[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710005099.4

[51] Int. Cl.
C07K 14/025 (2006.01)
C12N 15/37 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 8 月 20 日

[11] 公开号 CN 101245099A

[51] Int. Cl. (续)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
G01N 33/569 (2006.01)

[22] 申请日 2007.2.14

[21] 申请号 200710005099.4

[71] 申请人 马润林

地址 100107 北京市朝阳区万科星园 9 号楼 1505 室

共同申请人 陈小江

[72] 发明人 马润林 陈小江

权利要求书 2 页 说明书 40 页 附图 2 页

[54] 发明名称

重组人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白的氨基酸序列及其应用

[57] 摘要

本发明涉及重组人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白的氨基酸序列，编码该氨基酸序列的核苷酸序列，和包含所述核苷酸序列的重组载体和表达宿主。 本发明还涉及由该氨基酸序列所组成的 HPV L1 蛋白在制备疫苗、药物组合物和诊断抗原或抗体中的应用。本发明通过对 HPV L1 野生型序列的改造，使得在原核系统中表达的重组 HPV L1 衣壳蛋白能溶于水，而且表达得到的是与 HPV L1 的 VLP 具有相同免疫原性和抗原性的 L1 五聚体。 本发明使得利用原核表达系统工业生产 HPV L1 衣壳蛋白成为现实，相对于目前采用的真核表达系统具有产品质量更稳定、产率更高、成本低、质量控制方便的优点，具有重大的经济效益和社会效应。

1、一种重组人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白的氨基酸序列，其特征在于将野生型 HPV L1 蛋白的氨基酸序列 N-末端的保守序列 VYLPP 或 VYVPP 上游的氨基酸序列替换成 GSGGG，同时在其 C-末端的保守序列 LGRKFL 下游第 5 个氨基酸处通过引入蛋白质翻译的终止密码子形成相对于野生型的截短型序列，其中所述的 HPV 型选自 HPV6、HPV11、HPV16、HPV18、HPV 26、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV42、HPV45、HPV 51、HPV 52、 HPV 53、 HPV 56、HPV58、HPV 59、 HPV 66、HPV 73、 HPV 82 中的一种或多种。

2、根据权利要求 1 所述的氨基酸序列，其中 HPV6 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，HPV11 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示，HPV16 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 所示，HPV18 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 所示，HPV 26 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:5 所示，HPV31 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:6 所示，HPV33 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:7 所示，HPV35 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:8 所示，HPV39 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 所示，HPV42 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:10 所示，HPV45 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示，HPV 51 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:12 所示， HPV 52 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:13 所示， HPV 53 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:14 所示， HPV 56 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:15 所示，HPV58 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:16 所示，HPV 59 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:17 所示，HPV 66 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:18 所示，HPV 73 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:19 所示， HPV 82 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:20 所示。

3、一种核酸分子，其特征在于它包含编码权利要求 1 所述的氨基酸序列的核苷酸序列。

4、一种表达载体，其特征在于它包含权利要求 3 所述的核苷酸序列。

5、一种宿主细胞，其特征在于它包含权利要求 4 所述的载体。

6、根据权利要求 5 所述的宿主细胞，其特征在于它为大肠杆菌细胞。

7、一种 HPV L1 蛋白的五聚体，其特征在于它的一级结构由权利要求 1 所述的氨基酸序列所组成，其二级结构和高级结构由上述一级结构所决定。

8、根据权利要求 7 所述的 HPV L1 蛋白的五聚体在制备预防 HPV 感染的疫苗中的应用。

9、根据权利要求 8 所述的应用，其特征在于用于制备所述的预防 HPV 感染的疫苗的 HPV 型包括 HPV16。

10、根据权利要求 8 所述的应用，其特征在于用于制备所述的预防 HPV 感染的疫苗

的 HPV 型包括 HPV6、HPV11、HPV16、HPV18 和 HPV33。

11、根据权利要求 7 所述的 HPV L1 蛋白的五聚体在制备药物组合物中的应用。

12、根据权利要求 7 所述的 HPV L1 蛋白的五聚体在制备免疫诊断抗原或抗体中的应用。

重组人乳头瘤病毒L1衣壳蛋白的氨基酸序列及其应用

技术领域

本发明涉及人乳头瘤病毒感染的预防和治疗领域。具体地，本发明涉及重组人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白的氨基酸序列，编码该氨基酸序列的核苷酸序列，以及包含这些核苷酸序列的载体和宿主细胞，本发明还涉及由该氨基酸序列所组成的 HPV L1 蛋白五聚体在制备疫苗、药物组合物、诊断抗原或抗体中的应用。

背景技术

乳头瘤病毒(*Papilloma virus*)是一大类侵染人类和其他动物的 DNA 病毒。其中人乳头瘤病毒(*Human papilloma virus*; HPV)与人类的多种疾病相关，这些疾病包括良性疣和癌症。

乳头瘤病毒含有两个用于保护病毒染色体的结构蛋白（或衣壳蛋白），分别为 L1 和 L2。360 个 L1 蛋白分子或 72 个 L1 五聚体形成病毒颗粒的外壳；L2 位于 L1 外壳的内部，又称内衣壳蛋白，通常每一个 L2 分子与一个 L1 五聚体相联。因此，L1 和 L2 是重要的候选免疫原。

由于乳头瘤病毒在长期进化过程中所形成的寄主专化性，该病毒很难通过常规的细胞培养来繁殖扩增，必须用基因重组的方法来生产该病毒衣壳蛋白。到目前为止，通过基因重组规模表达目标基因有两个基本选择：原核表达与真核表达。其中，原核表达相对于真核表达而言，具有产率高、成本低、系统相对简单和技术相对成熟的优点。

但是，原核表达技术也存在着缺陷：分子量大的生物大分子的活性表达相对困难，尤其是高等动物及人类的很多基因的生物活性表达更为困难。困难的根本原因在于原核表达的宿主是低等的大肠杆菌等原核生物，基因表达时对表达产物多肽的加工、修饰元件及修饰过程与高等生物有着重要区别，表达人类等高等生物基因时，容易导致目标蛋白分子的二级或高级结构发生错误折叠，造成不正确的分子构象，从而影响或丧失表达产物的生物活性。

人乳头瘤病毒是人类及其它高等哺乳动物的专性寄生病毒，自身没有基因表达系统，其全部基因的表达完全依赖其寄主——高等真核生物的蛋白表达、翻译、加工和修饰体系。因此，在原核生物中表达象 L1 衣壳蛋白这样的基因时，往往因为分子折叠及构象发生错误而丧失生物活性。例如，未加修饰的 L1 蛋白在大肠杆菌中表达时，表达产物常常形成不溶于水的包含体而沉淀。沉淀的 L1 蛋白目前无法使其回复生物活性，即无法恢复成分子构象正确的可溶性蛋白。

原核系统表达高等生物基因的这些缺陷在一定程度上阻止了其巨大优势的发挥，是目前发酵工业还没有全部使用原核发酵的主要原因之一。为了生产一些具有重要生物活性的多态类药物或生物制剂，人们不得不采用成本较高的、也较复杂的真核发酵方法。

解决上述问题的办法之一是在深入研究的基础上，对目标基因表达产物的序列进行仔

细分析，在不影响和改变蛋白分子三维结构的基础上，对目标基因进行一定的修饰，使其能够在大肠杆菌等原核细胞中实现可溶性表达。

在实现乳头瘤病毒 L1 蛋白原核活性表达的基础上，表达的 L1 蛋白分子能够形成正确的分子构象而可溶于水。可溶的 L1 分子由于三维构象的缘故能够自动进行分子聚合，形成 L1 蛋白分子的多聚体。其中一种聚合方式是形成 L1 蛋白分子的五聚体。

在自然条件下，寄生于人体或其它哺乳动物上皮细胞的乳头瘤病毒在寄主细胞衰老及行将死亡前大量繁殖。繁殖时，病毒在启动自身基因组 DNA 复制的同时启动 L1 衣壳蛋白基因在寄主细胞中的表达，表达后的 L1 蛋白自动形成五聚体结构，然后这些五聚体自身进一步自动聚合，最后由 72 个五聚体形成一个野生病毒颗粒，每个病毒颗粒内部储藏一套病毒的 DNA 分子。

人体对任何入侵病毒的识别主要是识别病毒表面的衣壳蛋白分子，没有例外。人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白的五聚体分子表面构成了人体的抗原识别表位（即抗原表位）。在病毒被识别后，人体产生特异抗体来中和病毒，对抗病毒的感染和危害。为了诱导人体产生对抗乳头瘤病毒的特异抗体，我们通过生物工程的方法表达和纯化病毒的衣壳蛋白，并以纯化的 L1 蛋白作为抗原来生产疫苗。

重组 L1 蛋白五聚体本身就具备完整的抗原表位，因此就可以作为抗原用来制备疫苗。但在生产的过程中，部分 L1 五聚体可以自动聚合形成与野生病毒颗粒大小完全一样的类病毒颗粒（VLP，virus like particle）。VLP 的免疫原性及抗原性与 L1 五聚体没有实质区别。

为了降低生产成本，实现乳头瘤病毒抗原的原核表达，有必要通过基因改造控制 L1 蛋白 VLP 的形成，这样有利于使抗原分子的大小均匀一致，便于质量控制，也有利于提高产率。

发明内容

（一）要解决的技术问题

本发明的目的是提供一种重组人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白的氨基酸序列，使得在原核系统中表达的人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白能溶于水，同时控制 L1 五聚体的进一步聚合；本发明的又一目的是提供上述重组人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白氨基酸序列的应用。

（二）技术方案

本发明所述的人乳头瘤病毒衣壳蛋白 L1 的重组氨基酸序列，是将野生型 HPV L1 蛋白的氨基酸序列 N-末端的保守序列 VYLPP 或 VYVPP 上游的氨基酸序列替换成 GSGGG，同时在其 C-末端的保守序列 LGRKFL 下游第 5 个氨基酸处通过引入蛋白质翻译的终止密码子形成相对于野生型的截短型序列，其中所述的 HPV 型选自 HPV6、HPV11、HPV16、HPV18、HPV 26、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV42、HPV45、HPV 51、 HPV 52、 HPV 53、 HPV 56、HPV58、HPV 59、 HPV 66、HPV 73、 HPV 82 中的一种或多种。

上述不同型 HPV 的野生型 L1 蛋白的氨基酸序列对应的 Genebank 登陆号分别为：HPV6-NC_000904 ， HPV11-NC_001525 ， HPV16-AF402678 ， HPV18-AY262282 ，HPV26-NC_001583 ， HPV31-NC_001527 ， HPV33-NC_001528 ， HPV35-NC_001529 ，HPV39-NC_001535 ， HPV42-NC_00153 ， HPV45-NC_001590 ， HPV51-NC_001533 ，HPV52-NC_001592 ， HPV53-NC_001593 ， HPV56-NC_001594 ， HPV58-NC_001443 ，HPV59-NC_001635， HPV66- NC_001695，HPV73-X94165，HPV82-AF293961。

采用上述策略进行改造后，不同型 HPV 对应的重组氨基酸序列分别为：HPV6 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，HPV11 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示，HPV16 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 所示，HPV18 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 所示，HPV 26 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:5 所示，HPV31 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:6 所示，HPV33 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:7 所示，HPV35 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:8 所示，HPV39 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 所示，HPV42 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:10 所示，HPV45 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示，HPV 51 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:12 所示，HPV 52 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:13 所示， HPV 53 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:14 所示， HPV 56 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:15 所示，HPV58 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:16 所示，HPV 59 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:17 所示，HPV 66 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:18 所示，HPV 73 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:19 所示，HPV 82 对应的氨基酸序列如 SEQ ID NO:20 所示。

采用上述策略进行改造后，在原核系统中表达时得到的是 HPV L1 蛋白的五聚体，而且该五聚体能溶于水，即 HPV L1 蛋白实现了正确的空间折叠，具备了生物活性。

由于编码不同型 HPV L1 蛋白的 DNA 序列均具有较高的保守性，所以上述改造策略适用于所有的 HPV 型，得到的表达产物均为具备生物活性的 HPV L1 蛋白五聚体。

