



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0027248

(51)⁷ A61K 38/00

(13) B

(21) 1-2015-02833

(22) 07/01/2014

(86) PCT/US2014/010543 07/01/2014

(87) WO2014/107744 10/07/2014

(30) 61/749,737 07/01/2013 US

(45) 25/01/2021 394

(43) 25/12/2015 333A

(73) BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER, INC. (US)

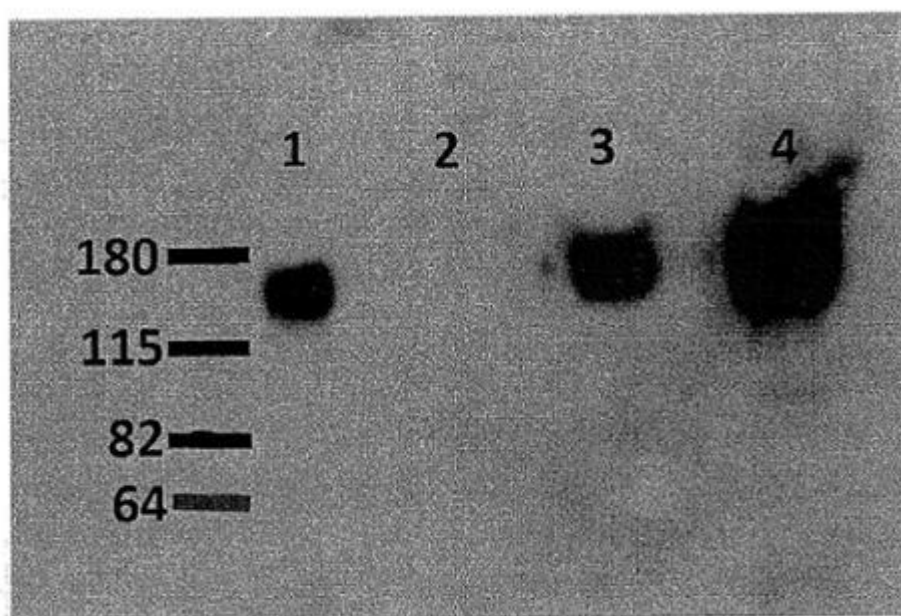
330 Brookline Avenue, BR-2, Boston, MA 02215, United States of America

(72) BAROUCH, Dan, H. (US); NKOLOLA, Joseph (ZM).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) TRIME ỔN ĐỊNH, CHẾ PHẨM CHỨA TRIME NÀY, VACXIN CHỨA CHẾ PHẨM NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VACXIN

(57) Sáng chế đề cập đến trime vỏ ngoài (Env) virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) ổn định. Sáng chế cũng đề cập đến vacxin, axit nucleic và vật truyền để phân phối và/hoặc tạo thuận lợi cho việc sản xuất trime Env HIV ổn định. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất trime Env HIV ổn định của sáng chế.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến trime vỏ ngoài (envelop-Env) virus gây suy giảm miễn dịch ở người (human immunodeficiency virus –HIV) ổn định. Sáng chế cũng đề cập đến vaccin, axit nucleic, vật truyền để truyền và/hoặc tạo thuận lợi cho việc sản xuất trime Env HIV ổn định. Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp sản xuất các trime Env HIV ổn định theo sáng chế.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Vaccin mà gây ra đáp ứng miễn dịch tế bào chống lại virus tìm cách phản ánh tính đa dạng virus trên toàn cầu để điều trị hoặc ngăn ngừa một cách hữu hiệu sự lây nhiễm virus. Đối với vaccin HIV, sự khởi đầu của các đáp ứng tế bào T đặc hiệu virus gây suy giảm miễn dịch ở người (human immunodeficiency virus-HIV) mạnh mẽ và đa dạng được mong muốn đối với vaccin HIV hữu hiệu. Protein vỏ ngoài (Env) có thể biến đổi ở mức cao là đích quan trọng nhất của các kháng thể trung hòa kháng HIV và kháng nguyên vaccin có thể được biến đổi một cách tương ứng để gây ra các đáp ứng kháng thể này. Để đạt được mục tiêu này, chất gây miễn dịch bắt chước cấu trúc trime của Env trên các hạt virus HIV (virion) nguyên thể đang được tích cực theo đuổi để làm vaccin HIV được tạo thành chủ yếu từ kháng thể. Tuy nhiên, đã chứng minh được rằng rất khó để tạo ra chất gây miễn dịch trime Env ổn định về mặt hoá sinh mà gây ra các đáp ứng kháng thể trung hòa khác nhau.

