧代戊基)氧基)乙酸酯 (2.4 g, 6 mmol) 溶于二氯甲烷 (50 mL), 加入 6-((2-(苄氧)乙基)氨基)己酸十一酯盐酸盐(2.46 g, 5.4 mmol), 加入
25 DIPEA(1.16 g, 9.0 mmol), 乙酸(1.08 g, 18.0 mmol), 搅拌溶清, 冰浴, 加入 NaBH(OAc)₃(3.18 g, 15.0 mmol), 室温反应过夜, TLC 监测, 反应完毕, 加水(100

mL), 分液, 有机相用饱和碳酸氢钠水溶液洗(50 mL*1), 干燥, 浓缩, 柱层析(PE : EtOAc = 5 : 1~2 : 1), 得到无色液体 4.1 g, 收率: 85%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33 (d, *J* = 4.5 Hz, 4H), 7.30 – 7.26 (m, 1H), 4.99 – 4.91 (m, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.08 – 4.02 (m, 4H), 3.57 – 3.47 (m, 4H), 2.68 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.45 (s, 4H), 2.28 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.67 – 1.57 (m, 6H), 1.48 (dd, *J* = 37.5, 6.0 Hz, 6H), 1.38 – 1.18 (m, 46H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 9H).

步骤 9)



称取十一烷基 6-((2-(苄氧基)乙基)(5-(2-(十七烷-9-基氧基)-2-氧代乙氧基)戊基)氨基)己酸酯 (1 g, 1.25 mmol) 于反应瓶中, 加入乙醇溶解, 加入 Pd(OH)₂/C(500 mg, 20%), 通入氢气, 室温反应过夜, TLC 监测, 反应完毕。过滤, 浓缩。得到无色胶状物, 柱层析(CH₂Cl₂ : MeOH = 10 : 1), 得到无色胶状物 450 mg, 收率 51%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.00 – 4.89 (m, 1H), 4.09 – 4.01 (m, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.52 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.68 (s, 2H), 2.57 (s, 4H), 2.30 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.70 – 1.59 (m, 6H), 1.53 (s, 8H), 1.43 – 1.18 (m, 44H), 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 9H)。

实施例 2:

LNP 脂质颗粒的制备

分别将化合物 1 (式 I 化合物)、DSPC、胆固醇、DMG-PEG 2000 溶液, 以一定摩尔百分比混合 (mol%), 即各组分摩尔量占载体总摩尔量的百分比, 混合配制乙醇脂质溶液。四组分的摩尔比按表 1 中所示进行配制。将编码荧光素酶蛋白的 mRNA (其核苷酸序列如 SEQ ID NO:26 所示) 溶于 50 mM pH 4 乙酸盐缓冲液, 配制 mRNA 水溶液。将乙醇脂质溶液和 mRNA 水溶液通过微流控按 1:3 体积比混合, 其中化合物 1 与 mRNA 的重量比为 12:1 制备脂质体。在 20 mM Tris 溶液中透析除去乙醇, 最后置换到 20 mM Tris 8%蔗糖溶液中, 得到包封 mRNA 的脂质体纳米颗粒组合物。

脂质颗粒组合物表征

表征方法

使用 Malvern Zetasizer Pro, 以 173° 反向散射检测模式, 利用动态光散射检测脂质体纳米颗粒的纳米粒径和多分散系数 PDI。

使用 Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit RNA 定量检测试剂盒, 测定脂质体

包封率。

表 1

编号	化合物 1 mol %	DSPC mol %	胆固醇 mol %	PEG-DMG mol %	粒径 nm	PDI	包封率 %
1	43.8	18.8	35.3	2.1	87.2	0.31	94
2	45.0	13.5	40.5	1.0	113.4	0.19	94
3	42.6	17.6	38.1	1.8	79.8	0.22	95
4	45.0	12.0	40.5	2.5	76.0	0.25	95
5	43.8	15.5	39.3	1.4	92.0	0.18	94
6	37.0	20.0	40.5	2.5	76.5	0.22	95
7	40.5	18.8	39.3	1.4	89.4	0.20	95
8	45.0	20.0	34.0	1.0	85.9	0.22	95
9	43.8	14.8	39.3	2.1	70.7	0.15	96
10	38.5	20.0	40.5	1.0	99.3	0.14	95
11	39.8	18.8	39.3	2.1	70.5	0.12	96
12	43.8	18.8	36.0	1.4	84.1	0.18	96
13	45.0	20.0	32.5	2.5	70.5	0.21	97
14	48.0	10.0	40.5	1.5	90.8	0.12	97
15	45.0	15.0	38.5	1.5	84.1	0.15	96

测试例 1：评估脂质颗粒组合物载体递送 mRNA 效率

5 检测脂质组合物 1-15 对应的脂质体纳米颗粒的在细胞中递送 mRNA 后的蛋白表达量。

 将 HEK 293 细胞接种到 96 孔板培养过夜，待细胞密度达到 80%以上，将包封
荧光素酶 mRNA 的脂质纳米颗粒溶液加入到细胞板孔培养基中，mRNA 剂量为
100 ng/孔。24 小时后，使用荧光素酶报告基因检测试剂盒（Promega）和酶标仪检
10 测表达荧光素酶蛋白的荧光强度。荧光强度值即酶标仪检测到的荧光数值，代表荧
光素酶蛋白的表达量，强光强度越高即蛋白表达量越高。每个化合物对应的脂质纳
米颗粒至少 3 组重复计算平均荧光值强度，数据见表 2 和图 1。

表 2

编号	平均荧光强度
1	2.26E+05
2	2.92E+06
3	3.67E+05
4	2.67E+05
5	9.21E+05
6	1.59E+05
7	3.56E+05
8	2.77E+05
9	4.17E+05
10	1.62E+06

11	3.71E+05
12	1.12E+06
13	3.55E+05
14	6.95E+06
15	1.99E+06

测试例 2：评估脂质颗粒组合物的稳定性

分别将脂质组合物 1-15 对应的脂质纳米颗粒置于 4℃和 25℃环境中，放置 3 天后分别检测各组脂质纳米颗粒的粒径，比较保存过程中的粒径变化大小，代表脂质纳米颗粒的稳定性。粒径变化大，即稳定性差。每组重复检测 3 次，计算平均粒径，如表 3 所示。分别计算 4℃和 25℃粒径与脂质纳米颗粒初始粒径的差值。差值偏离 0 点越小即在保存期内粒径变化越小，脂质纳米颗粒更稳定。如表 3 所示，4℃和 25℃环境中放置 3 天后，动态光散射检测粒径的大小的多分散系数。表 4 和图 2-3 所示粒径变化的大小。

10

表 3

编号	4℃		25℃	
	粒径 (nm)	PDI	粒径 (nm)	PDI
1	92.3	0.29	109.1	0.30
2	118.6	0.17	119.5	0.18
3	84.0	0.22	94.6	0.24
4	80.8	0.27	100.1	0.25
5	95.4	0.19	104.5	0.21
6	82.9	0.23	95.2	0.25
7	89.2	0.18	95.7	0.19
8	91.5	0.23	104.3	0.25
9	69.2	0.15	70.8	0.13
10	97.6	0.13	97.8	0.16
11	70.8	0.13	73.1	0.14
12	83.8	0.18	83.7	0.16
13	72.7	0.23	81.7	0.22
14	88.6	0.10	88.8	0.09
15	81.6	0.12	82.5	0.17

表 4

编号	4℃	25℃
	粒径变化 (nm)	
1	5.1	21.9
2	5.2	6.1
3	4.2	14.9
4	4.8	24.0
5	3.5	12.6

6	6.4	18.7
7	-0.1	6.3
8	5.6	18.4
9	-1.5	0.1
10	-1.7	-1.5
11	0.3	2.6
12	-0.3	-0.4
13	2.2	11.2
14	-2.2	-2.1
15	-2.4	-1.6

实施例 3：mRNA 疫苗的制备

本公开中，我们制备了多种 mRNA 产品，示例性的出示了 VZV mRNA 疫苗。

5 以下为其制备和验证例。

3.1 VZV mRNA 疫苗 DNA 模板的设计和合成

为了在人细胞中提高 VZV gE 蛋白表达和其结构的稳定性，本实施例进行了密码子优化，并设计了编码 Oka 株 gE 蛋白的不同 C 末端变异体分子，其中，所述 Oka 株 gE 蛋白的氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，核苷酸序列如 SEQ ID NO:2 所示。我们设计了 6 个 gE 分子，分别为：gE1（Oka gE，1-546aa）、gE2（Oka gE，1-574aa & Y569A）、gE3（Oka gE，1-544aa）、gE4（Oka gE，1-574aa）、gE5（Oka gE，1-561aa）和 1 个全长 gE6（Oka gE，1-623aa），所述 gE1-gE6 分子的氨基酸序列及其编码核酸序列如表 5 所示，其中 gE1-gE5 为 C 末端截短 gE 分子。