本发明还涉及包含编码上述氨基酸序列的核苷酸序列的核酸分子，编码上述氨基酸序列的核苷酸序列的共同特征是表达得到的产物具有与野生型 HPV L1 蛋白相同的免疫特性。所述核酸分子包括但不限于以下形式：编码上述氨基酸序列的核苷酸序列与编码 HPV 前期蛋白（如：E6/E7）的核酸序列组成的融合序列。

本发明也涉及包含上述核苷酸序列的表达载体，这些载体是通过将上述核酸序列克隆到包含合适启动子和其它合适转录表达调控原件的连接载体中得到的，其中用于连接的载体包括商业上可获得的质粒、细菌噬菌体和粘粒。优选地，用于连接的载体选自 pGEX-4T-1、pGEX-4T-2、pGEX-4T-3、pET-28a、pcDNA3.1 或任何其它可用于原核表达的表达质粒。更优选地，用于连接的载体选自 pGEX-4T-2。这里用到的分子克隆方法具体操作参见《分子克隆》（第三版，科学出版社，2002 年 8 月出版）。

本发明还涉及包含上述表达载体的宿主细胞，这些宿主细胞可选自大肠杆菌、昆虫细

胞、酵母细胞中的一种或几种。优选地，宿主细胞选自大肠杆菌。

本发明进一步涉及 HPV L1 蛋白五聚体，该五聚体蛋白的单体的一级结构由上述重组氨基酸序列所组成，其二级结构和高级结构由其一级结构所决定的。

本发明还提供了生产上述 HPV L1 蛋白五聚体的方法，它包括如下步骤:

（1）将编码上述重组氨基酸序列的核苷酸序列克隆到连接载体上，转化大肠杆菌;

（2）发酵培养上述大肠杆菌，并表达 HPV L1 蛋白;

（3）分离、纯化表达产物，得到 HPV L1 蛋白五聚体。

本发明进一步涉及包含一种或多种上述重组 HPV L1 蛋白五聚体的疫苗，该疫苗可应用于制备预防 HPV 感染的疫苗。

优选地，本发明所述的疫苗包含 HPV16 的重组 HPV L1 蛋白五聚体，该五聚体蛋白的单体的一级结构由 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列所组成。

更优选地，本发明所述的疫苗包含五种重组 HPV L1 蛋白五聚体，对应的 HPV 型分别为 HPV6、HPV11、HPV16、HPV18 和 HPV33，这五种 HPV L1 蛋白五聚体的单体的一级结构分别由 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列所组成。

本发明所述的疫苗的形式也可以是包含 HPV L1 蛋白五聚体+L2 蛋白的组合蛋白。上述疫苗的免疫组分也包括一种生理上可接受的载体，包括但不限于能保持 HPV L1 蛋白五聚体完整性的简单低浓度盐溶液，例如 10mM NaCl，0.1mM EDTA；或者更大范围上讲，载体包括代谢缓慢的大分子如蛋白质、多糖、聚乳糖酸、聚甘油酸、复合氨基酸、以及失活病毒粒子等。药理上适用的盐也可在 HPV L1 蛋白五聚体的复合物中使用。例如，矿物盐象盐酸盐，溴化盐、磷酸盐、硫酸盐等；有机盐类如乙酸盐、甘露糖、苯甲酸等。免疫组分还包括液体，如水、生理盐水、甘油、酒精，以及其他一些物质如可湿剂、乳化剂、和 pH 缓冲剂。

将上述重组 HPV L1 蛋白五聚体或 HPV L1 蛋白五聚体+L2 蛋白的组合蛋白以免疫有效剂量接种给人体后，可引诱人体产生对这些重组蛋白的免疫反应。人体的这种特异免疫反应可帮助人体预防人乳头瘤病毒的入侵或中和清除已经入侵的人乳头瘤病毒。由重组 HPV L1 蛋白五聚体或 HPV L1 蛋白五聚体+L2 蛋白的组合蛋白制备的疫苗可采用多种方法作用于人体，包括静脉、肌肉和皮下注射。本发明所述的疫苗在能引发对 L1 蛋白免疫反应的有效剂量的范围使用。用于增强免疫反应的复合物的特定剂量依照 L1 复合物不同而变化。一般而言，L1 五聚体的用量大约在 1-500μg/Kg 体重之间。上述剂量范围并不排除更高或更低剂量的可能。例如，具体的剂量会根据是否环伴有其他药物剂量而定，或取决于个人的药代动力学、药物积累和代谢速率。

本发明还涉及包含上述重组 HPV L1 蛋白五聚体的药物组合物。该药物组合物包括但

不限于下列形式：例如包含重组 HPV L1 蛋白五聚体、HPV E6/E7 蛋白及其它药物上可接受的辅料的药物组合物。

本发明还进一步公开了上述重组 HPV L1 蛋白五聚体在制备 HPV 病毒免疫诊断抗原或抗体中的应用。上述重组 HPV L1 蛋白五聚体可以用来产生对 HPV L1 蛋白有特异亲和力的抗体。这些抗体可以被用来直接检测生物样品中是否存在或与特定病理阶段相联系的特定 HPV 型。HPV L1 蛋白五聚体还能在免疫测定中用来检测生物样品中是否存在 HPV 病毒的抗体或抗原。包括特异结合到 L1 蛋白的单链抗体在内的多克隆或单克隆抗体能够被本领域技术人员用成熟的技术生产出来。这些由特异抗原例如 HPV 不同亚型引诱产生的抗体具有识别特定的 HPV 亚型的特异性，例如 HPV16 和 HPV18 型。

利用抗体反应的免疫测定来检测 L1 蛋白包括 ELISAs、Western blot、放射免疫测定、免疫组化测定、免疫沉淀或其他方法。抗体和 L1 五聚体都可作为检测标记，例如酶联免疫、放射标记、荧光或化学荧光。抗体或 L1 五聚体可以固定在某个固体支持物上，例如玻璃或塑料波片，组织培养板、多孔板、试管、交换拄、交换柱填充物、蛋白；或者颗粒上如微球体，包括但不限于乳胶、聚苯乙希或玻璃球；或者薄膜上如醋酸纤维或尼龙膜。偶联蛋白组分的方法为本领域技术人员所熟知。只要不防碍抗体原抗体特异结合的能力，任何偶联方式都可使用。生物样品可以是任何被怀疑含有 HPV 病毒的样品，例如组织活检、涂片、组织切样如皮肤、子宫、生殖上皮细胞、喉、上呼吸道、结膜或口腔内组织。

（三）有益效果

本发明通过对 HPV L1 野生型序列的改造，使得在原核系统中表达的重组 HPV L1 衣壳蛋白实现了正确的空间折叠，能溶于水，解决了目前利用原核系统中表达的 HPV L1 衣壳蛋白都是不溶于水的包含体（没有生物活性）的难题，打破了用原核表达系统生产 HPV L1 衣壳蛋白的瓶颈。不仅如此，本发明还有效控制了 HPV L1 蛋白的聚合程度，表达得到的是与 HPV L1 的 VLP 具有相同免疫原性和抗原性的 L1 五聚体，L1 五聚体相对于 L1 的 VLP 而言具有结构更稳定、大肠杆菌表达更容易实现的优点。

本发明使得利用原核表达系统工业生产 HPV L1 衣壳蛋白成为现实，相对于目前采用的真核表达系统具有产品质量更稳定、产率更高、成本低、质量控制方便的优点，具有重大的经济效益和社会效应。

附图说明

图1是重组改造后得到的HPV16 L1衣壳蛋白的SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳，图中泳道1表示marker，泳道2和泳道3表示蛋白清液，泳道4和泳道5表示树脂吸附的目的蛋白，泳道6、泳道7和泳道8表示酶切后的树脂，泳道9表示目的蛋白洗脱液；

图2是重组改造后得到的HPV16 L1衣壳蛋白的液相色谱图；

图3是HPV16 L1蛋白的电镜照片比较，其中图3（a）表示HPV16 L1 的VLP电镜照片，

图3（b）表示重组改造后得到的HPV16 L1五聚体电镜照片。

具体实施方式

以下实施例用于说明本发明，但不用来限制本发明的范围。

实施例1 以HPV16型为例说明对HPV L1衣壳蛋白氨基酸序列的重组改造

1、人乳头瘤病毒16型（HPV16）DNA的检测和分离：可能含有野生型HPV16病毒的临床细胞样本废弃物（用于常规细胞形态学检查的宫颈脱落细胞的剩余部分）购自北京市安贞医院妇科门诊。悬浮在1.0毫升水中的（约1 x 10^5个）脱落细胞经1000单位的蛋白酶K（购自华美生物制品有限公司）在摄氏55度处理300分钟，经10000g高速离心30分钟，所得上清液可用于检测是否存在HPV病毒。受感染的HPV16阳性细胞上清液可直接用于PCR扩增HPV16病毒DNA序列的目标基因片段。

2、HPV16型L1蛋白DNA的分子克隆：HPV16型L1衣壳蛋白基因由目标基因特异寡核苷酸引物对经DNA聚合酶链式反应（PCR）获得。经典的PCR反应体系包含20 ug DNA模板、1x PCR缓冲液、正向和反向特异引物（浓度均为0.2μM）、1.5mM镁离子、1.0 单位的TAQ DNA聚合酶。反应条件为：摄氏95度变性5分钟，经36个PCR循环放大（每一循环为94度30秒，55度30秒，72度2分钟），反应产物在72度下温育10分钟，然后停止反应。PCR反应的正向引物序列和反向引物序列见表1。PCR反应扩增放大的HPV16 L1 cDNA片段经TA克隆（具体操作参见《分子克隆》第三版，科学出版社，2002年8月出版）克隆到一个T－Easy vector质粒（购自美国Promega生物试剂公司）上。

3、HPV16 L1 蛋白基因的修饰：HPV 16 L1 蛋白的免疫源性及抗原性依赖于其正确的分子折叠所产生的正确三维构象。对 HPV16 L1 蛋白基因序列进行修饰的目的是增加重组目标基因原核表达时的可溶性，从而利用 *E. coli* 生产出具有生物活性的 L1 蛋白。基因改造的基本步奏是设计特异引物，然后利用以特异引物为模板 PCR 扩增放大 L1 目的基因片段。改造后的重组 HPV16 L1 蛋白基因 DNA 序列在其 5’－端包含有 *Bam*H I 限制性酶切位点，同时含有编码 GSGGG 的 DNA 密码子以取代编码氨基酸序列 N-末端的保守序列 VYLPP 上游氨基酸的密码子。 用于改造的正向引物序列和反向引物序列见表 1。下游引物引入终止密码子 UAA，导致 L1 cDNA 在 3’－端减少约 25 个氨基酸。PCR 反应体系包含 20 ug DNA 模板、1x PCR 缓冲液、正向和反向特异引物（浓度均为 0.2μM）、1.5mM 镁离子、1.0 单位的 TAQ DNA 聚合酶。反应条件为：摄氏 95 度变性 5 分钟，经 36 个 PCR 循环放大（每一循环为 94 度 30 秒，55 度 30 秒，72 度 2 分钟），反应产物在 72 度下温育 10 分钟，然后停止反应。

PCR反应扩增放大的HPV16 L1 cDNA产物经*Bam*HI和*Xho*I限制性酶酶切形成黏性末端，同时表达质粒pGEX-4T-2 （购自华美生物制品有限公司）DNA用BamHI和XhoI酶切消化，再用T4连接酶（购自美国Promega生物试剂公司）连接PCR产物和表达质粒。连接产物经电转化转移到大肠杆菌BL21（购自华美生物制品有限公司）宿主细胞内（电转化

的具体操作参见《分子克隆》第三版，科学出版社，2002年8月出版）。

4、L1蛋白的原核表达和检测：载有HPV16 L1基因插入片段的表达质粒导入大肠杆菌BL21细胞之后，使用LB培养基（配方见《分子克隆》第三版，科学出版社，2002年8月出版）进行37度培养，菌种接入后生长12小时开始用表达诱导剂IPTG（购自美国Promega公司）诱导，9小时后收获细胞，细胞用Niro Soavi NS2006型高压匀质机在800bar下重复破碎细胞2次，显微镜检查细胞破碎率达到90%以上。上清溶液中的L1蛋白用经亲和色谱纯化蛋白：预装谷胱甘肽-琼脂糖树脂（Amersham公司 生产的Glutathione Sepharose 4 B）色谱柱，取浓度为50% 的Glutathione Sepharose 4 B匀浆放入色谱柱中（每200ml蛋白清液需要5-10ml匀浆）。用5-10倍的柱床体积的缓冲液A(组分为：50 mmol/L Tric-HCl, 200mmol/L NaCl, 1mmol/L EDTA ,pH 8.0)洗涤树脂，将蛋白清液加入色谱柱中，与树脂混合均匀并在室温下作用20分钟后放出滤过液，用10倍柱床体积的缓冲液A洗涤树脂柱。