Do đó, vẫn có nhu cầu chưa được đáp ứng trong lĩnh vực này để phát triển vaccin bao gồm chất gây miễn dịch trime Env mới, tối ưu, có thể gây ra các đáp ứng kháng thể trung hòa ở mức rộng rãi để khiến cho kết quả chủng ngừa HIV thành công hơn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất trime ổn định có ba polypeptit gp140 trong đó ít nhất một (ví dụ hai hoặc mỗi) trong số các polypeptit gp140 bao gồm trình

tự axit amin giống ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 2 (mEnv+).

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất trime ổn định có ba polypeptit gp140 trong đó ít nhất một (ví dụ, hai hoặc mỗi) trong số các polypeptit gp140 bao gồm trình tự axit amin gần như là giống trình tự của (ví dụ, giống 99% hoặc lớn hơn), hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 1 (mEnv) hoặc SEQ ID NO: 3 (cEnv).

Theo một số phương án, trime ổn định là heterotrime (dị trime). Polypeptit heterotrime ổn định có thể bao gồm hai polypeptit gp140 Env1 khảm (ví dụ, mEnv và/hoặc mEnv+) bao gồm trình tự axit amin giống ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 1 hoặc 2, và một polypeptit gp140 Env nhánh C (ví dụ, “cEnv” có SEQ ID NO: 3) bao gồm trình tự axit amin giống ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, có hoặc trình tự của, SEQ ID NO: 3 (cEnv) (ví dụ, hai mEnv và một cEnv; hai mEnv+ và một cEnv; hoặc một mEnv, một mEnv+, và một Env). Theo các phương án khác, heterotrime ổn định có thể bao gồm một Env1 polypeptit gp140 khảm (ví dụ, mEnv và/hoặc mEnv+) bao gồm trình tự axit amin giống ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 1 hoặc 2, và hai polypeptit gp140 Env nhánh C (ví dụ, cEnv) mỗi polypeptit bao gồm trình tự axit amin giống ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 3 (ví dụ, một mEnv và hai cEnv; một mEnv+ và hai cEnv). Theo một số phương án, heterotrime ổn định bao gồm tổ hợp của hai trình tự Env1 khảm khác nhau (ví dụ, một mEnv và hai mEnv+; hai mEnv và một mEnv+; hoặc một mEnv, một mEnv+ và cEnv). Theo một số phương án, heterotrime ổn định bao gồm cEnv và hai trong số các polypeptit Env1 giống nhau (ví dụ, hai mEnv và một cEnv; hai mEnv+ và một cEnv). Theo các phương án khác, heterotrime ổn định bao gồm một cEnv và hai polypeptit Env1 khảm khác nhau (ví dụ, một cEnv, một mEnv và một mEnv+). Theo các phương án khác nữa, heterotrime ổn định bao gồm hai polypeptit cEnv và một polypeptit Env1 khảm (ví dụ, hai cEnv và một mEnv; hoặc hai cEnv và một mEnv+).