表 5 VZV mRNA 疫苗序列

gE 分子	核酸序列	氨基酸序列
gE1	3	21
gE2	4	22
gE3	5	23
gE4	6	24
gE5	7	25
gE6	8	1

15

还设计 T7 启动子序列(TAATACGACTCACTATAAG)、5'-UTR 序列(其对应 RNA 序列如 SEQ ID NO:9)、3'-UTR 序列(其对应 RNA 序列如 SEQ ID NO:10)和 poly(A)序列(其对应 RNA 序列如 SEQ ID NO:11)。

20 然后按照 T7 启动子序列、5'-UTR 序列、DNA ORF、3'-UTR 序列和 poly(A)序列的顺序连接，以 pUC57 为载体进行全基因合成(苏州金唯智生物科技有限公司)，获得质粒 DNA 模板。

3.2 VZV mRNA 疫苗 mRNA 原液的制备

以实施例 3.1 获得的质粒 DNA 经 XbaI 酶切，纯化获取线性化质粒 DNA，通过 T7 RNA 聚合酶进行共转录加帽(Cap1 型)反应，进行体外转录以生产所需 RNA。体外转录中使用 (1-甲基)-假尿苷-三磷酸代替三磷酸尿苷(UTP)，转录结束后，使用 DNaseI 消化 DNA 模板，以降低残余 DNA 模板带来的风险。使用 AKTA 对 mRNA 进行纯化，将纯化的 mRNA 溶解于无菌水中，并在-80℃下冷冻保存直至使用。

3.3 VZV mRNA 疫苗 mRNA-LNP 制剂的制备

将化合物 1 (式 I 化合物)、DSPC、胆固醇、DMG-PEG 2000 以 48: 10: 40.5: 1.5 的摩尔比溶于乙醇配制脂质溶液。将 mRNA 溶于 50 mM pH 4 乙酸缓冲液，配制 mRNA 水溶液。将乙醇脂质溶液和 mRNA 水溶液通过微流控按体积比 1:3 混合，脂质中化合物 1 与 mRNA 的重量为 12:1 制备脂质纳米粒。在 20 mM Tris pH 7.5 溶液中透析除去乙醇，最后置换到 20 mM Tris 8%蔗糖溶液中冻存，得到包封 mRNA 的脂质纳米粒，并在-80℃下冷冻保存直至使用。

15 实施例 4: VZV mRNA 疫苗在细胞中的表达及其在小鼠中的免疫原性

4.1 VZV mRNA 疫苗的体外表达活性检测

HEK 293T 细胞(人肾上皮细胞系)在添加了 10% FBS 和 1%青霉素-链霉素的 Dulbecco 改良 Eagle 培养基(DMEM)中，在 37° C 和 5% CO2 条件下培养。首先地，我们在 HEK293 细胞中验证了以 30L70A 为 poly A 设计的 6 个 gE-LNP mRNAs 的体外表达。本实施例使用如实施例 3 制备了利用 (1-甲基)-假尿苷-三磷酸代替 UTP 的含 30L70A 的 6 个 gE-mRNA LNPs 液体制剂，核苷酸序列分别为 gE1-LNP (SEQ ID NO:13)，gE2-LNP (SEQ ID NO:14)，gE3-LNP (SEQ ID NO:15)，gE4-LNP (SEQ ID NO:16)，gE5-LNP (SEQ ID NO:17) 和 gE6-LNP (SEQ ID NO:18)。

将 HEK-293T 细胞铺在六孔板中，HEK-293T 细胞每孔种 1.2×10^6 个细胞，37℃培养箱孵育 18-24 小时；将含 1μg mRNA 的 gE-mRNA LNPs 制剂直接加入到 HEK-293T 细胞中，继续孵育 24 小时，收集培养上清或细胞沉淀进行 Western Blot 检测，Western Blot 检测使用的 mouse anti-VZV gE Ab 购于 Abcam，Goat anti-mouse IgG HRP Ab 购于 TransGen。Western Blot 结果如图 4 所示，结果显示：1) 6 个 gE-mRNA-LNPs 均能表达出对应的 gE 蛋白；2) 保留 C 端跨膜区的 gE2，gE4，gE5 和 gE6 以 gE2，gE5 和 gE6 的体外表达活性相对较高。

4.2 VZV mRNA 疫苗免疫 C57 小鼠

本实施例使用雌性，6~8 周龄的 C57 小鼠。动物研究严格按照《上海实验动物饲养管理和使用指南》中的建议进行。

35 本实施例使用如实施例 4.1 制备的 6 条 gE-LNP mRNAs 制剂免疫 C57 小鼠，评估其在小鼠中诱导的 gE 特异性抗体水平。

将小鼠随机分为 7 组 (n=7)，其中 6 组分别施用如实施例 3 制备的 gE-LNP mRNAs 制剂免疫 (单次剂量为含 2μg mRNA 的 gE-mRNA LNPs 制剂)；另一组施用磷酸盐缓冲盐溶液 (PBS)作为阴性对照组。各组通过肌肉注射分别在第 0 天(初免)和第 14 天(二免)施用。在小鼠二免后的第 14 天(即第 28 天)眼眶取血收集小鼠血清，进行抗体检测。

血清 anti VZV gE IgG 检测 (gPELISA 法) 如下：使用 ELISA coating Buffer 稀释 VZV-gE antigen (ACROBiosystems)，配置成 0.25μg/mL，使用排枪，每孔加 100 μL 0.25μg/mL VZV-gE antigen，4°C，孵育过夜；待检测样品室温平衡 30 分钟，将板在 PBST (0.05% Tween-20)中洗涤，并用 PBST 中的 5%脱脂奶封闭。使用含 2.5% 脱脂奶粉稀释样品血清，起始稀释滴度为 1：50，后以 2 倍比稀释待检血清样品，在每块板中设置阴性血清对照。加入稀释的血清样品，每孔 100 μl，37°C(恒温箱)孵育 1 小时；弃去血清样品，使用排枪，每孔加入 250 μl PBST 洗液，洗涤 3 次；每孔加入 100 μl 稀释 50000 倍的 goat anti-mouse IgG HRP (abcam)，37°C(恒温箱)孵育 0.5 小时；弃去二抗，使用排枪，每孔加入 300 μl PBST 洗液，洗涤 5 次；清洗后，每孔加入 100 μl 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB) (ebioscience)显色液避光显色 5 分钟；每孔加入 100 μl 2N H2SO4 终止反应并检测；使用酶标仪(BioTek)在 450 nm 波长处读取 OD 值。将终点滴度确定为最后一次稀释血清的倒数。样品 OD450 nm 大于 2.1 倍阴性对照组 OD450 nm 判定为阳性值。结果如图 5 所示，结果显示这 6 种 gE LNP-mRNA 分子诱导了相当的体液免疫水平。

20

本公开部分序列如下所示：

>Oka 株 gE 蛋白的氨基酸序列
MGTVNKPVGVLGMFGIITGTLRITNPVRASVLRYYDDFHIDEDKLDTNSVYEPY
YHSDHAESSWVNRGESSRKAYDHNSPYIWPNDYDGFLNAHEHHGVYNQGR
25 GIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVIPTLNGDDRHKIVNVDQRQYGDVFK
GDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRYTETWSFLPSLTCTGDAAP
AIQHICLKHTTCFQDVVVVDVDC AENTKEDQLAEISYRFQ GKKEADQPWIVVNT
STLFDELELDPPEIEPGVLKVL RTEKQYLG VYIWNMRGSDGTSTYATFLVTWK G
DEKTRNPTPAVTPQPRGA EFH MWNYHSHVFSVGD TFSLAMHLQYKIHEAPFDL
30 LLEWLYVPIDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLAQRVASTV
YQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTTLKFVDTPESLSGLYVFVVFYF
NGHVEAVAYTVVSTVDHFVN AIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPLRLY
AAWTGGLAAVLLCLVIFLICTAKRMRVKAYRVDKSPYNQSMYYAGLPVDDFE
DSESTDTEEEFGNAIGGSHGGSSYTVYIDKTR