检测：用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳经密度扫描（具体操作见《分子克隆》第三版，科学出版社，2002年8月出版）检测目的蛋白的纯度（凝胶电泳结果见附图1），结果表达得到的HPV16 L1蛋白纯度高达95％。

再用液相分子排阻色谱法[用Amersham Biosciences生产的 AKTA FPLC过滤系统进行凝胶过滤色谱，凝胶过滤介质为Amersham生产的Hiload Superdex 200，流动相为pH7.4的磷酸盐缓冲盐溶液（成分见《分子克隆》第三版，科学出版社，2002年8月出版）]检测，结果见附图2，该图表明表达得到的HPV16 L1蛋白是可溶于水的，即具备了生物活性。

然后用电镜检查纯化的HPV16 L1蛋白，结果见附图3（b）,对比附图3（a）[HPV16 L1的VLP电镜照片]，可见得到的是HPV16 L1五聚体。

实施例2 其余HPV型的L1衣壳蛋白氨基酸序列的重组改造

其余HPV型的L1衣壳蛋白氨基酸序列的重组改造（包括HPV6、HPV11、HPV18、HPV 26、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV42、HPV45、HPV 51、 HPV 52、 HPV 53、HPV 56、HPV58、HPV 59、 HPV 66、HPV 73、 HPV 82）的操作步骤与检测方法均与实施例1相同，不同之处见表1。

表1

HPV型	克隆L1蛋白基因所用的引物对	L1蛋白基因的修饰所用的引物对 (正向引物不包括编码GSGGG氨基酸的Linker DNA序列)
HPV6	正向：5'-GCATTGCCTGACTCGTCTCT-3' 反向：5'-CATGTTGGTACTGCGTGTGG-3'	正向：5'-TCCTCCTAACCCTGTATCCAAAGTTG-3' 反向：5'-ATAGGTATCTAATGTACCATTTGG-3'
HPV11	正向：5'-TGTATCCAAGGTTGTTGCCA-3' 反向：5'-ACAGGTCATCAGGCACAGGT-3'	正向：5'-GATGCGTATGTTAAACGCACCAACAT-3' 反向：5'-AACCAAAGTTCCAGTCCTCCAAAAC-3'
HPV16	正向：5'-CCTCCTGTCCCAGTATCTAAGG-3' 反向：5'-CTTTAATCCTGCTTGTAGTAA-3'	正向：5'-GTCCCAGTATCTAAGGTTGTAAGC-3' 反向：5'-TAGTAAAAATTTGCGTCCTAAAGG-3'
HPV18	正向：5'-CCTCCTTCTGTGGCAAGAGT-3' 反向：5'-AAGTCCATGGCACCATATCC-3'	正向：5'-TGGCCCATTGTATCACCCACGGCCC-3' 反向：5'-CTTATTTTCAGCCGGTGCAGCATCC-3'

HPV26	正向：5'-GGTAGAGGACAGCCATTAGGC-3' 反向：5'-TGAAATATAAATTGTAATTC-3'	正向：5'-ATCTTCCTCCCACCCCTGTGTCTCGG-3' 反向：5'-CAGGTAGTAGCAGAGTTTTTAATAAAC-3'
HPV31	正向：5'-TGCTTACAGTAGGCCATCCA-3' 反向：5'-CCAACCGTGCCTGATCTATT-3'	正向：5'-CACCTGTCCCAGTGTCTAAAGTTGTA-3' 反向：5'-AATTAACCTACCCAAAATACATAATCT-3'
HPV33	正向：5'-CCACAGTGTACCTGCCTCCT-3' 反向：5'-GACCTTGTGCACGTTGTAGC-3'	正向：5'-CTGCCTCCTGTACCTGTATCTAAAG-3' 反向：5'-AAACTGATCTAAATCTGCTGAAAATT-3'
HPV35	正向：5'-CATGCAGGCAGTTCTAGGCT-3' 反向：5'-GTGCATCGGAGGTTACCATA-3'	正向：5'-CCTGCCTCCAGTGTCAGTGTCTAAG-3' 反向：5'-TTTACGGCCCAACGGAAACTGATCT-3'
HPV39	正向：5'-TTATGTTACACGCACAGGCA-3' 反向：5'-CACCATACCACCACGATTCC-3'	正向：5'-GCCTCCACCTTCTGTGGCGAAGG-3' 反向：5'-TTAAGTCAACATTCCAAAACTGAC-3'
HPV42	正向：5'-ATGTGCAACGCACCAACTAC-3' 反向：5'-CCATAGGCCTCAGCAGACAT-3'	正向：5'-ATCCTAGTTATTTTTGGCGTAGGCGC-3' 反向：5'-GAAATTGATCTAAATCAGTAGAAAAC-3'
HPV45	正向：5'-CACCTTCTGTGGCCAGAGTT-3' 反向：5'-AACAGTTGTTCACGGCGTAG-3'	正向：5'-TGGCTTTGTGGCGGCCTAGTGAC-3' 反向：5'-TTTATCATATGGATCCTGCTTTTC-3'
HPV51	正向：5'-GAATATATCACACGCACCGGCA-3' 反向：5'-TTGTGACCCTGCGCACGGTGG-3'	正向：5'-ACCTGTGTCTCGAATTGTGAATACA-3' 反向：5'-GAGGTAATGTTAATCCAAAATTCCAC-3'
HPV52	正向：5'-ATGCAGGCAGTTCTCGATTA-3' 反向：5'-CTCGCCATGACGAAGGTATT-3'	正向：5'-ACGTCGCAGGCGTAAACGTTTTCC-3' 反向：5'-CACCTCCCAAAAACATATAGTCCT-3'
HPV53	正向：5'-ATAGGGTGTTTAGAGTACGCC-3' 反向：5'-GGGGCGGTCCCTGCCATTAC-3'	正向：5'-CATTACAACGGATGCCTATGTA-3' 反向：5'-ATTCATATTCCTCTGCATGTC-3'
HPV56	正向：5'-TATCATGCAGGCAGTTCACG-3' 反向：5'-TCAGCCTTAGATTCCTGCAA-3'	正向：5'-CTCCTTTGCATTATGGCCTGTGTA-3' 反向：5'-GACATGTTATAGCTGTGCTTCTAAC-3'
HPV58	正向：5'-CACTGTGTACCTGCCTCCTG-3' 反向：5'-TATGACCTTGTGCACGCTGT-3'	正向：5'-AGATGTCCGTGTGGCGGCCTAG-3' 反向：5'-ACCTCCCAAAAAGTATATTTATTT-3'
HPV59	正向：5'-GGTAGCTAAGGTTGTCAGCAC-3' 反向：5'-CCTGATCTATTCCTTTTTAGT-3'	正向：5'-AGCTAAGGTTGTCAGCACTGATG-3' 反向：5'-CCAAAACTTTAGTTTGTCATAA-3'
HPV66	正向：5'-GATGACACTGAGGTCTCTAA-3' 反向：5'-TACAAATCTGTAGGAAGGGC-3'	正向：5'-ATGTAAAACGTACCAGTATATT-3' 反向：5'-TCCCAAAACTTATATTTAGCCA-3'
HPV73	正向：5'-AGGAGCGCCTAGTATGGGCC-3' 反向：5'-GATGGTGTTGCAGTATTGCC-3'	正向：5'-GTAGCACACGTTTGTTGGCTG-3' 反向：5'-TTAAGATCTACATCCCAAAAGG-3'
HPV82	正向：5'-CCTTTTGGGATGTAGATCTTAA-3' 反向：5'-TTTCAGTATCATCATACTTATTA-3'	正向：5'-ATAACCCGCACCGGCATATATTA-3' 反向：5'-ACGGTCCAAAACTTATATTTTG-3'

上述HPV型的L1衣壳蛋白氨基酸序列经重组改造后，得到的结果均与实施例1中得到的HPV16 L1衣壳蛋白相同，即均得到了可溶于水的L1五聚体。

序列表

<110> 马润林
陈小江

<120> 重组人乳头瘤病毒 L1 衣壳蛋白的氨基酸序列及其应用

<130> MA0702

<160> 20

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV6 L1

<400> 1

Gly Ser Gly Gly Gly Val Tyr Val Pro Pro Pro Asn Pro Val Ser Lys
1 5 10 15

Val Val Ala Thr Asp Ala Tyr Val Thr Arg Thr Asn Ile Phe Tyr His
20 25 30

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

Lys Arg Ala Asn Lys Thr Val Val Pro Lys Val Ser Gly Tyr Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Lys Val Val Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Ala Leu Pro
65 70 75 80

Asp Ser Ser Leu Phe Asp Pro Thr Thr Gln Arg Leu Val Trp Ala Cys
85 90 95

Thr Gly Leu Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Val Ser
100 105 110

Gly His Pro Phe Leu Asn Lys Tyr Asp Asp Val Glu Asn Ser Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Asn Pro Gly Gln Asp Asn Arg Val Asn Val Gly Met Asp Tyr
130 135 140

Lys Gln Thr Gln Leu Cys Met Val Gly Cys Ala Pro Pro Leu Gly Glu
145 150 155 160

His Trp Gly Lys Gly Lys Gln Cys Thr Asn Thr Pro Val Gln Ala Gly
165 170 175

Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Thr Ser Val Ile Gln Asp Gly Asp
180 185 190

Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asn Phe Ala Asp Leu Gln Thr
195 200 205

Asn Lys Ser Asp Val Pro Ile Asp Ile Cys Gly Thr Thr Cys Lys Tyr
210 215 220

Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ala Ala Asp Pro Tyr Gly Asp Arg Leu Phe
225 230 235 240

Phe Phe Leu Arg Lys Glu Gln Met Phe Ala Arg His Phe Phe Asn Arg
245 250 255

Ala Gly Glu Val Gly Glu Pro Val Pro Asp Thr Leu Ile Ile Lys Gly
260 265 270

Ser Gly Asn Arg Thr Ser Val Gly Ser Ser Val Tyr Val Asn Thr Pro
275 280 285

Ser Gly Ser Leu Val Ser Ser Glu Ala Gln Leu Phe Asn Lys Pro Tyr
290 295 300

Trp Leu Gln Lys Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp Gly Asn
305 310 315 320

Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn Met Thr
325 330 335

Leu Cys Ala Ser Val Thr Thr Ser Ser Thr Tyr Thr Asn Ser Asp Tyr
340 345 350

Lys Glu Tyr Met Arg His Val Glu Glu Tyr Asp Leu Gln Phe Ile Phe
355 360 365

Gln Leu Cys Ser Ile Thr Leu Ser Ala Glu Val Met Ala Tyr Ile His
370 375 380

Thr Met Asn Pro Ser Gly Leu Glu Asp Trp Asn Phe Gly Leu Ser Pro
385 390 395 400

Pro Pro Asn Gly Thr Leu Glu Asp Thr Tyr Arg Tyr Val Gln Ser Gln
405 410 415

Ala Ile Thr Cys Gln Lys Pro Thr Pro Glu Lys Glu Lys Pro Asp Pro
420 425 430

Tyr Lys Asn Leu Ser Phe Trp Glu Val Asn Leu Lys Glu Lys Phe Ser
435 440 445

Ser Glu Leu Asp Gln Tyr Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Leu Gln Ser
450 455 460

Gly
465

<210> 2
<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV11 L1

<400> 2

Gly Ser Gly Gly Gly Val Tyr Val Pro Pro Pro Asn Pro Val Ser Lys
1 5 10 15

Val Val Ala Thr Asp Ala Tyr Val Lys Arg Thr Asn Ile Phe Tyr His
20 25 30

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

Lys Lys Val Asn Lys Thr Val Val Pro Lys Val Ser Gly Tyr Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Lys Val Val Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Ala Leu Pro
65 70 75 80