Theo cách khác, trime gp140 Env ổn định có thể được tạo ra, trong đó một hoặc

hai trong số các polypeptit gp140 Env trong trime có trình tự SEQ ID NO: 4 (gp140 Env2 khảm, “mEnv2”) hoặc SEQ ID NO: 5 (gp140 Env3 khảm, “mEnv3”). Theo phương án khác, trime ổn định có ba polypeptit gp140 trong đó ít nhất một (ví dụ, hai hoặc mỗi) trong số các polypeptit gp140 bao gồm trình tự axit amin giống ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 4 hoặc 5. Tốt hơn là, mEnv2 hoặc mEnv3 được cải biến theo cách tương tự với cách của mEnv, mEnv+, hoặc cEnv, mà mỗi trong số chúng có miền trime hoá, như được mô tả dưới đây trong bản mô tả này. Do đó, theo một số phương án của sáng chế, trime gp140 Env ổn định có thể được tạo ra mà có cấu tử polypeptit sau đây: một mEnv và hai mEnv2; hai mEnv và một mEnv2; một mEnv+ và hai mEnv2; hai mEnv+ và một mEnv2; một cEnv và hai mEnv2; hai cEnv và một mEnv2; một mEnv, một mEnv+, và một mEnv2; một mEnv, một cEnv, và mEnv2; một mEnv+, một cEnv, và một mEnv2; một mEnv và hai mEnv3; hai mEnv và một mEnv3; một mEnv+ và hai mEnv3; hai mEnv+ và một mEnv3; một cEnv và hai mEnv3; hai cEnv và một mEnv3; một mEnv, một mEnv+, và một mEnv3; một mEnv, một cEnv, và mEnv3; một mEnv+, một cEnv, và một mEnv3; một mEnv, một mEnv2, và một mEnv3; một mEnv+, một mEnv2, và một mEnv3; hoặc một cEnv, một mEnv2, và một mEnv3.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất dược phẩm bao gồm trime ổn định của khía cạnh thứ nhất hoặc thứ hai. Theo phương án, dược phẩm của khía cạnh thứ ba bao gồm một hoặc nhiều trime ổn định khác nhau. Theo các phương án khác, (các) trime ổn định khác nhau có ba polypeptit gp140 trong đó ít nhất một (ví dụ, hai hoặc mỗi) trong số các polypeptit gp140 bao gồm trình tự axit amin giống ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4 hoặc 5. Theo các phương án khác, (các) trime ổn định khác nhau có thể là homotrime hoặc heterotrime. Theo một số phương án, dược phẩm của khía cạnh thứ ba còn bao gồm chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng dược dụng, và/hoặc chất bổ trợ.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề xuất vaccin bao gồm bất kỳ một trong số các dược phẩm của khía cạnh thứ ba. Theo một số phương án, vaccin được sử dụng để điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này. Theo một số phương án, vaccin gây ra việc

sản xuất huyết thanh kháng HIV trung hòa (ví dụ, huyết thanh kháng HIV-1 trung hoà) sau khi dùng cho đối tượng. Kháng huyết thanh kháng HIV có thể làm trung hòa HIV (ví dụ, HIV-1), ví dụ, được chọn từ bất kỳ một hoặc nhiều trong số nhánh A, nhánh B và nhánh C.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic có trình tự nucleotit mà mã hoá ít nhất một (ví dụ, hai hoặc ba hoặc nhiều) polypeptit gp140, trong đó ít nhất một polypeptit gp140 bao gồm: (a) trình tự axit amin giống ít nhất 95% (ví dụ, ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 1; (b) trình tự axit amin giống ít nhất 95% (ví dụ, ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 2; hoặc (c) trình tự axit amin có trình tự SEQ ID NO: 3; (d) trình tự axit amin có trình tự SEQ ID NO: 4; (e) trình tự axit amin có trình tự SEQ ID NO: 5 hoặc các tổ hợp của chúng. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic còn bao gồm trình tự nucleotit mà mã hoá một hoặc nhiều polypeptit gp140 (ví dụ, thứ hai, thứ ba hoặc thứ tư) khác nhau (ví dụ, polypeptit gp140 giống ít nhất 95% (ví dụ, ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4 và/hoặc 5). Theo một số phương án, phân tử axit nucleic bao gồm một hoặc nhiều trình tự có vị trí đi vào ribosom bên trong (IRES) để cho phép sự biểu hiện của nhiều chuỗi peptit hoặc polypeptit từ sản phẩm phiên mã phân tử axit nucleic đơn.