35

SEQ ID NO:1

> Oka 株 gE 蛋白的核苷酸序列
ATGGGGACAGTTAATAAACCTGTGGTGGGGGTATTGATGGGGTTCGGAATTAT
CACGGGAACGTTGCGTATAACGAATCCGGTCAGAGCATCCGTCTTGCGATAC

GATGATTTTCACATCGATGAAGACAACTGGATACAACTCCGTATATGAGCC
TTACTACCATTCAGATCATGCGGAGTCTTCATGGGTAAATCGGGGAGAGTCTT
CGCGAAAAGCGTACGATCATAACTCACCTTATATATGGCCACGTAATGATTATG
ATGGATTTTATAGAGAACGCACACGAACACCATGGGGTGTATAATCAGGGCCG
5 TGGTATCGATAGCGGGGAACGGTTAATGCAACCCACACAAATGTCTGCACAG
GAGGATCTTGGGGACGATACGGGCATCCACGTTATCCCTACGTTAAACGGCG
ATGACAGACATAAAATTGTAAATGTGGACCAACGTCAATACGGTGACGTGTT
TAAAGGAGATCTTAATCCAAAACCCCAAGGCCAAAGACTCATTGAGGTGTCA
GTGGAAGAAAATCACCCGTTTACTTTACGCGCACCGATTACAGCGGATTTATGG
10 AGTCCGGTACACCGAGACTTGGAGCTTTTTGCCGTCATTAACCTGTACGGGA
GACGCAGCGCCCGCCATCCAGCATATATGTTTAAAACATACAACATGCTTTCA
AGACGTGGTGGTGGATGTGGATTGCGCGGAAAATACTAAAGAGGATCAGTTG
GCCGAAATCAGTTACCGTTTTCAAGGTAAGAAGGAAGCGGACCAACCGTGG
ATTGTTGTAAACACGAGCACACTGTTTGATGAACTCGAATTAGACCCCCCG
15 AGATTGAACCGGGTGTCTTGAAAGTACTTCGGACAGAAAAACAATACTTGGG
TGTGTACATTTGGAACATGCGCGGCTCCGATGGTACGTCTACCTACGCCACGT
TTTTGGTCACCTGGAAAGGGGATGAAAAACAAGAAACCTACGCCCGCAG
TAACTCCTCAACCAAGAGGGGCTGAGTTTCATATGTGGAATTACCACTCGCAT
GTATTTTCAGTTGGTGATACGTTTAGCTTGGCAATGCATCTTCAGTATAAGATA
20 CATGAAGCGCCATTTGATTTGCTGTTAGAGTGGTTGTATGTCCCCATCGATCCT
ACATGTCAACCAATGCGGTTATATTCTACGTGTTTGTATCATCCCAACGCACCC
CAATGCCTCTCTCATATGAATTCCGGTTGTACATTTACCTCGCCACATTTAGCC
CAGCGTGTGCAAGCACAGTGTATCAAATTTGTGAACATGCAGATAACTACA
CCGCATATTGTCTGGGAATATCTCATATGGAGCCTAGCTTTGGTCTAATCTTAC
25 ACGACGGGGGCACCACGTTAAAGTTTGTAGATACACCCGAGAGTTTGTCTGGG
ATTATACGTTTTTGTGGTGTATTTTAACGGGCATGTTGAAGCCGTAGCATACAC
TGTTGTATCCACAGTAGATCATTTTGTAAACGCAATTGAAGAGCGTGGATTT
CGCCAACGGCCGGTCAGCCACCGGCGACTACTAAACCCAAGGAAATTACCC
CCGTAAACCCCGGAACGTCACCACTTCTACGATATGCCGCATGGACCGGAGG
30 GCTTGCAGCAGTAGTACTTTTATGTCTCGTAATATTTTAACTGTACGGCTAA
ACGAATGAGGGTTAAAGCCTATAGGGTAGACAAGTCCCCGTATAACCAAAGC
ATGTATTACGCTGGCCTTCCAGTGGACGATTTTCGAGGACTCGGAATCTACGGA
TACGGAAGAAGAGTTTGGTAACGCGATTGGAGGGAGTCACGGGGGTTTCGAG
TTACACGGTGTATATAGATAAGACCCGGTGA
35

SEQ ID NO:2

>gE1 核苷酸序列

AUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCUGAUGGGCUUCGGCA
UCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGCGGGCCAGCGUGCUG
40 CGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUGGACACCAACUCCGU
GUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUCCAGCUGGGUGAACC

GGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACUCCCCCUACAUCUGG
CCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCCCACGAGCACCACGG
GGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGAGCGGCUGAUGCAGC
CCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACGACACCGGCAUCCAC
5 GUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAGAUCGUGAACGUGGA
CCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACCUGAACCCCAAGCCCC
AGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAGAACCACCCCUUACCC
CUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCGGUACACCGAGACCUG
GUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACC GGCGACGCCGCCCCCGCCAUCCA
10 GCACAUUCGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAGGACGUGGUCGUGGACG
UCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCUCGCCGAGAUUCCUAC
CGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCUGGAUCGUGGUCAACAC
CAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCGCCGAGAUUCGAGCCCG
GCGUGCUC AAGGUCCUGCGGACC GAGAAGCAGUACCUCGGGGUGUACAUC
15 UGGAACAUGCGCGGCUCGACGGGACCAGCACCUACGCCACCUUCCUGGU
CACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCACCCCGCCGUGACGC
CCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAACUACCACUCCACGUC
UUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCUCGCCAUGCACCUGCAGUACAAGAU
CCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGCUGGAGUGGCUGUACGUCCCCAUCG
20 ACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCACGUGCCUGUACCACCCC
AACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCAUGAACAGCGGGUGCACCUCACGUC
CCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUCUACCAGAACUGCGAGC
ACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAUCUCCACAUUGGAGCCC
UCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGACCCUGAAGUUCGUGGA
25 CACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUCGUGGUCUACUUAACG
GGCAGGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUCGACCGUGGACCACUUC
GUCAACGCGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGACCGCCGGGCAGCCGCC
CGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCGGUGAACCCCGGCACGAGCC
CGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCUCGCCUGA
30

SEQ ID NO:3

> gE2 核苷酸序列

AUGGGCACCGUGAACAAAGCCCGUGGUGGGCGUGCUGAUGGGCUUCGGCA
UCAUACCCGGCACCCUGCGCAUACCAACCCCGUGCGGGCCAGCGUGCUG
35 CGCUACGACGACUUCCACAUCGACGAGGACAAGCUGGACACCAACUCCGU
GUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUCCAGCUGGGUGAACC
GGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACUCCCCCUACAUCUGG
CCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCCCACGAGCACCACGG
GGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGAGCGGCUGAUGCAGC
40 CCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACGACACCGGCAUCCAC
GUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAGAUCGUGAACGUGGA

CCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACCUGAACCCCAAGCCCC
AGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAGAACCACCCCUUCACC
CUGCGGGGCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCGGUACACCGAGACCUG
GUCCUUCUGCCCAGCCUGACCUGCACC GGCGACGCCGCCCCCGCCAUCCA
5 GCACAUUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAGGACGUGGUCGUGGACG
UCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCUCGCCGAGAUCCUAC
CGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCUGGAUCGUGGUCAACAC
CAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCGCCGAGAUCCGAGCCCC
GCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUACCUCGGGGUGUACAUC
10 UGGAACAUGCGCGGCUCGACGGGACCAGCACCUCACGCCACCUUCCUGGU
CACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCACCCCGCCGUGACGC
CCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCACAUGUGGAACUACCACUCCACGUC
UUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCUCGCCAUGCACCUGCAGUACAAGAU
CCACGAGGCCCGUUCGACCUCUGCUGGAGUGGCUGUACGUCCCCAUCCG
15 ACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCACGUGCCUGUACCACCCC
AACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCAUGAACAGCGGGUGCACCUCACGUC
CCCGCACCUUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUCUACCAGAACUGCGAGC
ACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAUCUCCCAUGGAGCCC
UCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGACCCUGAAGUUCGUGGA
20 CACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUCGUGGUCUACUUAACG
GGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUCGACCGUGGACCACUUC
GUCAACGCGAUUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGACCGCCGGGCAGCCGCC
CGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCGGUGAACCCCGGCACGAGCC
CGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGGCCUCGCCGCGGUCGUGCUG
25 CUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCAAGCGGAUGCGCGUGAA
GGCGGCCCCGGGUCGACAAGUCCUGA