Asp Ser Ser Leu Phe Asp Pro Thr Thr Gln Arg Leu Val Trp Ala Cys
85 90 95

Thr Gly Leu Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Val Ser
100 105 110

Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Tyr Asp Asp Val Glu Asn Ser Gly Gly
115 120 125

Tyr Gly Gly Asn Pro Gly Gln Asp Asn Arg Val Asn Val Gly Met Asp
130 135 140

Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Met Val Gly Cys Ala Pro Pro Leu Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Gly Lys Gly Thr Gln Cys Ser Asn Thr Ser Val Gln Asn
165 170 175

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Thr Ser Val Ile Gln Asp Gly
180 185 190

Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asn Phe Ala Asp Leu Gln
195 200 205

Thr Asn Lys Ser Asp Val Pro Leu Asp Ile Cys Gly Thr Val Cys Lys
210 215 220

Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ala Ala Asp Pro Tyr Gly Asp Arg Leu
225 230 235 240

Phe Phe Tyr Leu Arg Lys Glu Gln Met Phe Ala Arg His Phe Phe Asn
245 250 255

Arg Ala Gly Thr Val Gly Glu Pro Val Pro Asp Asp Leu Leu Val Lys
260 265 270

Gly Gly Asn Asn Arg Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Tyr Val His Thr
275 280 285

Pro Ser Gly Ser Leu Val Ser Ser Glu Ala Gln Leu Phe Asn Lys Pro
290 295 300

Tyr Trp Leu Gln Lys Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp Gly
305 310 315 320

Asn His Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn Met
325 330 335

Thr Leu Cys Ala Ser Val Ser Lys Ser Ala Thr Tyr Thr Asn Ser Asp
340 345 350

Tyr Lys Glu Tyr Met Arg His Val Glu Glu Phe Asp Leu Gln Phe Ile
355 360 365

Phe Gln Leu Cys Ser Ile Thr Leu Ser Ala Glu Val Met Ala Tyr Ile
370 375 380

His Thr Met Asn Pro Ser Val Leu Glu Asp Trp Asn Phe Gly Leu Ser
385 390 395 400

Pro Pro Pro Asn Gly Thr Leu Glu Asp Thr Arg Tyr Val Gln Ser Gln
405 410 415

Ala Ile Thr Cys Gln Lys Pro Thr Pro Glu Lys Glu Lys Gln Asp Pro
420 425 430

Tyr Lys Asp Met Ser Phe Trp Glu Val Asn Leu Lys Glu Lys Phe Ser
435 440 445

Ser Glu Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Leu Gln Ser
450 455 460

Gly
465

<210> 3
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV16 L1

<400> 3

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

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Ala Arg Thr Asn Ile Tyr Tyr His Ala
20 25 30

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

Lys Pro Asn Asn Asn Lys Ile Leu Val Pro Lys Val Ser Gly Leu Gln
50 55 60

Tyr Arg Val Phe Arg Ile His Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Phe
65 70 75 80

Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Thr Gln Arg Leu Val Trp Ala
85 90 95

Cys Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Ile
100 105 110

Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Asn Ala Ser
115 120 125

Ala Tyr Ala Ala Asn Ala Gly Val Asp Asn Arg Glu Cys Ile Ser Met
130 135 140

Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Ile Gly Cys Lys Pro Pro Ile
145 150 155 160

Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Ser Pro Cys Thr Asn Val Ala Val Asn
165 170 175

Pro Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Asn Thr Val Ile Gln Asp
180 185 190

Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Thr Thr Leu
195 200 205

Gln Ala Asn Lys Ser Glu Val Pro Leu Asp Ile Cys Thr Ser Ile Cys
210 215 220

Lys Tyr Pro Asp Tyr Ile Lys Met Val Ser Glu Pro Tyr Gly Asp Ser
225 230 235 240

Leu Phe Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg His Leu Phe
245 250 255

Asn Arg Ala Gly Ala Val Gly Glu Asn Val Pro Asp Asp Leu Tyr Ile
260 265 270

Lys Gly Ser Gly Ser Thr Ala Asn Leu Ala Ser Ser Asn Tyr Phe Pro
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Asp Ala Gln Ile Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

Gly Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Met Ser Leu Cys Ala Ala Ile Ser Thr Ser Glu Thr Thr Tyr Lys Asn
340 345 350

Thr Asn Phe Lys Glu Tyr Leu Arg His Gly Glu Glu Tyr Asp Leu Gln
355 360 365

Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Ala Asp Val Met Thr
370 375 380

Tyr Ile His Ser Met Asn Ser Thr Ile Leu Glu Asp Trp Asn Phe Gly
385 390 395 400

Leu Gln Pro Pro Pro Gly Gly Thr Leu Glu Asp Thr Tyr Arg Phe Val
405 410 415

Thr Gln Ala Ile Ala Cys Gln Lys His Thr Pro Pro Ala Pro Lys Glu
420 425 430

Asp Ser Leu Lys Lys Tyr Thr Phe Trp Glu Val Asn Leu Lys Glu Lys
435 440 445

Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Leu
450 455 460

Gln Ala Gly
465

<210> 4
<211> 469

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV18 L1

<400> 4

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

Val Asn Thr Asp Asp Tyr Val Thr Arg Thr Ser Ile Phe Tyr His Ala
20 25 30

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

Ala Gly Gly Gly Asn Lys Gln Asp Ile Pro Lys Val Ser Ala Tyr Gln
50 55 60

Tyr Arg Val Phe Arg Val Gln Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu
65 70 75 80

Pro Asp Thr Ser Ile Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Arg Leu Val Trp Ala
85 90 95

Cys Ala Gly Val Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Leu
100 105 110

Ser Gly His Pro Phe Tyr Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Ser Ser His
115 120 125

Ala Ala Thr Ser Asn Val Ser Glu Asp Val Arg Asp Asn Val Ser Val
130 135 140

Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Leu Gly Cys Ala Pro Ala Ile
145 150 155 160

Gly Glu His Trp Ala Lys Gly Thr Ala Cys Lys Ser Arg Pro Leu Ser
165 170 175

Gln Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Lys Asn Thr Val Leu Glu Asp
180 185 190

Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Tyr Gly Ala Met Asp Phe Ser Thr Leu
195 200 205

Gln Asp Thr Lys Cys Glu Val Pro Leu Asp Ile Cys Gln Ser Ile Cys
210 215 220

Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ser Ala Asp Pro Tyr Gly Asp Ser
225 230 235 240

Met Phe Phe Cys Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Ala Arg His Phe Trp
245 250 255

Asn Arg Ala Gly Thr Met Gly Asp Thr Val Pro Gln Ser Leu Tyr Ile
260 265 270

Lys Gly Thr Gly Met Arg Ala Ser Pro Gly Ser Cys Val Tyr Ser Pro
275 280 285

Ser Pro Ser Gly Ser Ile Val Thr Ser Asp Ser Gln Leu Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu His Lys Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Val Cys Trp
305 310 315 320

His Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Leu Thr Ile Cys Ala Ser Thr Gln Ser Pro Val Pro Gly Gln Tyr Asp
340 345 350

Ala Thr Lys Phe Lys Gln Tyr Ser Arg His Val Glu Glu Tyr Asp Leu
355 360 365

Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Thr Ile Thr Leu Thr Ala Asp Val Met
370 375 380

Ser Tyr Ile Gln Ser Met Asn Ser Ser Ile Leu Glu Asp Trp Asn Phe
385 390 395 400

Gly Val Pro Pro Pro Pro Thr Thr Ser Leu Val Asp Thr Tyr Arg Phe
405 410 415

Val Gln Ser Val Ala Ile Thr Cys Gln Lys Asp Ala Ala Pro Ala Glu
420 425 430

Asn Lys Asp Pro Tyr Asp Lys Leu Lys Phe Trp Asn Val Asp Leu Lys
435 440 445

Glu Lys Phe Ser Leu Asp Leu Asp Gln Tyr Pro Leu Gly Arg Lys Phe
450 455 460

Leu Val Gln Ala Gly
465

<210> 5
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV26 L1

<400> 5

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

Val Asn Thr Asp Glu Tyr Val Thr Arg Thr Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

Gly Ser Ser Arg Leu Leu Thr Leu Gly His Pro Tyr Phe Ser Ile Pro
35 40 45

Lys Thr Gly Gln Lys Ala Glu Ile Pro Lys Val Ser Ala Tyr Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Arg Val His Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu Pro
65 70 75 80

Asp Pro Gln Leu Tyr Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Val Trp Ala Cys
85 90 95

Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Ile Gly Leu Ser

100 105 110

Gly His Pro Leu Phe Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Asn Ser His Leu
115 120 125

Ala Thr Val Asn Ala Asp Thr Asp Asn Arg Asp Asn Val Ser Val Asp
130 135 140

Asn Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Ile Gly Cys Thr Pro Pro Leu Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Gly Ile Gly Thr Ile Cys Lys Asn Thr Gln Thr Gln Arg
165 170 175

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Ser Ser Ile Ile Glu Asp Gly
180 185 190

Asp Met Ile Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Thr Ala Leu Gln
195 200 205

Ala Thr Lys Ser Asp Val Pro Ile Asp Ile Ser Gln Ser Thr Cys Lys
210 215 220

Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Ser Ala Asp Thr Tyr Gly Asn Ser Met
225 230 235 240

Phe Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Ala Arg His Phe Tyr Asn
245 250 255

Lys Ala Gly Ala Val Gly Asp Ala Ile Pro Thr Thr Leu Tyr Ile Lys
260 265 270

Gly Ala Glu Ser Gly Arg Glu Pro Pro Thr Ser Ser Ile Tyr Ser Ala
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Asp Ala Gln Leu Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

Gly Asn Gln Leu Phe Val Thr Cys Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Leu Thr Ile Ser Thr Leu Ser Ala Ala Ser Ala Ser Thr Pro Phe Lys
340 345 350

Pro Ser Asp Tyr Lys Gln Phe Ile Arg His Gly Glu Glu Tyr Glu Leu
355 360 365

Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Thr Asp Val Met
370 375 380

Ala Tyr Ile His Leu Met Asn Ala Ser Ile Leu Glu Asp Trp Asn Phe
385 390 395 400

Gly Leu Thr Leu Pro Pro Thr Ala Ser Leu Glu Asp Ala Tyr Arg Phe
405 410 415

Ile Lys Asn Ser Ala Thr Thr Cys Gln Arg Asn Ala Pro Pro Val Pro
420 425 430

Lys Glu Asp Pro Phe Gln Lys Phe Lys Phe Trp Asp Val Asp Leu Lys
435 440 445

Glu Lys Phe Ser Ile Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe
450 455 460

Met Leu Gln Ala Gly
465

<210> 6
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV31 L1

<400> 6

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

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Thr Arg Thr Asn Ile Tyr Tyr His Ala
20 25 30

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

Lys Ser Asp Asn Pro Lys Lys Ile Val Val Pro Lys Val Ser Gly Leu
50 55 60

Gln Tyr Arg Val Phe Arg Val Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly
65 70 75 80

Phe Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Arg Leu Val Trp
85 90 95

Ala Cys Val Gly Leu Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly
100 105 110

Ile Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Phe Asp Asp Thr Glu Asn Ser
115 120 125

Asn Arg Tyr Ala Gly Gly Pro Gly Thr Asp Asn Arg Glu Cys Ile Ser
130 135 140

Met Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Leu Gly Cys Lys Pro Pro
145 150 155 160

Ile Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Ser Pro Cys Ser Asn Asn Ala Ile
165 170 175

Thr Pro Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Lys Asn Ser Val Ile Gln
180 185 190

Asp Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Thr Ala
195 200 205

Leu Gln Asp Thr Lys Ser Asn Val Pro Leu Asp Ile Cys Asn Ser Ile
210 215 220

Cys Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Val Ala Glu Pro Tyr Gly Asp
225 230 235 240

Thr Leu Phe Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg His Phe

245 250 255

Phe Asn Arg Ser Gly Thr Val Gly Glu Ser Val Pro Thr Asp Leu Tyr
260 265 270

Ile Lys Gly Ser Gly Ser Thr Ala Thr Leu Ala Asn Ser Thr Tyr Phe
275 280 285

Pro Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Asp Ala Gln Ile Phe Asn
290 295 300

Lys Pro Tyr Trp Met Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys
305 310 315 320