SEQ ID NO:4

>gE3 核苷酸序列

AUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCUGAUGGGCUUCGGCA
30 UCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGCGGGCCAGCGUGCUG
CGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUGGACACCAACUCCGU
GUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUCCAGCUGGGUGAACC
GGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACUCCCCCUACAUCUGG
CCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCCACGAGCACACCGG
35 GGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGAGCGGCUGAUGCAGC
CCACCCAGAUUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACGACACCGGCAUCCAC
GUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAGAUCGUGAACGUGGA
CCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACCUGAACCCCAAGCCCC
AGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAGAACCACCCCUUCACC
40 CUGCGGGGCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCGGUACACCGAGACCUG
GUCCUUCUGCCCAGCCUGACCUGCACC GGCGACGCCGCCCCCGCCAUCCA

GCACAUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAGGACGUGGUCGUGGACG
UCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCUCGCCGAGAUCCUAC
CGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCUGGAUCGUGGUCAACAC
CAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCGCCGAGAUCCGAGCCCC
5 GCGUGCUC AAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUACCUCGGGGUGUACAUC
UGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCUCGCCACCUUCCUGGU
CACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCACCCCGCCGUGACGC
CCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUCCACAUGUGGAACUACCACUCCACGUC
UUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCUCGCCAUGCACCUGCAGUACAAGAU
10 CCACGAGGCCCGUUCGACCUCUCCUGCUGGAGUGGCUGUACGUCCCCAUCG
ACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCACGUGCCUGUACCACCC
AACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCAUGAACAGCGGGUGCACCUCACGUC
CCCGCACCUUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUCUACCAGAACUGCGAGC
ACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAUCUCCCAUGGAGCCC
15 UCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGACCCUGAAGUUCGUGGA
CACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUCGUGGUCUACUUAACG
GGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUCGACCGUGGACCACUUC
GUCAACGCGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGACCGCCGGGCAGCCGCC
CGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCGGUGAACCCCGGCACGAGCC
20 CGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCUGA

SEQ ID NO:5

> gE4 核苷酸序列

AUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCUGAUGGGCUUCGGCA
UCAUCACCGGCACCCUGCGCAUACCAACCCCGUGCGGGCCAGCGUGCUG
25 CGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUGGACACCAACUCCGU
GUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUCCAGCUGGGUGAACC
GGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACUCCCCCUACAUCUGG
CCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCCACGAGCACCACGG
GGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGAGCGGCUGAUGCAGC
30 CCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACGACACCGGCAUCCAC
GUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAGAUCGUGAACGUGGA
CCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACCUGAACCCCAAGCCCC
AGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAGAACCACCCCUUACCC
CUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCGGUACACCGAGACCUG
35 GUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACGCCGCCCCCGCCAUCCA
GCACAUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAGGACGUGGUCGUGGACG
UCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCUCGCCGAGAUCCUAC
CGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCUGGAUCGUGGUCAACAC
CAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCGCCGAGAUCCGAGCCCC
40 GCGUGCUC AAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUACCUCGGGGUGUACAUC
UGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCUCGCCACCUUCCUGGU

CACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCACCCCCGCCGUGACGC
CCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAACUACCACUCCCACGUC
UUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCCUCGCCAUGCACCUGCAGUACAAGAU
CCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGCUGGAGUGGCUGUACGUCCCCAUCG
5 ACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCACGUGCCUGUACCACCCC
AACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCACAUGAACAGCGGGUGCACCUUCACGUC
CCCGCACCUGGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUCUACCAGAACUGCGAGC
ACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAUCUCCCACAUGGAGCCC
UCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGACCCUGAAGUUCGUGGA
10 CACGCCGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUCGUGGUCUACUUAACG
GGCAGGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUCGACCGUGGACCACUUC
GUCAACGCGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGACCGCCGGGCAGCCGCC
CGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGGUGAACCCCGGCACGAGCC
CGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCUCGCCGCGGUCGUGCUG
15 CUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCAAGCGGAUGCGCGUGAA
GGCGUACCGGGUCGACAAGUCCUGA

SEQ ID NO:6

> gE5 核苷酸序列

AUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCUGAUGGGCUUCGGCA
20 UCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGCGGGCCAGCGUGCUG
CGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUGGACACCAACUCCGU
GUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUCCAGCUGGGUGAACC
GGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACUCCCCCUACAUCUGG
CCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCCACGAGCACCACGG
25 GGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGAGCGGCUGAUGCAGC
CCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACGACACCGGCAUCCAC
GUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAGAUCGUGAACGUGGA
CCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACCUGAACCCCAAGCCCC
AGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAGAACCACCCCUUACCC
30 CUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCGGUACACCGAGACCUG
GUCCUUCUUGCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACGCCGCCCCCGCCAUCCA
GCACAUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAGGACGUGGUCGUGGACG
UCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCUCGCCGAGAUUCUCCUAC
CGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCUGGAUCGUGGUCAACAC
35 CAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCGCCGAGAUUCGAGCCCG
GCGUGCUCUAAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUACCUCGGGGUGUACAUC
UGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCUACGCCACCUUCCUGGU
CACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCACCCCCGCCGUGACGC
CCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAACUACCACUCCCACGUC
40 UUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCCUCGCCAUGCACCUGCAGUACAAGAU
CCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGCUGGAGUGGCUGUACGUCCCCAUCG

ACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCACGUGCCUGUACCACCCC
AACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCACAUGAACAGCGGGUGCACCUUCACGUC
CCCGCACCUGGGCGAGCGCGUGGGCAGCACCGUCUACCAGAACUGCGAGC
ACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAUCUCCCACAUGGAGCCC
5 UCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGACCCUGAAGUUCGUGGA
CACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUCGUGGUCUACUUAACG
GGCAGUGGAGGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUCGACCGUGGACCACUUC
GUCAACGCGAUUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGACCGCCGGGCAGCCGCC
CGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGGUGAACCCCGGCACGAGCC
10 CGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCUCGCCGCGGUCGUGCUG
CUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCUGA

SEQ ID NO:7

> gE6 核苷酸序列

AUGGGCACCGUGAACAAAGCCCGUGGUGGGCGUGCUGAUGGGCUUCGGCA
15 UCAUACCCGGCACCCUGCGCAUACCAACCCCGUGCGGGCCAGCGUGCUG
CGCUACGACGACUUCCACAUCGACGAGGACAAGCUGGACACCAACUCCGU
GUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUCCAGCUGGGUGAACC
GGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACUCCCCCUACAUCUGG
CCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCCACGAGCACCACGG
20 GGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGAGCGGCUGAUGCAGC
CCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACGACACCGGCAUCCAC
GUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAGAUCGUGAACGUGGA
CCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACCUGAACCCCAAGCCCC
AGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAGAACCACCCCUUACCC
25 CUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCGGUACACCGAGACCUG
GUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACGCCGCCCCCGCCAUCCA
GCACAUUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAGGACGUGGUCGUGGACG
UCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCUCGCCGAGAUCCUAC
CGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCUGGAUCGUGGUCAACAC
30 CAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCGCCGAGAUUCGAGCCCG
GCGUGCUCUAAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUACCUCGGGGUGUACAUC
UGGAACAUGCGCGGCUCGACGGGACCAGCACCUACGCCACCUUCCUGGU
CACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCACCCCCCGCCUGACGC
CCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAACUACCACUCCACGUC
35 UUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCUCGCCAUGCACCUGCAGUACAAGAU
CCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUGCUGGAGUGGCUGUACGUCCCCAUCG
ACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCACGUGCCUGUACCACCCC
AACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCACAUGAACAGCGGGUGCACCUUCACGUC
CCCGCACCUGGGCGAGCGCGUGGGCAGCACCGUCUACCAGAACUGCGAGC
40 ACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAUCUCCCACAUGGAGCCC
UCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGACCCUGAAGUUCGUGGA

CACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUCGUGGUCUACUUCAACG
GGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUCGACCGUGGACCACUUC
GUCAACCGGAUCGAGGAGCGGGGCUUUCGACCGCCGGGCAGCCGCC
CGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCGGUGAACCCCGGCACGAGCC
5 CGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGGCCUCGCCGCGGUCGUGCUG
CUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCAAGCGGAUGCGCGUGAA
GGCGUACCGGGUCGACAAGUCCCCCUACAACCAGUCGAUGUACUACGCCG
GGCUGCCCGUGGACGACUUCGAGGACAGCGAGUCCACGGACACCGAGGAG
GAGUUCGGCAACGCGAUCGGGGGCUCGCACGGGGGCUCCUCGUACACGGU
10 CUACAUCGACAAGACCCGCUGA

SEQ ID NO:8

> 5'UTR

GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUCAAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAAU

15

SEQ ID NO:9

>3'UTR

GCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAGGUUCCUUGUUCUUAA
GUCCAACUACUAAACUGGGGGAUUAUUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGA
UUCUGCCUAAUAAAAACAUAUUUAUUUCAUUGCAA

20

SEQ ID NO:10

> 30L70A polyA

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAA
AA
AAAAAAAAAAAAA

25

SEQ ID NO:11

>120A polyA

AA
AA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

30

SEQ ID NO:12

>gE1 (30L70A) mRNA 序列

GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUCAAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAAUAUGGGCACCGUGAACAAAGCCCGUGGUGGGCGUGCU
GAUGGGCUUCGGCAUCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
35 GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUG
GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
CAGCUGGGUGAACCGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU
CCCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC
CACGAGCACCACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
40 GCGGCUGAUGCAGCCCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACG
ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG

AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUUCACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGGUCCG
GUACACCGAGACCUUGGUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
5 CCGCCCCCGCCAUCCAGCACAUUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAG
GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
CGCCGAGAUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
CCCGAGAUCGAGCCCCGGCGUGCUGAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
10 CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGCGCGGCUCGACGGGACCAGCACCU
ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCC
ACCCCCGCCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCCUCGCCAUGC
ACCUGCAGUACAAGAUAUCCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGGAGUGG
15 CUGUACGUCCCCAUCCAGCCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCACAUGAACAGCG
GGUGCACCUUCACGUCCCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
CUCCCACAUGGAGCCCUCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
20 CCCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
GACCGUGGACCACUUCGUCAACCGGAUCCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGA
CCGCCGGGCAGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGUG
AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCCGUGGACCGGGGGCCU
25 CGCCUGAUGAACCGGUGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAGG
UUCUUUUGUUCUUUAAGUCCAACUACUAAACUGGGGGAUAUUAUGAAGG
GCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUAUUGC
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAA
AA
30 AAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO:13

> gE2 (30L70A) mRNA 序列

GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUUCAAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAAUAUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCU
35 GAUGGGCUUCGGCAUCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUUCACAUCCGACGAGGACAAGCUG
GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
CAGCUGGGUGAACCGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU
CCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC
40 CACGAGCACACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
GCGGCUGAUGCAGCCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACG

ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG
AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUUACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCG
5 GUACACCGAGACCUGGUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
CCGCCCCCGCCAUCCAGCACAUUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAG
GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
CGCCGAGAUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
10 CCGGAGAUUCGAGCCCGGCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCU
ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCC
ACCCCCGCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCCUCCGCAUGC
15 ACCUGCAGUACAAGAUAUCCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGGAGUGG
CUGUACGUCCCCAUUCGACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCCGCAGUGCCUCUCCACAUGAACAGCG
GGUGCACCUUCACGUCCCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
20 CUCCACAUUGGAGCCCUUGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
CCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
GACCGUGGACCACUUCGUCAACGCGAUUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCGA
CCGCCGGGCAGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGUG
25 AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCU
CGCCGCGGUCGUGCUGCUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCA
AGCGGAUGCGCGUGAAGGCGGGCCCGGUCGACAAGUCCUGAUGAACCGGU
GCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUAUUAUAAAGGUUCCUUGUUCUUAA
GUCCAACUACUAAACUGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGA
30 UUCUGCCUAAUAAAAACAUAUUAUUUUAUUGCAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA

SEQ ID NO:14

> gE3 (30L70A) mRNA 序列

35 GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUCAAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAUAUAGGGCACCGUGAACAAAGCCCGUGGUGGGCGUGCU
GAUGGGCUUCGGCAUCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUG
GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
40 CAGCUGGGUGAACCGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU
CCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC

CACGAGCACCACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
GCGGCUGAUGCAGCCCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGACG
ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG
AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
5 UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUUACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCG
GUACACCGAGACCUGGUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
CCGCCCCCGCCAUCCAGCACAUUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAG
GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
10 CGCCGAGAUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
CCCGAGAUCGAGCCCGGCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCU
ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCC
15 ACCCCCGCCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCUCGCCAUGC
ACCUGCAGUACAAGAUAUCCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGGAGUGG
CUGUACGUCCCCAUUCGACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCCGCAGUGCCUCUCCACACAUGAACAGCG
20 GGUGCACCUCUACGUCCCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
CUCCACAUUGGAGCCCUUGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
CCCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
25 GACCGUGGACCACUUCGUCAACGCGAUUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGA
CCGCCGGGCAGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGGUG
AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCUG
AUGAACCGGUGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUAUUAUAAAGGUUCCU
UUGUUCUUUAAGUCCAACUACUAAACUGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUU
30 GAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAA
AAA
AAAAAAAAAA

SEQ ID NO:15

35 > gE4 (30L70A) mRNA 序列
GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUCAAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAAUAUGGGCACCGUGAACAAAGCCCGUGGUGGGCGUGCU
GAUGGGCUUCGGCAUCAUACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUG
40 GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
CAGCUGGGUGAACCGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU

CCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC
CACGAGCACCACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
GCGGCUGAUGCAGCCCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGGACG
ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG
5 AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUUACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGGUCCG
GUACACCGAGACCUGGUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
CCGCCCCCGCCAUCCAGCACAUUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAG
10 GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
CGCCGAGAUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
CCCGAGAUCGAGCCCGGCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCU
15 ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCC
ACCCCGCCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCCUCGCCAUGC
ACCUGCAGUACAAGAUAUCCACGAGGCCCGUUCGACCUCUUGCUGGAGUGG
CUGUACGUCCCCAUUGACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
20 GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCAUAUAACAGCG
GGUGCACCUUCACGUCCCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
CUCCACAUUGGAGCCCUUGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
CCCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
25 GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
GACCGUGGACCACUUCGUCAACGCGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGA
CCGCCGGGACGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCGGUG
AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCCGUGGACCGGGGGCCU
CGCCGCGGUCGUGCUGCUCUGCCUGGUCAUCUUCCUCAUCUGCACCGCCA
30 AGCGGAUGCGCGUGAAGGCGUACCGGGUCGACAAGUCCUGAUGAACCGG
UGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUCUAUUAAGGUUCCUUGUUCCCUA
AGUCCAACUACUAAACUGGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGG
AUUCUGCCUAAUAAAAAACAUUUAUUUUAUUGCAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
35 AA

SEQ ID NO:16

> gE5 (30L70A) mRNA 序列

GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUUCAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAUAUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCU
40 GAUGGGCUUCGGCAUCAUACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUG

GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
CAGCUGGGUGAACCGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU
CCCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC
CACGAGCACCACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
5 GCGGCUGAUGCAGCCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGGACG
ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG
AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUUCACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCG
10 GUACACCGAGACCUGGUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
CCGCCCCCGCCAUCCAGCACAUUCGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAG
GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
CGCCGAGAUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
15 CCGGAGAUCGAGCCCGGCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCU
ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCC
ACCCCCGCCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCUCGCCAUGC
20 ACCUGCAGUACAAGAUAUCCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGGAGUGG
CUGUACGUCCCCAUUCGACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCCGAGUGCCUCUCCCAUAUAACAGCG
GGUGCACCUCACGUCCCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
25 CUCCCACAUGGAGCCCUCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
CCCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
GACCGUGGACCACUUCGUCAACCGGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGA
CCGCCGGGCAGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGUG
30 AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCU
CGCCGCGGUCGUGCUGCUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCU
GAUGAACCGGUGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAUAUUUCUAUUAAGGUUCC
UUUGUUCUUAAGUCCAACUACUAAACUGGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCU
UGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAAACAUAUUAUUUUAUUGCAAAA
35 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAA
AA
AAAAAAAAAA

SEQ ID NO:17

> gE6 (30L70A) mRNA 序列

40 GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUCAAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAAUAUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCU

GAUGGGCUUCGGCAUCAUACCCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUUCCACAUCGACGAGGACAAGCUG
GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
CAGCUGGGUGAACCAGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU
5 CCCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC
CACGAGCACCACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
GCGGCUGAUGCAGCCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGGACG
ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG
AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
10 UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUUACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGGUCCG
GUACACCGAGACCUGGUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
CCGCCCCCGCCAUCCAGCACAUUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAG
GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
15 CGCCGAGAUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
CCCGAGAUCGAGCCCGGCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGCGCGGCUCGACGGGACCAGCACCU
ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCC
20 ACCCCCGCCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCCUCGCCAUGC
ACCUGCAGUACAAGAUCACGAGGCCCGUUCGACCUCUCCUGGAGUGG
CUGUACGUCCCCAUCGACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCGCAGUGCCUCUCCCACAUGAACAGCG
25 GGUGCACCUCACGUCCCCGCACCUGGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
CUCCCACAUGGAGCCCUCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
CCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
30 GACCGUGGACCACUUCGUCAACGCGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGA
CCGCCGGGCAGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGUG
AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCU
CGCCGCGGUCGUGCUGCUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCA
AGCGGAUGCGCGUGAAGGCGUACCGGGUUCGACAAGUCCCCCUACAACAG
35 UCGAUGUACUACGCCGGGCUGCCCGUGGACGACUUCGAGGACAGCGAGUC
CACGGACACCGAGGAGGAGUUCGGCAACGCGAUCGGGGGCUCGCACGGGG
GCUCCUCGUACACGGUCUACAUCGACAAGACCCGCGUGAUGAACGGGUGCU
CGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAGGUUCCUUUGUCCCCUAAGUC
CAACUACUAAACUGGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUC
40 UGCCUAAUAAAAACAUUUAUUUUAUUGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

AA

SEQ ID NO:18

> gE2 120A mRNA 序列

5 GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUUCAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAAUAUGGGCACCGUGAACAAGCCCGUGGUGGGCGUGCU
GAUGGGCUUCGGCAUCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUG
GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
CAGCUGGGUGAACCGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU
10 CCCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC
CACGAGCACCACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
GCGGCUGAUGCAGCCACCCAGAUGUCCGCCAGGAGGACCUGGGGGGACG
ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG
AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
15 UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUUCACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCG
GUACACCGAGACCUUGGUCCUUCCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
CCGCCCCCGCCAUCCAGCACAUUCUGCCUGAAGCACACCACCUUGCUUCCAG
GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
20 CGCCGAGAUUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
CCCGAGAUCGAGCCCGGCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGCGCGGCUCCGACGGGACCAGCACCU
ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCC
25 ACCCCCGCCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCUCGCAUGC
ACCUGCAGUACAAGAUAUCCACGAGGCCCGUUCGACCUCUUGGAGUGG
CUGUACGUCCCCAUCGACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCCGAGUGCCUCUCCACAUGAACAGCG
30 GGUGCACCUCACGUCCCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
CUCCACAUUGGAGCCCUCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
CCCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
35 GACCGUGGACCACUUCGUCAACCGGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGA
CCGCCGGGCAGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCGGUG
AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCU
CGCCGCGGUCGUGCUGCUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCA
AGCGGAUGCGCGUGAAGGCGGCCCGGGUCGACAAGUCCUGAUGAACCGGU
40 GCUCGCUUUCUUGCUGUCCAAUUAUUAAGGUUCCUUGUUCUUAA
GUCCAACUACUAAACUGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGA

UUCUGCCUAAUAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA
AA
AAAAAAA

5

SEQ ID NO:19

> gE6 120A mRNA 序列

GAGUUAGGAGUUGGUGGCAGUUUCAUAACAGGUCAUUGCCGAGAAAAG
GAUAGCACUAUAAUAUGGGCACCGUGAACAGCCCGUGGUGGGCGUGCU
GAUGGGCUUCGGCAUCAUCACCGGCACCCUGCGCAUCACCAACCCCGUGC
10 GGGCCAGCGUGCUGCGCUACGACGACUCCACAUCGACGAGGACAAGCUG
GACACCAACUCCGUGUACGAGCCCUACUACCACAGCGACCACGCCGAGUC
CAGCUGGGUGAACCGGGGCGAGUCCAGCCGCAAGGCCUACGACCACAACU
CCCCUACAUCUGGCCCCGGAACGACUACGACGGCUUCCUGGAGAACGCC
CACGAGCACACGGGGUGUACAACCAGGGCCGCGGGAUCGACAGCGGCGA
15 GCGGCUGAUGCAGCCACCCAGAUGUCCGCCCAGGAGGACCUGGGGGACG
ACACCGGCAUCCACGUGAUCCCCACCCUGAACGGGGACGACCGCCACAAG
AUCGUGAACGUGGACCAGCGGCAGUACGGCGACGUGUUAAGGGGGACC
UGAACCCCAAGCCCCAGGGCCAGCGCCUGAUCGAGGUCAGCGUGGAGGAG
AACCACCCCUACCCUGCGGGCCCCCAUCCAGCGCAUCUACGGGGUCCG
20 GUACACCGAGACCUGGUCCUUCUGCCCAGCCUGACCUGCACCGGCGACG
CCGCCCCCGCAUCCAGCACAUUCUGCCUGAAGCACACCACCUGCUUCCAG
GACGUGGUCGUGGACGUCGACUGCGCCGAGAACACCAAGGAGGACCAGCU
CGCCGAGAUUCUCCUACCGCUUCCAGGGGAAGAAGGAGGCCGACCAGCCCU
GGAUCGUGGUCAACACCAGCACCCUGUUCGACGAGCUGGAGCUGGACCCG
25 CCGGAGAUUCGAGCCCGGCGUGCUCAAGGUCCUGCGGACCGAGAAGCAGUA
CCUCGGGGUGUACAUCUGGAACAUGC CGCGCUCCGACGGGACCAGCACCU
ACGCCACCUUCCUGGUCACCUGGAAGGGCGACGAGAAGACCCGGAACCCC
ACCCCCGCGUGACGCCCCAGCCGCGCGGGGCCGAGUUCCACAUGUGGAA
CUACCACUCCACGUCUUCAGCGUGGGCGACACGUUCUCCCUCCGCAUGC
30 ACCUGCAGUACAAGAUCACGAGGCCCCGUUCGACCUCUCCUGCUGGAGUGG
CUGUACGUCCCCAUCGACCCGACCUGCCAGCCCAUGCGGCUCUACAGCAC
GUGCCUGUACCACCCCAACGCCCCGCAGUGCCUCUCCCAUGAACAGCG
GGUGCACCUUCACGUCCCCGCACCUGGCGCAGCGCGUGGCCAGCACCGUC
UACCAGAACUGCGAGCACGCGGACAACUACACCGCCUACUGCCUCGGCAU
35 CUCCCAUGGAGCCCUCCGUUCGGGCUGAUCCUCCACGACGGCGGGACGA
CCUGAAGUUCGUGGACACGCCGGAGAGCCUCUCCGGCCUGUACGUCUUC
GUGGUCUACUUAACGGGCACGUGGAGGCGGUCGCCUACACGGUGGUCUC
GACCGUGGACCACUUCGUCAACGCGAUCGAGGAGCGGGGCUUCCCCCGA
CCGCCGGGCAGCCGCCCGCGACGACGAAGCCGAAGGAGAUACCCCCGGUG
40 AACCCCGGCACGAGCCCGCUCCUGCGCUACGCCGCGUGGACCGGGGGCCU
CGCCGCGGUCGUGCUGCUCUGCCUGGUCAUCUCCUCAUCUGCACCGCCA

AGCGGAUGCGCGUGAAGGCGUACCGGGUCGACAAGUCCCCCUACAACCAG
UCGAUGUACUACGCCGGGCUGCCCGUGGACGACUUCGAGGACAGCGAGUC
CACGGACACCGAGGAGGAGUUCGGCAACGCGAUCCGGGGGCUCGCACGGGG
GCUCCUCGUACACGGUCUACAUCGACAAGACCCGCUGAUGAACCGGUGCU
5 CGCUUUCUUGCUGUCCAAUUUCUAUUAAAGGUUCCUUUGUUCCCUAAGUC
CAACUACUAAACUGGGGGAUAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUC
UGCCUAAUAAAAACAUUUAUUUUCAUUGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA
AA
10 AAAAA