Trp Gly Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr
325 330 335

Asn Met Ser Val Cys Ala Ala Ile Ala Asn Ser Asp Thr Thr Phe Lys
340 345 350

Ser Ser Asn Phe Lys Glu Tyr Leu Arg His Gly Glu Glu Phe Asp Leu
355 360 365

Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Ser Ala Asp Ile Met
370 375 380

Thr Tyr Ile His Ser Met Asn Pro Ala Ile Leu Glu Asp Trp Asn Phe
385 390 395 400

Gly Leu Thr Thr Pro Pro Ser Gly Ser Leu Glu Asp Thr Tyr Arg Phe
405 410 415

Val Thr Ser Gln Ala Ile Thr Cys Gln Lys Thr Ala Pro Gln Lys Pro
420 425 430

Lys Glu Asp Pro Phe Lys Asp Tyr Val Phe Trp Glu Val Asn Leu Lys
435 440 445

Glu Lys Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe
450 455 460

Leu Leu Gln Ala Gly
465

<210> 7
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV33 L1

<400> 7

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

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Ser Arg Thr Ser Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

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

Asn Pro Thr Asn Ala Lys Lys Leu Leu Val Pro Lys Val Ser Gly Leu
50 55 60

Gln Tyr Arg Val Phe Arg Val Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly
65 70 75 80

Phe Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Thr Gln Arg Leu Val Trp
85 90 95

Ala Cys Val Gly Leu Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly
100 105 110

Ile Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Phe Asp Asp Thr Glu Thr Gly
115 120 125

Asn Lys Tyr Pro Gly Gln Pro Gly Ala Asp Asn Arg Glu Cys Leu Ser
130 135 140

Met Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Leu Gly Cys Lys Pro Pro
145 150 155 160

Thr Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Val Ala Cys Thr Asn Ala Ala Pro
165 170 175

Ala Asn Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Asn Thr Ile Ile Glu Asp
180 185 190

Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Cys Met Asp Phe Lys Thr Leu
195 200 205

Gln Ala Asn Lys Ser Asp Val Pro Ile Asp Ile Cys Gly Ser Thr Cys
210 215 220

Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Thr Ser Glu Pro Tyr Gly Asp Ser
225 230 235 240

Leu Phe Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg His Phe Phe
245 250 255

Asn Arg Ala Gly Thr Leu Gly Glu Ala Val Pro Asp Asp Leu Tyr Ile
260 265 270

Lys Gly Ser Gly Thr Thr Ala Ser Ile Gln Ser Ser Ala Phe Phe Pro
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Glu Ser Gln Leu Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

Gly Asn Gln Val Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Met Thr Leu Cys Thr Gln Val Thr Ser Asp Ser Thr Tyr Lys Asn Glu
340 345 350

Asn Phe Lys Glu Tyr Ile Arg His Val Glu Glu Tyr Asp Leu Gln Phe
355 360 365

Val Phe Gln Leu Cys Lys Val Thr Leu Thr Ala Glu Val Met Thr Tyr
370 375 380

Ile His Ala Met Asn Pro Asp Ile Leu Glu Asp Trp Gln Phe Gly Leu

385 390 395 400

Thr Pro Pro Pro Ser Ala Ser Leu Gln Asp Thr Tyr Arg Phe Val Thr
405 410 415

Ser Gln Ala Ile Thr Cys Gln Lys Thr Val Pro Pro Lys Glu Lys Glu
420 425 430

Asp Pro Leu Gly Lys Tyr Thr Phe Trp Glu Val Asp Leu Lys Glu Lys
435 440 445

Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Leu
450 455 460

Gln Ala Gly
465

<210> 8
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV35 L1

<400> 8

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

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Thr Arg Thr Asn Ile Tyr Tyr His Ala
20 25 30

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

Lys Gln Asp Ser Asn Lys Ile Ala Val Pro Lys Val Ser Gly Leu Gln
50 55 60

Tyr Arg Val Phe Arg Val Lys Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Phe
65 70 75 80

Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asp Pro Cys Leu Gln Arg Leu Val Trp Ala
85 90 95

Cys Thr Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Ile
100 105 110

Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Asn Leu Asn
115 120 125

Lys Tyr Val Gly Asn Ser Gly Asn Ser Gly Thr Asp Asn Arg Glu Cys
130 135 140

Ile Ser Met Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Ile Gly Cys Arg
145 150 155 160

Pro Pro Ile Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Thr Pro Cys Asn Ala Asn
165 170 175

Gln Val Lys Ala Gly Glu Cys Pro Pro Leu Glu Leu Leu Asn Thr Val
180 185 190

Leu Gln Asp Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe
195 200 205

Thr Thr Leu Gln Ala Asn Lys Ser Asp Val Pro Leu Asp Ile Cys Ser
210 215 220

Ser Ile Cys Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Val Ser Glu Pro Tyr
225 230 235 240

Gly Asp Met Leu Phe Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg
245 250 255

His Leu Phe Asn Arg Ala Gly Thr Val Gly Glu Thr Val Pro Ala Asp
260 265 270

Leu Tyr Ile Lys Gly Thr Thr Gly Thr Leu Pro Ser Thr Ser Tyr Phe
275 280 285

Pro Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Asp Ala Gln Ile Phe Asn
290 295 300

Lys Pro Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys
305 310 315 320

Trp Ser Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr
325 330 335

Asn Met Ser Val Cys Ser Ala Val Ser Ser Ser Asp Ser Thr Tyr Lys
340 345 350

Asn Asp Asn Phe Lys Glu Tyr Leu Arg His Gly Glu Glu Tyr Asp Leu
355 360 365

Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Ala Asp Val Met
370 375 380

Thr Tyr Ile His Ser Met Asn Pro Ser Ile Leu Glu Asp Trp Asn Phe
385 390 395 400

Gly Leu Thr Pro Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Asp Thr Tyr Arg Tyr
405 410 415

Val Thr Ser Gln Ala Val Thr Cys Gln Lys Pro Ser Ala Pro Lys Pro
420 425 430

Lys Asp Asp Pro Leu Lys Asn Tyr Thr Phe Trp Glu Val Asp Leu Lys
435 440 445

Glu Lys Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe
450 455 460

Leu Leu Gln Ala Gly
465

<210> 9
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV39 L1

<400> 9

Gly Ser Gly Gly Gly Val Tyr Leu Pro Pro Pro Ser Val Ala Lys Val
1 5 10 15

Val Asn Thr Asp Asp Tyr Val Thr Arg Thr Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

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

Met Asn Gly Gly Arg Lys Gln Asp Ile Pro Lys Val Ser Ala Tyr Gln
50 55 60

Tyr Arg Val Phe Arg Val Thr Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Ser Ile
65 70 75 80

Pro Asp Ala Ser Leu Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Arg Leu Val Trp Ala
85 90 95

Cys Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Ile
100 105 110

Ser Gly His Pro Leu Tyr Asn Arg Gln Asp Asp Thr Glu Asn Ser Pro
115 120 125

Phe Ser Ser Thr Thr Asn Lys Asp Ser Arg Asp Asn Val Ser Val Asp
130 135 140

Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Ile Gly Cys Val Pro Ala Ile Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Gly Lys Gly Lys Ala Cys Lys Pro Asn Asn Val Ser Thr
165 170 175

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Val Asn Thr Pro Ile Glu Asp Gly
180 185 190

Asp Met Ile Asp Thr Gly Tyr Gly Ala Met Asp Phe Gly Ala Leu Gln
195 200 205

Glu Thr Lys Ser Glu Val Pro Leu Asp Ile Cys Gln Ser Ile Cys Lys
210 215 220

Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ser Ala Asp Val Tyr Gly Asp Ser Met
225 230 235 240

Phe Phe Cys Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Ala Arg His Phe Trp Asn
245 250 255

Arg Gly Gly Met Val Gly Asp Ala Ile Pro Ala Gln Leu Tyr Ile Lys
260 265 270

Gly Thr Asp Ile Arg Ala Asn Pro Gly Ser Ser Val Tyr Cys Pro Ser
275 280 285

Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Asp Ser Gln Leu Phe Asn Lys Pro
290 295 300

Tyr Trp Leu His Lys Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp His
305 310 315 320

Asn Gln Leu Phe Leu Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn Phe
325 330 335

Thr Leu Ser Thr Ser Ile Glu Ser Ser Ile Pro Ser Thr Tyr Asp Pro
340 345 350

Ser Lys Phe Lys Glu Tyr Thr Arg His Val Glu Glu Tyr Asp Leu Gln
355 360 365

Phe Ile Phe Gln Leu Cys Thr Val Thr Leu Thr Thr Asp Val Met Ser
370 375 380

Tyr Ile His Thr Met Asn Ser Ser Ile Leu Asp Asn Trp Asn Phe Ala
385 390 395 400

Val Ala Pro Pro Pro Ser Ala Ser Leu Val Asp Thr Tyr Arg Tyr Leu
405 410 415

Gln Ser Ala Ala Ile Thr Cys Gln Lys Asp Ala Pro Ala Pro Glu Lys
420 425 430

Lys Asp Pro Tyr Asp Gly Leu Lys Phe Trp Asn Val Asp Leu Arg Glu
435 440 445

Lys Phe Ser Leu Glu Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu
450 455 460

Leu Gln Ala Arg
465

<210> 10
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV42 L1

<400> 10

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

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

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

Lys Arg Pro Asn Lys Thr Ser Ile Pro Lys Val Ser Gly Leu Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Arg Val Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Thr Leu Pro
65 70 75 80

Glu Thr Asn Leu Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Arg Met Val Trp Ala Cys
85 90 95

Val Gly Leu Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Ile Ser
100 105 110

Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Asn Ala Pro Thr
115 120 125

Tyr Gly Gly Gly Pro Gly Thr Asp Asn Arg Glu Asn Val Ser Met Asp
130 135 140

Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Val Gly Cys Lys Pro Ala Ile Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Gly Lys Gly Thr Ala Cys Thr Pro Gln Ser Asn Gly Asp
165 170 175

Cys Pro Pro Leu Glu Leu Lys Asn Ser Phe Ile Gln Asp Gly Asp Met
180 185 190

Val Asp Val Gly Phe Gly Ala Leu Asp Phe Gly Ala Leu Gln Ser Ser
195 200 205

Lys Ala Glu Val Pro Leu Asp Ile Val Asn Ser Ile Thr Lys Tyr Pro
210 215 220

Asp Tyr Leu Lys Met Ser Ala Glu Ala Tyr Gly Asp Ser Met Phe Phe
225 230 235 240

Phe Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg His Leu Phe Asn Arg Ala
245 250 255

Gly Ala Ile Gly Glu Pro Val Pro Asp Glu Leu Tyr Thr Lys Ala Ala
260 265 270

Asn Asn Ala Ser Gly Arg His Asn Leu Gly Ser Ser Ile Tyr Tyr Pro
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Asp Ala Gln Leu Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu Gln Gln Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

Gly Asn Gln Leu Phe Leu Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Met Thr Leu Cys Ala Thr Ala Thr Ser Gly Asp Thr Tyr Thr Ala Ala
340 345 350

Asn Phe Lys Glu Tyr Leu Arg His Ala Glu Glu Tyr Asp Val Gln Phe
355 360 365

Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Val Glu Val Met Ser Tyr
370 375 380

Ile His Asn Met Asn Pro Asn Ile Leu Glu Glu Trp Asn Val Gly Val
385 390 395 400

Ala Pro Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Asp Ser Tyr Arg Tyr Val Gln
405 410 415

Ser Glu Ala Ile Arg Cys Gln Ala Lys Val Thr Thr Pro Glu Lys Lys
420 425 430

Asp Pro Tyr Ser Asp Phe Trp Phe Trp Glu Val Asn Leu Ser Glu Lys
435 440 445

Phe Ser Thr Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Leu
450 455 460

Gln Ala Gly
465

<210> 11
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV45 L1

<400> 11

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

Val Ser Thr Asp Asp Tyr Val Ser Arg Thr Ser Ile Phe Tyr His Ala
20 25 30

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

Pro Asn Gly Ala Gly Asn Lys Gln Ala Val Pro Lys Val Ser Ala Tyr
50 55 60

Gln Tyr Arg Val Phe Arg Val Ala Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly
65 70 75 80

Leu Pro Asp Ser Thr Ile Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Arg Leu Val Trp
85 90 95

Ala Cys Val Gly Met Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Ile Gly
100 105 110

Leu Ser Gly His Pro Phe Tyr Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Ser Ala
115 120 125

His Ala Ala Thr Ala Val Ile Thr Gln Asp Val Arg Asp Asn Val Ser
130 135 140

Val Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Leu Gly Cys Val Pro Ala
145 150 155 160

Ile Gly Glu His Trp Ala Lys Gly Thr Leu Cys Lys Pro Ala Gln Leu
165 170 175

Gln Pro Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Lys Asn Thr Ile Ile Glu
180 185 190

Asp Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Tyr Gly Ala Met Asp Phe Ser Thr
195 200 205

Leu Gln Asp Thr Lys Cys Glu Val Pro Leu Asp Ile Cys Gln Ser Ile
210 215 220

Cys Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ser Ala Asp Pro Tyr Gly Asp
225 230 235 240

Ser Met Phe Phe Cys Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Ala Arg His Phe
245 250 255

Trp Asn Arg Ala Gly Val Met Gly Asp Thr Val Pro Thr Asp Leu Tyr
260 265 270

Ile Lys Gly Thr Ser Ala Asn Met Arg Glu Thr Pro Gly Ser Cys Val
275 280 285

Tyr Ser Pro Ser Pro Ser Gly Ser Ile Ile Thr Ser Asp Ser Gln Leu
290 295 300

Phe Asn Lys Pro Tyr Trp Leu His Lys Ala Gln Gly His Asn Asn Gly
305 310 315 320

Ile Cys Trp His Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg
325 330 335

Ser Thr Asn Leu Thr Leu Cys Ala Ser Thr Gln Asn Pro Val Pro Ser
340 345 350

Thr Tyr Asp Pro Thr Lys Phe Lys Gln Tyr Ser Arg His Val Glu Glu
355 360 365

Tyr Asp Leu Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Thr Ile Thr Leu Thr Ala
370 375 380

Glu Val Met Ser Tyr Ile His Ser Met Asn Ser Ser Ile Leu Glu Asn
385 390 395 400

Trp Asn Phe Gly Val Pro Pro Pro Pro Thr Thr Ser Leu Val Asp Thr
405 410 415

Tyr Arg Phe Val Gln Ser Val Ala Val Thr Cys Gln Lys Asp Thr Thr
420 425 430

Pro Pro Glu Lys Gln Asp Pro Tyr Asp Lys Leu Lys Phe Trp Thr Val
435 440 445

Asp Leu Lys Glu Lys Phe Ser Ser Asp Leu Asp Gln Tyr Pro Leu Gly
450 455 460

Arg Lys Phe Leu Val Gln Ala Gly
465 470

<210> 12
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV51 L1

<400> 12

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

Val Asn Thr Glu Glu Tyr Ile Thr Arg Thr Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

Gly Ser Ser Arg Leu Ile Thr Leu Gly His Pro Tyr Phe Pro Ile Pro
35 40 45

Lys Thr Ser Thr Arg Ala Ala Ile Pro Lys Val Ser Ala Phe Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Arg Val Gln Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu Pro
65 70 75 80

Asp Pro Asn Leu Tyr Asn Pro Asp Thr Asp Arg Leu Val Trp Gly Cys

85 90 95

Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Leu Ser
100 105 110

Gly His Pro Leu Phe Asn Lys Tyr Asp Asp Thr Glu Asn Ser Arg Ile
115 120 125

Ala Asn Gly Asn Ala Gln Gln Asp Val Arg Asp Asn Thr Ser Val Asp
130 135 140

Asn Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Ile Gly Cys Ala Pro Pro Ile Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Gly Ile Gly Thr Thr Cys Lys Asn Thr Pro Val Pro Pro
165 170 175

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Val Ser Ser Val Ile Gln Asp Gly
180 185 190

Asp Met Ile Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Ala Ala Leu Gln
195 200 205

Ala Thr Lys Ser Asp Val Pro Leu Asp Ile Ser Gln Ser Val Cys Lys
210 215 220

Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Ser Ala Asp Thr Tyr Gly Asn Ser Met
225 230 235 240

Phe Phe His Leu Arg Arg Glu Gln Ile Phe Ala Arg His Tyr Tyr Asn
245 250 255

Lys Leu Val Gly Val Gly Glu Asp Ile Pro Asn Asp Tyr Tyr Ile Lys
260 265 270

Gly Ser Gly Asn Gly Arg Asp Pro Ile Glu Ser Tyr Ile Tyr Ser Ala
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Met Ile Thr Ser Asp Ser Gln Ile Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu His Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

Asn Asn Gln Leu Phe Ile Thr Cys Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Leu Thr Ile Ser Thr Ala Thr Ala Ala Val Ser Pro Thr Phe Thr Pro
340 345 350

Ser Asn Phe Lys Gln Tyr Ile Arg His Gly Glu Glu Tyr Glu Leu Gln
355 360 365

Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Thr Glu Val Met Ala
370 375 380

Tyr Leu His Thr Met Asp Pro Thr Ile Leu Glu Gln Trp Asn Phe Gly
385 390 395 400

Leu Thr Leu Pro Pro Ser Ala Ser Leu Glu Asp Ala Tyr Arg Phe Val
405 410 415

Arg Asn Ala Ala Thr Ser Cys Gln Lys Asp Thr Pro Pro Gln Ala Lys
420 425 430

Pro Asp Pro Leu Ala Lys Tyr Lys Phe Trp Asp Val Asp Leu Lys Glu
435 440 445

Arg Phe Ser Leu Asp Leu Asp Gln Phe Ala Leu Gly Arg Lys Phe Leu
450 455 460

Leu Gln Val Gly
465

<210> 13
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV52 L1

<400> 13

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

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Ser Arg Thr Ser Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

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

Asn Thr Ser Ser Gly Asn Gly Lys Lys Val Leu Val Pro Lys Val Ser
50 55 60

Gly Leu Gln Tyr Arg Val Phe Arg Ile Lys Leu Pro Asp Pro Asn Lys
65 70 75 80

Phe Gly Phe Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Arg Leu
85 90 95

Val Trp Ala Cys Thr Gly Leu Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly
100 105 110

Val Gly Ile Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Phe Asp Asp Thr Glu
115 120 125

Thr Ser Asn Lys Tyr Ala Gly Lys Pro Gly Ile Asp Asn Arg Glu Cys
130 135 140

Leu Ser Met Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Leu Gly Cys Lys
145 150 155 160

Pro Pro Ile Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Thr Pro Cys Asn Asn Asn
165 170 175

Ser Gly Asn Pro Gly Asp Cys Pro Pro Leu Gln Leu Ile Asn Ser Val
180 185 190

Ile Gln Asp Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Cys Met Asp Phe
195 200 205

Asn Thr Leu Gln Ala Ser Lys Ser Asp Val Pro Ile Asp Ile Cys Ser
210 215 220

Ser Val Cys Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ala Ser Glu Pro Tyr

225 230 235 240

Gly Asp Ser Leu Phe Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg
245 250 255

His Phe Phe Asn Arg Ala Gly Thr Leu Gly Asp Pro Val Pro Gly Asp
260 265 270

Leu Tyr Ile Gln Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Val Gln Ser
275 280 285

Ser Ala Phe Phe Pro Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Thr Ser Glu Ser
290 295 300

Gln Leu Phe Asn Lys Pro Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn
305 310 315 320

Asn Gly Ile Cys Trp Gly Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr
325 330 335

Thr Arg Ser Thr Asn Met Thr Leu Cys Ala Glu Val Lys Lys Glu Ser
340 345 350

Thr Tyr Lys Asn Glu Asn Phe Lys Glu Tyr Leu Arg His Gly Glu Glu
355 360 365

Phe Asp Leu Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Ala
370 375 380

Asp Val Met Thr Tyr Ile His Lys Met Asp Ala Thr Ile Leu Glu Asp
385 390 395 400

Trp Gln Phe Gly Leu Thr Pro Pro Pro Ser Ala Ser Leu Glu Asp Thr
405 410 415

Tyr Arg Phe Val Thr Ser Thr Ala Ile Thr Cys Gln Lys Asn Thr Pro
420 425 430

Pro Lys Gly Lys Glu Asp Pro Leu Lys Asp Tyr Met Phe Trp Glu Val
435 440 445

Asp Leu Lys Glu Lys Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly
450 455 460

Arg Lys Phe Leu Leu Gln Ala Gly
465 470

<210> 14
<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV53 L1

<400> 14

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

Ile Thr Thr Asp Ala Tyr Val Lys Arg Thr Thr Ile Phe Tyr His Ala
20 25 30

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

Lys Ser Gly Lys Ala Asp Ile Pro Lys Val Ser Ala Phe Gln Tyr Arg
50 55 60

Val Phe Arg Val Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu Pro Asp
65 70 75 80

Thr Asn Ile Phe Asn Pro Asp Gln Glu Arg Leu Val Trp Ala Cys Val
85 90 95

Gly Leu Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Val Ser Gly
100 105 110

His Pro Leu Phe Asn Arg Leu Asp Asp Thr Glu Ser Ser Ser Ile Ala
115 120 125

Ile Gln Asp Thr Ala Pro Asp Ser Arg Asp Asn Val Ser Val Asp Pro
130 135 140

Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Ile Gly Cys Ala Pro Ala Ile Gly Glu
145 150 155 160

His Trp Thr Lys Gly Thr Ala Cys Arg Ser Thr Pro Thr Thr Ala Gly
165 170 175

Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Asn Ser Pro Ile Glu Asp Gly Asp
180 185 190

Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Leu Asn Phe Lys Ala Leu Gln Glu
195 200 205

Ser Lys Ser Asp Val Pro Leu Asp Ile Val Gln Ser Thr Cys Lys Tyr
210 215 220

Pro Asp Tyr Leu Lys Met Ser Ala Asp Ala Tyr Gly Asp Ser Met Trp
225 230 235 240

Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Thr Arg His Phe Phe Asn Arg
245 250 255

Ala Gly Val Ile Gly Glu Glu Ile Pro Asn Asp Leu Tyr Ile Lys Gly
260 265 270

Ser Asn Gly Arg Asp Pro Pro Pro Ser Ser Val Tyr Val Ala Thr Pro
275 280 285

Ser Gly Ser Met Ile Thr Ser Glu Ala Gln Leu Phe Asn Lys Pro Tyr
290 295 300

Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp Asn Asn
305 310 315 320

Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Asn Thr Asn Met Thr
325 330 335

Leu Ser Ala Thr Thr Gln Ser Met Ser Thr Tyr Asn Ser Lys Gln Ile
340 345 350

Lys Gln Tyr Val Arg His Ala Glu Glu Tyr Glu Leu Gln Phe Val Phe
355 360 365

Gln Leu Cys Lys Ile Ser Leu Ser Ala Glu Val Met Ala Tyr Leu His

370 375 380

Thr Met Asn Ser Thr Leu Leu Glu Asp Trp Asn Ile Gly Leu Ser Pro
385 390 395 400

Pro Val Ala Thr Ser Leu Glu Asp Lys Tyr Arg Tyr Val Lys Ser Ala
405 410 415

Ala Ile Thr Cys Gln Lys Asp Gln Pro Pro Pro Glu Lys Gln Asp Pro
420 425 430

Leu Ser Lys Tyr Lys Phe Trp Glu Val Asn Leu Gln Asn Ser Phe Ser
435 440 445

Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Met Gln Val
450 455 460

Gly
465

<210> 15
<211> 466
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV56 L1

<400> 15

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

Val Ala Thr Asp Ser Tyr Val Lys Arg Thr Ser Ile Phe Tyr His Ala
20 25 30

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

Lys Asp Asn Thr Lys Thr Asn Ile Pro Lys Val Ser Ala Tyr Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Arg Val Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu Pro
65 70 75 80

Asp Thr Asn Ile Tyr Asn Pro Asp Gln Glu Arg Leu Val Trp Ala Cys
85 90 95

Val Gly Leu Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Ala Gly Leu Ser
100 105 110

Gly His Pro Leu Phe Asn Arg Leu Asp Asp Thr Glu Ser Ser Asn Leu
115 120 125

Ala Asn Asn Asn Val Ile Glu Asp Ser Arg Asp Asn Ile Ser Val Asp
130 135 140

Gly Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Val Gly Cys Thr Pro Ala Met Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Thr Lys Gly Ala Val Cys Lys Ser Thr Gln Val Thr Thr
165 170 175