SEQ ID NO:20

> gE1 氨基酸序列

MGTVNKPVVGVLMGFGIITGTLRITNPVRASVLRYYDDFHIDEDKLDTNSVYEPY
YHSDHAESSWVNRGESSRKAYDHNSPYIWPRNDYDGFLNAHEHHGVYNQGR
15 GIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVITLNGDDRHKIVNVDQRQYGDVFK
GDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRYTETWSFLPSLTCTGDAAP
AIQHICLKHTTCFQDVVVDVDC AENTKEDQLAEISYRFQGKKEADQPWIVVNT
STLFDELELDPPEIEPGVLKVL RTEKQYLGVIWNMRGSDGTSTYATFLVTWKG
DEKTRNPTPAVTPQPRGAEFHWMVNYHSHVFSVGDTFSLAMHLQYKIHEAPFDL
20 LLEWLYVPIDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLAQRVASTV
YQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTTLKFVDTPELSGLYVFVVFY
NGHVEAVAYTVVSTVDHFVN AIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPLRLY
AAWTGGLA

SEQ ID NO:21

25 > gE2 氨基酸序列

MGTVNKPVVGVLMGFGIITGTLRITNPVRASVLRYYDDFHIDEDKLDTNSVYEPY
YHSDHAESSWVNRGESSRKAYDHNSPYIWPRNDYDGFLNAHEHHGVYNQGR
GIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVITLNGDDRHKIVNVDQRQYGDVFK
GDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRYTETWSFLPSLTCTGDAAP
30 AIQHICLKHTTCFQDVVVDVDC AENTKEDQLAEISYRFQGKKEADQPWIVVNT
STLFDELELDPPEIEPGVLKVL RTEKQYLGVIWNMRGSDGTSTYATFLVTWKG
DEKTRNPTPAVTPQPRGAEFHWMVNYHSHVFSVGDTFSLAMHLQYKIHEAPFDL
LLEWLYVPIDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLAQRVASTV
YQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTTLKFVDTPELSGLYVFVVFY
35 NGHVEAVAYTVVSTVDHFVN AIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPLRLY
AAWTGGLAAVLLCLVIFLICTAKRMRVKAARVDKS

SEQ ID NO:22

> gE3 氨基酸序列

MGTVNKPVVGVLMGFGIITGTLRITNPVRASVLRYYDDFHIDEDKLDTNSVYEPY
40 YHSDHAESSWVNRGESSRKAYDHNSPYIWPRNDYDGFLNAHEHHGVYNQGR

GIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVIPTLNGDDRHKIVNVDQRQYGDVFK
GDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRYTETWSFLPSLTCTGDAAP
AIQHICLKHTTCFQDVVVDVDCAENTKEDQLAEISYRFQGKKEADQPWIVVNT
STLFDELELDPPEIEPGVLKVLRTKQYLGVIWNMRGSDGTSTYATFLVTWKG
5 DEKTRNPTPAVTPQPRGAEFHMWNYHSHVFSVGDTFSLAMHLQYKIHEAPFDL
LLEWLYVPIDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLAQRVASTV
YQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTTLKFVDTPESLSGLYVFVVFY
NGHVEAVAYTVVSTVDHFVNAIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPLLR
AAWTGG

10

SEQ ID NO:23

> gE4 氨基酸序列

MGTVNKPVVGVLGMFGIITGTLRITNPVRASVLRYYDDFHIDEDKLDNTSVYEPY
YHSDHAESSWVNRGESSRKAYDHNSPYIWPNDYDGFLENAHEHHGVYNQGR
GIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVIPTLNGDDRHKIVNVDQRQYGDVFK
15 GDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRYTETWSFLPSLTCTGDAAP
AIQHICLKHTTCFQDVVVDVDCAENTKEDQLAEISYRFQGKKEADQPWIVVNT
STLFDELELDPPEIEPGVLKVLRTKQYLGVIWNMRGSDGTSTYATFLVTWKG
DEKTRNPTPAVTPQPRGAEFHMWNYHSHVFSVGDTFSLAMHLQYKIHEAPFDL
LLEWLYVPIDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLAQRVASTV
20 YQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTTLKFVDTPESLSGLYVFVVFY
NGHVEAVAYTVVSTVDHFVNAIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPLLR
AAWTGG

SEQ ID NO:24

> gE5 氨基酸序列

MGTVNKPVVGVLGMFGIITGTLRITNPVRASVLRYYDDFHIDEDKLDNTSVYEPY
YHSDHAESSWVNRGESSRKAYDHNSPYIWPNDYDGFLENAHEHHGVYNQGR
GIDSGERLMQPTQMSAQEDLGDDTGIHVIPTLNGDDRHKIVNVDQRQYGDVFK
GDLNPKPQGQRLIEVSVEENHPFTLRAPIQRIYGVRYTETWSFLPSLTCTGDAAP
AIQHICLKHTTCFQDVVVDVDCAENTKEDQLAEISYRFQGKKEADQPWIVVNT
30 STLFDELELDPPEIEPGVLKVLRTKQYLGVIWNMRGSDGTSTYATFLVTWKG
DEKTRNPTPAVTPQPRGAEFHMWNYHSHVFSVGDTFSLAMHLQYKIHEAPFDL
LLEWLYVPIDPTCQPMRLYSTCLYHPNAPQCLSHMNSGCTFTSPHLAQRVASTV
YQNCEHADNYTAYCLGISHMEPSFGLILHDGGTTLKFVDTPESLSGLYVFVVFY
NGHVEAVAYTVVSTVDHFVNAIEERGFPPTAGQPPATTKPKEITPVNPGTSPLLR
35 AAWTGGLAAVLLCLVIFLICTA

SEQ ID NO:25

> 荧光素酶 mRNA 序列

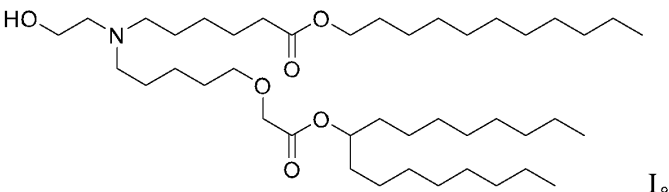
UAAUACGACUCACUAUAAGGGAAGCUUCUCUCGCACUCUGUUCUUCGCC
GCUCGCGCGUUCUCUGCCGUCGAGCUAGCCUUAAGGCCACCA
40 UGGAAGACGCCAAAAACAUAAGAAAGGCCCGCGCCAUUCUAUCCGUG
GAAGAUGGAACCGCUGGAGAGCAACUGCAUAAGGCUAUGAAGAGAUACG