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Ala Leu Ile Asn Thr Pro Ile Glu Asp Gly
180 185 190

Asp Met Ile Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Lys Val Leu Gln
195 200 205

Glu Ser Lys Ala Glu Val Pro Leu Asp Ile Val Gln Ser Thr Cys Lys
210 215 220

Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Ser Ala Asp Ala Tyr Gly Asp Ser Met
225 230 235 240

Trp Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Ala Arg His Tyr Phe Asn
245 250 255

Arg Ala Gly Lys Val Gly Glu Thr Ile Pro Ala Glu Leu Tyr Leu Lys
260 265 270

Gly Ser Asn Gly Arg Glu Pro Pro Pro Ser Ser Val Tyr Val Ala Thr
275 280 285

Pro Ser Gly Ser Met Ile Thr Ser Glu Ala Gln Leu Phe Asn Lys Pro
290 295 300

Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp Gly
305 310 315 320

Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn Met
325 330 335

Thr Ile Ser Thr Ala Thr Glu Gln Leu Ser Lys Tyr Asp Ala Arg Lys
340 345 350

Ile Asn Gln Tyr Leu Arg His Val Glu Glu Tyr Glu Leu Gln Phe Val
355 360 365

Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Ser Ala Glu Val Met Ala Tyr Leu
370 375 380

His Asn Met Asn Ala Asn Leu Leu Glu Asp Trp Asn Ile Gly Leu Ser
385 390 395 400

Pro Pro Val Ala Thr Ser Leu Glu Asp Lys Tyr Arg Tyr Val Arg Ser
405 410 415

Thr Ala Ile Thr Cys Gln Arg Glu Gln Pro Pro Thr Glu Lys Gln Asp
420 425 430

Pro Leu Ala Lys Tyr Lys Phe Trp Asp Val Asn Leu Gln Asp Ser Phe
435 440 445

Ser Thr Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Met Gln
450 455 460

Leu Gly
465

<210> 16
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> HPV58 L1

<400> 16

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

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Ser Arg Thr Ser Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

Gly Ser Ser Arg Leu Leu Ala Val Gly Asn Pro Tyr Phe Ser Ile Lys
35 40 45

Ser Pro Asn Asn Asn Lys Lys Val Leu Val Pro Lys Val Ser Gly Leu
50 55 60

Gln Tyr Arg Val Phe Arg Val Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly
65 70 75 80

Phe Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Thr Gln Arg Leu Val Trp
85 90 95

Ala Cys Val Gly Leu Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly
100 105 110

Val Ser Gly His Pro Tyr Leu Asn Lys Phe Asp Asp Thr Glu Thr Ser
115 120 125

Asn Arg Tyr Pro Ala Gln Pro Gly Ser Asp Asn Arg Glu Cys Leu Ser
130 135 140

Met Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Ile Gly Cys Lys Pro Pro
145 150 155 160

Thr Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Val Ala Cys Asn Asn Asn Ala Ala
165 170 175

Ala Thr Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Phe Asn Ser Ile Ile Glu Asp
180 185 190

Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Cys Met Asp Phe Gly Thr Leu
195 200 205

Gln Ala Asn Lys Ser Asp Val Pro Ile Asp Ile Cys Asn Ser Thr Cys
210 215 220

Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Ala Ser Glu Pro Tyr Gly Asp Ser
225 230 235 240

Leu Phe Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg His Phe Phe
245 250 255

Asn Arg Ala Gly Lys Leu Gly Glu Ala Val Pro Asp Asp Leu Tyr Ile
260 265 270

Lys Gly Ser Gly Asn Thr Ala Val Ile Gln Ser Ser Ala Phe Phe Pro
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Ile Val Thr Ser Glu Ser Gln Leu Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

Gly Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Met Thr Leu Cys Thr Glu Val Thr Lys Glu Gly Thr Tyr Lys Asn Asp
340 345 350

Asn Phe Lys Glu Tyr Val Arg His Val Glu Glu Tyr Asp Leu Gln Phe
355 360 365

Val Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Ala Glu Ile Met Thr Tyr
370 375 380

Ile His Thr Met Asp Ser Asn Ile Leu Glu Asp Trp Gln Phe Gly Leu
385 390 395 400

Thr Pro Pro Pro Ser Ala Ser Leu Gln Asp Thr Tyr Arg Phe Val Thr
405 410 415

Ser Gln Ala Ile Thr Cys Gln Lys Thr Ala Pro Pro Lys Glu Lys Glu
420 425 430

Asp Pro Leu Asn Lys Tyr Thr Phe Trp Glu Val Asn Leu Lys Glu Lys
435 440 445

Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Leu
450 455 460

Gln Ser Gly
465

<210> 17
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV59 L1

<400> 17

Gly Ser Gly Gly Gly Val Tyr Leu Pro Pro Pro Ser Val Ala Lys Val
1 5 10 15

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Thr Arg Thr Ser Ile Phe Tyr His Ala
20 25 30

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

Lys Gly Gly Asn Gly Arg Gln Asp Val Pro Lys Val Ser Ala Tyr Gln
50 55 60

Tyr Arg Val Phe Arg Val Lys Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu
65 70 75 80

Pro Asp Asn Thr Val Tyr Asp Pro Asn Ser Gln Arg Leu Val Trp Ala
85 90 95

Cys Val Gly Val Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Leu
100 105 110

Ser Gly His Pro Leu Tyr Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Asn Ser His
115 120 125

Val Ala Ser Ala Val Asp Thr Lys Asp Thr Arg Asp Asn Val Ser Val
130 135 140

Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Ile Gly Cys Val Pro Ala Ile
145 150 155 160

Gly Glu His Trp Thr Lys Gly Thr Ala Cys Lys Pro Thr Thr Val Val
165 170 175

Gln Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Asn Thr Pro Ile Glu Asp
180 185 190

Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Tyr Gly Ala Met Asp Phe Lys Leu Leu
195 200 205

Gln Asp Asn Lys Ser Glu Val Pro Leu Asp Ile Cys Gln Ser Ile Cys
210 215 220

Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ser Ala Asp Ala Tyr Gly Asp Ser
225 230 235 240

Met Phe Phe Cys Leu Arg Arg Glu Gln Val Phe Ala Arg His Phe Trp
245 250 255

Asn Arg Ser Gly Thr Met Gly Asp Gln Leu Pro Glu Ser Leu Tyr Ile
260 265 270

Lys Gly Thr Asp Ile Arg Ala Asn Pro Gly Ser Tyr Leu Tyr Ser Pro
275 280 285

Ser Pro Ser Gly Ser Val Val Thr Ser Asp Ser Gln Leu Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu His Lys Ala Gln Gly Leu Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

His Asn Gln Leu Phe Leu Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Leu Ser Val Cys Ala Ser Thr Thr Ser Ser Ile Pro Asn Val Tyr Thr
340 345 350

Pro Thr Ser Phe Lys Glu Tyr Ala Arg His Val Glu Glu Phe Asp Leu
355 360 365

Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Thr Glu Val Met
370 375 380

Ser Tyr Ile His Asn Met Asn Thr Thr Ile Leu Glu Asp Trp Asn Phe
385 390 395 400

Gly Val Thr Pro Pro Pro Thr Ala Ser Leu Val Asp Thr Tyr Arg Phe
405 410 415

Val Gln Ser Ala Ala Val Thr Cys Gln Lys Asp Thr Ala Pro Pro Val
420 425 430

Lys Gln Asp Pro Tyr Asp Lys Leu Lys Phe Trp Pro Val Asp Leu Lys
435 440 445

Glu Arg Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe
450 455 460

Leu Leu Gln Leu Gly
465

<210> 18
<211> 466
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV66 L1

<400> 18

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

Val Ala Thr Asp Thr Tyr Val Lys Arg Thr Ser Ile Phe Tyr His Ala
20 25 30

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

Lys Ser Gly Thr Lys Thr Asn Ile Pro Lys Val Ser Ala Tyr Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Arg Val Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu Pro
65 70 75 80

Asp Pro Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Gln Glu Arg Leu Val Trp Ala Cys
85 90 95

Val Gly Leu Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Ala Gly Leu Ser
100 105 110

Gly His Pro Leu Phe Asn Arg Leu Asp Asp Thr Glu Val Ser Asn Leu
115 120 125

Ala Gly Asn Asn Val Ile Glu Asp Ser Arg Asp Asn Ile Ser Val Asp
130 135 140

Cys Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Val Gly Cys Ala Pro Ala Leu Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Thr Lys Gly Ala Val Cys Lys Ser Thr Pro Gly Asn Thr
165 170 175

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Ala Leu Val Asn Thr Pro Ile Glu Asp Gly
180 185 190

Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Lys Leu Leu Gln
195 200 205

Glu Ser Lys Ala Glu Val Pro Leu Asp Ile Val Gln Ser Thr Cys Lys
210 215 220

Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Ser Ala Asp Ala Tyr Gly Asp Ser Met
225 230 235 240

Trp Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe Ala Arg His Tyr Phe Asn
245 250 255

Arg Ala Gly Asn Val Gly Glu Ala Ile Pro Thr Asp Leu Tyr Trp Lys
260 265 270

Gly Gly Asn Gly Arg Asp Pro Pro Pro Ser Ser Val Tyr Val Ala Thr
275 280 285

Pro Ser Gly Ser Met Ile Thr Ser Glu Ala Gln Leu Phe Asn Lys Pro
290 295 300

Tyr Trp Leu Gln Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp Gly
305 310 315 320

Asn Gln Val Phe Val Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn Met
325 330 335

Thr Ile Asn Ala Ala Lys Ser Thr Leu Thr Lys Tyr Asp Ala Arg Glu
340 345 350

Ile Asn Gln Tyr Leu Arg His Val Glu Glu Tyr Glu Leu Gln Phe Val
355 360 365

Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Ala Glu Val Met Ala Tyr Leu
370 375 380

His Asn Met Asn Asn Thr Leu Leu Asp Asp Trp Asn Ile Gly Leu Ser
385 390 395 400

Pro Pro Val Ala Thr Ser Leu Glu Asp Lys Tyr Arg Tyr Ile Lys Ser
405 410 415

Thr Ala Ile Thr Cys Gln Arg Glu Gln Pro Pro Ala Glu Lys Gln Asp
420 425 430

Pro Leu Ala Lys Tyr Lys Phe Trp Glu Val Asn Leu Gln Asp Ser Phe
435 440 445

Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys Phe Leu Met Gln
450 455 460

Leu Gly
465

<210> 19
<211> 470
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV73 L1

<400> 19

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

Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Thr Arg Thr Asn Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

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

Asp Ser Gln Lys Arg Lys Thr Ile Val Pro Lys Val Ser Gly Leu Gln
50 55 60

Tyr Arg Val Phe Arg Leu Arg Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Phe

65 70 75 80

Pro Asp Ala Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Lys Glu Arg Leu Val Trp Ala
85 90 95

Cys Ser Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Ile Gly Thr
100 105 110

Ser Gly Asn Pro Phe Met Asn Lys Leu Asp Asp Thr Glu Asn Ala Pro
115 120 125

Lys Tyr Ile Ala Gly Gln Asn Thr Asp Gly Arg Glu Cys Met Ser Val
130 135 140

Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Leu Gly Cys Arg Pro Pro Leu
145 150 155 160

Gly Glu His Trp Gly Pro Gly Thr Pro Cys Thr Ser Gln Thr Val Asn
165 170 175

Thr Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Lys Asn Thr Pro Ile Gln Asp
180 185 190

Gly Asp Met Ile Asp Val Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Lys Ala Leu
195 200 205

Gln Ala Asn Lys Ser Asp Val Pro Ile Asp Ile Ser Asn Thr Thr Cys
210 215 220

Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Gly Met Ala Ala Asp Pro Tyr Gly Asp Ser
225 230 235 240

Met Trp Phe Tyr Leu Arg Arg Glu Gln Met Phe Val Arg His Leu Phe
245 250 255

Asn Arg Ala Gly Asp Thr Gly Asp Lys Ile Pro Asp Asp Leu Met Ile
260 265 270

Lys Gly Thr Gly Asn Thr Ala Thr Pro Ser Ser Cys Val Phe Tyr Pro
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Met Val Ser Ser Asp Ala Gln Leu Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu Gln Lys Ala Gln Gly Gln Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

His Asn Gln Leu Phe Leu Thr Val Val Asp Thr Thr Arg Ser Thr Asn
325 330 335

Phe Ser Val Cys Val Gly Thr Gln Ala Ser Ser Ser Thr Thr Thr Tyr
340 345 350

Ala Asn Ser Asn Phe Lys Glu Tyr Leu Arg His Ala Glu Glu Phe Asp
355 360 365

Leu Gln Phe Val Phe Gln Leu Cys Lys Ile Ser Leu Thr Thr Glu Val
370 375 380

Met Thr Tyr Ile His Ser Met Asn Ser Thr Ile Leu Glu Glu Trp Asn
385 390 395 400

Phe Gly Leu Thr Pro Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Glu Thr Tyr Arg
405 410 415

Tyr Val Thr Ser Gln Ala Ile Ser Cys Gln Arg Pro Gln Pro Pro Lys
420 425 430

Glu Thr Glu Asp Pro Tyr Ala Lys Leu Ser Phe Trp Asp Val Asp Leu
435 440 445

Lys Glu Lys Phe Ser Ala Glu Leu Asp Gln Phe Pro Leu Gly Arg Lys
450 455 460

Phe Leu Leu Gln Leu Gly
465 470

<210> 20
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HPV83 L1

<400> 20

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

Val Asn Thr Glu Glu Tyr Ile Thr Arg Thr Gly Ile Tyr Tyr Tyr Ala
20 25 30

Gly Ser Ser Arg Leu Ile Thr Leu Gly His Pro Tyr Phe Ser Ile Pro
35 40 45

Lys Thr Asn Thr Arg Ala Glu Ile Pro Lys Val Ser Ala Phe Gln Tyr
50 55 60

Arg Val Phe Arg Val Gln Leu Pro Asp Pro Asn Lys Phe Gly Leu Pro
65 70 75 80

Asp Pro Asn Leu Phe Asn Pro Asp Thr Asp Arg Leu Val Trp Gly Cys
85 90 95

Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro Leu Gly Val Gly Leu Ser
100 105 110

Gly His Pro Leu Phe Asn Lys Tyr Asp Asp Thr Glu Asn Ser Arg Phe
115 120 125

Ala Asn Gly Asn Asp Gln Gln Asp Val Arg Asp Asn Ile Ser Val Asp
130 135 140

Asn Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Ile Gly Cys Ala Pro Pro Ile Gly
145 150 155 160

Glu His Trp Ala Thr Gly Thr Thr Cys Lys Asn Val Pro Val Pro Gln
165 170 175

Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Val Ser Thr Val Ile Glu Asp Gly
180 185 190

Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met Asp Phe Ala Asn Leu Gln
195 200 205

Ala Thr Lys Ser Asp Val Pro Leu Asp Ile Ala Gln Ser Val Cys Lys

210 215 220

Tyr Pro Asp Tyr Leu Lys Met Ser Ala Asp Thr Tyr Gly Asn Ser Met
225 230 235 240

Phe Phe His Leu Arg Arg Glu Gln Ile Phe Ala Arg His Tyr Tyr Asn
245 250 255

Lys Ala Gly Val Val Gly Asp Ala Ile Pro Asp Lys Ala Tyr Ile Lys
260 265 270

Gly Thr Gly Ala Gly Arg Asp Pro Ile Ser Ser Tyr Ile Tyr Ser Ala
275 280 285

Thr Pro Ser Gly Ser Met Ile Thr Ser Asp Ser Gln Ile Phe Asn Lys
290 295 300

Pro Tyr Trp Leu His Arg Ala Gln Gly His Asn Asn Gly Ile Cys Trp
305 310 315 320

Asn Asn Gln Leu Phe Ile Thr Cys Val Asp Thr Thr Lys Ser Thr Asn
325 330 335

Leu Thr Ile Ser Thr Ala Val Thr Pro Ser Val Ala Gln Thr Phe Thr
340 345 350

Pro Ala Asn Phe Lys Gln Tyr Ile Arg His Gly Glu Glu Tyr Glu Leu
355 360 365

Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Lys Ile Thr Leu Thr Thr Glu Ile Met
370 375 380

Ala Tyr Leu His Thr Met Asp Ser Thr Ile Leu Glu Gln Trp Asn Phe
385 390 395 400

Gly Leu Thr Leu Pro Pro Ser Ala Ser Leu Glu Asp Ala Tyr Arg Phe
405 410 415

Val Lys Asn Ala Ala Thr Ser Cys His Lys Asp Ser Pro Pro Gln Ala
420 425 430

Lys Glu Asp Pro Leu Ala Lys Tyr Lys Phe Trp Asn Val Asp Leu Lys
435 440 445

Glu Arg Phe Ser Leu Asp Leu Asp Gln Phe Ala Leu Gly Arg Lys Phe
450 455 460

Leu Leu Gln Ile Gly
465

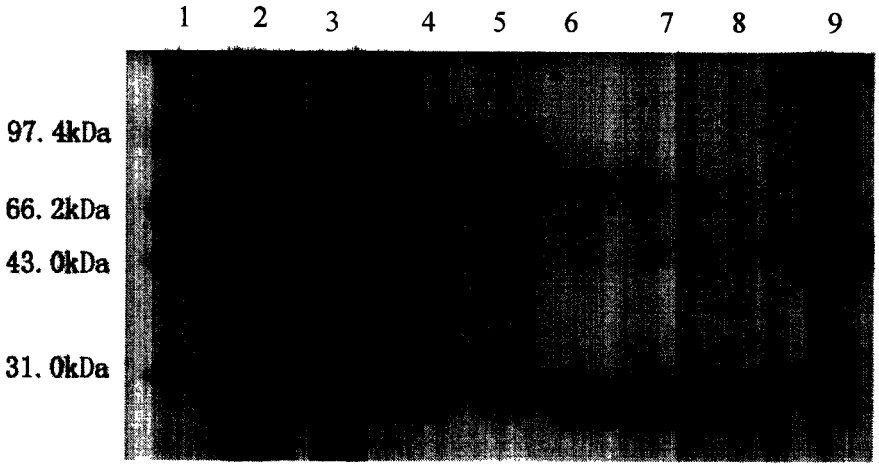

1 2 3 4 5 6 7 8 9
97.4kDa
66.2kDa
43.0kDa
31.0kDa

图1

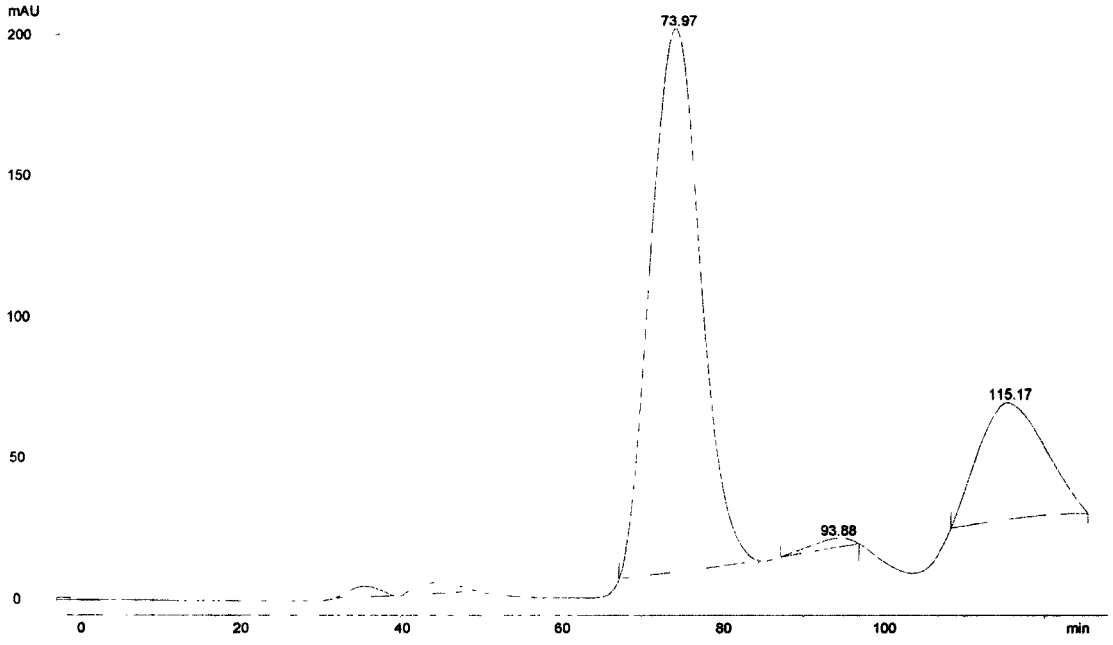
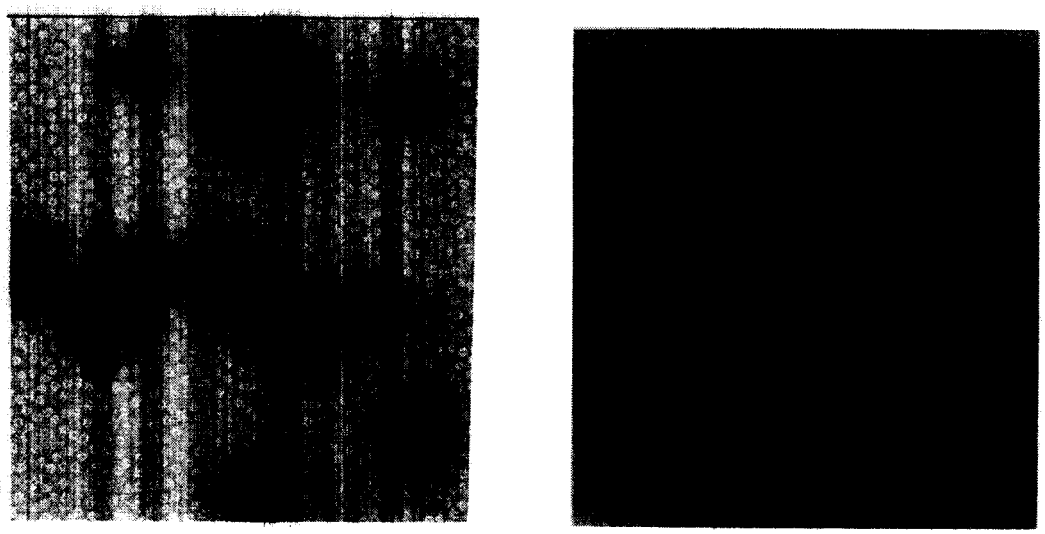

mAU
200
150
100
50
0
73.97
93.88
115.17
0
20
40
60
80
100
min

图2



(a) (b)

图3

专利名称(译)	重组人乳头瘤病毒L1衣壳蛋白的氨基酸序列及其应用		
公开(公告)号	CN101245099A	公开(公告)日	2008-08-20
申请号	CN200710005099.4	申请日	2007-02-14
[标]申请(专利权)人(译)	马润林 陈小江		
申请(专利权)人(译)	马润林 陈小江		
当前申请(专利权)人(译)	马润林 陈小江		
[标]发明人	马润林 陈小江		
发明人	马润林 陈小江		
IPC分类号	C07K14/025 C12N15/37 C12N15/63 C12N1/21 A61K39/12 A61P31/12 G01N33/53 G01N33/68 G01N33/569		
CPC分类号	C12N2710/20034 A61K39/12 A61K2039/645 C12N2710/20022 C07K14/005 G01N2333/025 C12N7/00 G01N33/56983		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及重组人乳头瘤病毒L1衣壳蛋白的氨基酸序列，编码该氨基酸序列的核苷酸序列，和包含所述核苷酸序列的重组载体和表达宿主。本发明还涉及由该氨基酸序列所组成的HPV L1蛋白在制备疫苗、药物组合物和诊断抗原或抗体中的应用。本发明通过对HPV L1野生型序列的改造，使得在原核系统中表达的重组HPV L1衣壳蛋白能溶于水，而且表达得到的是与HPV L1的VLP具有相同免疫原性和抗原性的L1五聚体。本发明使得利用原核表达系统工业生产HPV L1衣壳蛋白成为现实，相对于目前采用的真核表达系统具有产品质量更稳定、产率更高、成本低、质量控制方便的优点，具有重大的经济效益和社会效应。