CCCUGGUUCCUGGAACAAUUGCUUUUACAGAUGCACAUUUCGAGGUGGA
CAUCACUUACGCUGAGUACUUCGAAAUGUCCGUUCGGUUGGCAGAAGCU
AUGAAACGAUAUGGGCUGAAUACAAAUCACAGAAUCGUCGUAUGCAGUG
AAAAUCUCUCUCAAUUCUUUAUGCCGGUGUUGGGCGCGUUAUUUAUCGG
5 AGUUGCAGUUGCGCCCCGCGAACGACAUUUUAUAAUGAACGUGAAUUGCUC
AACAGUAUGGGCAUUUCGCAGCCUACCGUGGUGUUCGUUUCCAAAAAGG
GGUUGCAAAAAAUUUUGAACGUGCAAAAAAGCUCCCAAUCAUCCAAAA
AAUUAUUUAUCAUGGAUUCUAAAACGGAUUACCAGGGAUUUCAGUCGAUG
UACACGUUCGUCACAUUCUACUACCUCGCCGUUUUAUUGAAUACGAUUU
10 UGUGCCAGAGUCCUUCGAUAGGGACAAGACAAUUGCACUGAUCAUGAAC
UCCUCUGGAUCUACUGGUCUGCCUAAAGGUGUCGCUCUGCCUCAUAGAAC
UGCCUGCGUGAGAUUUCUGCAUGCCAGAGAUCCUAAUUUUGGCAAUCAA
AUCAUCCGGAUACUGCGAUUUUAAGUGUUGUCCAUCUCCAUACCGGUU
UUGGAAUGUUUACUACACUCGGAUAAUUGAUUUGUGGAUUUCGAGUCGU
15 CUUAAUGUAUAGAUUUUGAAGAAGAGCUGUUUCUGAGGAGCCUUCAGGAU
UACAAGAUUCAAGUGCGCUGCUGGUGCCAACCCUAAUUCUCCUUCUUCGC
CAAAAGCACUCUGAUUGACAAAUACGAUUUAUCUAAUUUACACGAAAUU
GCUUCUGGUGGGCGCUCUCCUUAAGGAAGUCGGGGAAGCGGUUGCCAA
GAGGUUCCAUCUGCCAGGUUACAGGCAAGGAUAUGGGCUCACUGAGACU
20 ACAUCAGCUAUUCUGAUUACACCCGAGGGGGAUGAUAAACCGGGCGCGG
UCGGUAAAGUUGUCCAUUUUUUGAAGCGAAGGUUGUGGAUCUGGAUAC
CGGGAACGCUGGGCGUUAUCAAAGAGGCGAACUGUGUGUGAGAGGU
CCUAUGAUUAUGUCCGUUAUGUAAACAAUCCGGAAGCGACCAACGCCUU
GAUUGACAAGGAUGGAUGGCUACAUUCUGGAGACAUAGCUUACUGGGAC
25 GAAGACGAACACUUCUUCUUCGUUGACCGCCUGAAGUCUCUGAUUAAGU
ACAAAGGCUAUCAGGUGGCUCUCCGCGUGAAUUGGAAUCCAUCUUGCUCCAA
CACCCCAACAUCUUCGACGCAGGUGUCGCAGGUCUUCUCCGACGAUGACGC
CGGUGAACUUCUCCGCCGCCGUUGUUGUUUUGGAGCACGGAAGACGAUG
ACGGAAGAAAGAGAUUCGUGGAUUACGUCGCCAGUCAAGUAACAACCGCGA
30 AAAAGUUGCGCGGAGGAGUUGUGUUUUGUGGACGAAGUACCGAAAGGUCU
UACCGGAAAACUCGACGCAAGAAAAAUACAGAGAGAUCCUCAUAAAGGCC
AAGAAGGGCGGAAGAUCGCCGUGGAUUACAAGGAUGACGACGAUUAAGU
AAGGGCCUCUGCCGUGGGCCUGUCGUGCCAGUCCUGGGGGCGGAGAUCCG
GAGAAUCACGUCCUGGAACUGCAUGUUCUUGCGACUCUUGGGACUUCAUC
35 UUAACUUCUCGCUGCCCCAGCCAUGUUUUAACCAUGGCAUCCUCCCCC
AAUUAGUUCUUGUCAUCCUCGUCAACCUUCUCUGUAAGUGCCUGGUAAG
CUUGCCCUUGCUUAAGAACUCAAAACAUAGCUGUGCUCUACCGCGGAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAA
AA
40 AAAAAAA

SEQ ID NO:26

权利要求书:

1. 一种药物组合物, 其包含载体, 所述载体包含有阳离子脂质, 所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐, 阳离子脂质与载体摩尔百分比大于等于 10%, 且小于 50%.



I。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物, 其中所述载体还含有非阳离子脂质, 所述非阳离子脂质选自磷脂、胆固醇或其衍生物中的至少一种。

3. 根据权利要求 2 所述的药物组合物, 其中所述磷脂选自 1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DUPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-二-O-十八碳烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(18:0 Diether PC)、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(OChemsPC)、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺(DMPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-硬脂酰乙醇胺(SOPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱(SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)以及其混合物, 优选 1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)或 1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)。

4. 根据权利要求 2 或 3 所述的药物组合物, 其中所述磷脂的含量占载体摩尔量的 5~40%, 优选 10~20%, 例如 10%。

5. 根据权利要求 2-4 任一项所述的药物组合物，其中所述胆固醇或其衍生物占载体摩尔量的 30~60%，优选 35~45%，例如 40.5%。

5 6. 根据权利要求 1-5 任一项所述的药物组合物，其中所述载体还含有缀合脂质，所述缀合脂质优选 PEG 修饰的磷脂酰乙醇胺、PEG 修饰的磷脂酸、PEG 修饰的神经酰胺、PEG 修饰的二烷基胺、PEG 修饰的二酰基甘油、PEG 修饰的二烷基甘油，更优选二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺聚乙二醇 2000 (DSPE-PEG2000)，二肉豆蔻酰甘油-3-甲氧基聚乙二醇 2000 (DMG-PEG2000) 和甲氧基聚乙二醇双十四烷基乙酰胺 (ALC-0159)。

10

7. 根据权利要求 6 所述的药物组合物，其中所述缀合脂质占载体摩尔量的 0.5~4%，优选 1.5~2.5%，例如 1.5%。

15 8. 根据权利要求 1-7 任一项所述的药物组合物，其中含有活性剂，所述活性剂选自核酸，优选核糖核酸或脱氧核糖核酸，更优选小干扰 RNA、微 RNA、小发卡 RNA、信使 RNA (mRNA)、环状 RNA、自复制 RNA 以及其混合物。

9. 根据权利要求 8 所述的药物组合物，所述 mRNA 包含开放阅读框(ORF)，
20 所述 ORF 编码蛋白或多肽；

优选地，所述 mRNA 还包含 5' 非翻译区元件(5' UTR)、3' 非翻译区元件(3' UTR)、多聚腺苷酸(poly-A)尾的任一或其任意组合；

优选地，所述 mRNA 还包含 5' 帽结构(5'Cap)。

25 10. 根据权利要求 9 所述的药物组合物，其中，所述蛋白或多肽为抗原，
优选地，所述抗原选自病毒抗原、细菌抗原、癌抗原；

更优选地，所述病毒毒株选自流感病毒、冠状病毒、水痘带状疱疹病毒(VZV)、
呼吸道合胞病毒(RSV)。

30 11. 根据权利要求 10 所述的药物组合物，其中，所述抗原为水痘带状疱疹病毒(VZV)糖蛋白 E(gE)蛋白，其氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:25 中任一项所示；

优选地，所述抗原的核苷酸序列如 SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:8 中任一项所示；

更优选地，所述 mRNA 的核苷酸序列如 SEQ ID NO: 13-SEQ ID NO:20 中任一
35 项所示。

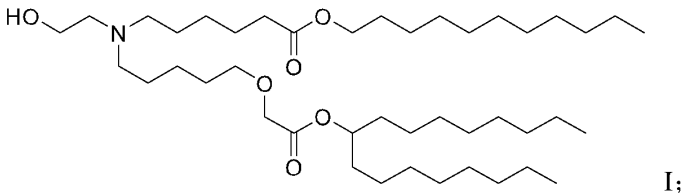
12. 根据权利要求 9 所述的药物组合物，其中，所述蛋白或多肽为肝细胞生长

因子(HGF)、抗体或其抗原结合片段。

13. 根据权利要求 1-12 任一项所述的药物组合物，其中含有

a) 活性剂，优选 mRNA；

5 b) 阳离子脂质，所述阳离子脂质包含式 I 所示化合物或其可药用盐，所述阳离子脂质与载体摩尔百分比大于等于 10 %，且小于 50 %，



c) 非阳离子脂质，所述非阳离子脂质选自磷脂和胆固醇或其衍生物，其中所述磷脂占载体摩尔量的 5~40%，所述胆固醇或其衍生物占载体摩尔量的 30~60%；

10 和 d) 缀合脂质，所述缀合物占载体的摩尔百分含量为 0.5~4%。

14. 根据权利要求 1-13 任一项所述的药物组合物，其为纳米颗粒制剂，所述纳米颗粒制剂的平均粒径为 10nm~220nm。

15 15. 一种冻干制剂，其由权利要求 1-14 任一项所述的药物组合物经冷冻干燥获得。

16. 一种复溶溶液，其由权利要求 15 所述的冻干制剂经复溶的步骤获得，其复溶所用溶剂优选注射用水。

20

17. 制备权利要求 1-14 任一项所述的药物组合物的方法，包括：将阳离子脂质、非阳离子脂质和缀合脂质在有机溶剂中混合的步骤。

18. 权利要求 1-14 任一项所述的药物组合物、权利要求 15 所述的冻干制剂或、
25 权利要求 16 所述的复溶溶液在制备用于在哺乳动物体内引起保护性免疫应答的药物中用途，优选制备疫苗的用途。

19. 权利要求 1-14 任一项所述的药物组合物、权利要求 15 所述的冻干制剂或、
30 权利要求 16 所述的复溶溶液在制备用于在哺乳动物中治疗疾病或功能障碍的药物中用途，所述疾病优选病毒感染、癌症。