Theo khía cạnh thứ sáu, sáng chế đề xuất vật truyền bao gồm một hoặc nhiều phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ năm. Theo một số phương án, vật truyền là vật truyền adenovirut hoặc vật truyền poxvirut (virut phát ban). Vật truyền adenovirut có thể thu được, ví dụ từ kiểu huyết thanh adenovirut tái tổ hợp 11 (Ad11), kiểu huyết thanh adenovirut 15 (Ad15), kiểu huyết thanh adenovirut 24 (Ad24), kiểu huyết thanh adenovirut 26 (Ad26), kiểu huyết thanh adenovirut 34 (Ad34), kiểu huyết thanh adenovirut 35 (Ad35), kiểu huyết thanh adenovirut 48 (Ad48), kiểu huyết thanh adenovirut 49 (Ad49), kiểu huyết thanh adenovirut 50 (Ad50), Pan9 (AdC68), hoặc biến thể khảm của nó (ví dụ, kiểu huyết thanh adenovirut 5 HVR48 (Ad5HVR48)). Vật truyền poxvirut có thể thu được, ví dụ, từ virut gây bệnh đậu mùa Ankara được cải biến (MVA).

Theo khía cạnh thứ bảy, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc làm giảm

nguy cơ lây nhiễm HIV ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này bằng cách cho đối tượng, như động vật có vú, ví dụ con người dùng lượng hữu hiệu về mặt điều trị của dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các trime ổn định của khía cạnh thứ nhất hoặc thứ hai, dược phẩm của khía cạnh thứ ba, vacxin của khía cạnh thứ tư, phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ năm và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ sáu). Việc điều trị, theo khía cạnh thứ bảy của sáng chế, có thể là điều trị hoặc phòng bệnh.

Theo khía cạnh thứ tám, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm hoạt tính qua trung gian HIV ở đối tượng bị lây nhiễm HIV bằng cách cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu về mặt điều trị của dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các trime ổn định của khía cạnh thứ nhất hoặc thứ hai, dược phẩm của khía cạnh thứ ba, vacxin của khía cạnh thứ tư, phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ năm, và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ sáu). Theo một số phương án, hoạt tính qua trung gian HIV là sự lan truyền virus, lây nhiễm hoặc sự dung hợp tế bào. Sự dung hợp tế bào có thể là, ví dụ, sự đi vào của tế bào đích hoặc sự hình thành hợp bào. Theo một số phương án, độ chuẩn HIV ở đối tượng bị lây nhiễm HIV là được giảm (ví dụ, ít nhất khoảng 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc nhiều hơn so với độ chuẩn HIV của đối tượng trước khi điều trị hoặc phòng trừ đối tượng bị lây nhiễm HIV nhưng không được điều trị bằng (các) dược phẩm của sáng chế) sau khi dùng vacxin cho đối tượng, như động vật có vú, ví dụ, con người.

Theo một số phương án, dược phẩm (ví dụ, vacxin) được dùng trong cơ, trong tĩnh mạch, trong da, dưới da, trong động mạch, trong màng bụng, trong thương tổn, trong sọ, trong khớp, trong tuyến tiền liệt, trong màng phổi, trong khí quản, trong mũi, trong thủy tinh thể, trong âm đạo, trong trực tràng, cục bộ, trong khối u, qua màng bụng, dưới da, dưới màng kết, trong túi, màng nhầy, trong màng ngoài tim, trong rốn, trong nhãn cầu, qua đường miệng, cục bộ, khu trú, bằng việc xông, bằng việc tiêm, bằng việc truyền, bằng việc truyền liên tục, bằng việc truyền khu trú tẩm tế bào đích một cách trực tiếp, bằng ống thông, bằng việc rửa, bằng ống thông vào dạ dày, trong dược phẩm dạng kem hoặc dạng lỏng. Theo một số phương án, đối tượng được dùng ít nhất một liều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 liều hoặc nhiều hơn) của dược phẩm hoặc được dùng ít nhất một liều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 liều hoặc nhiều hơn)

hàng ngày, hàng tuần, hàng tháng hoặc hàng năm. Khoảng thời gian dùng có thể được xác định (ví dụ, từ 1 đến 4 tuần, từ 1 đến 12 tháng, từ 1 đến 20 năm) hoặc có thể trong cuộc đời của đối tượng. Theo các phương án khác, đối tượng được dùng ít nhất hai liều (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 liều hoặc nhiều hơn) của dược phẩm. Theo phương án khác nữa, dược phẩm được dùng cho đối tượng như dược phẩm cơ bản hoặc liều cao hoặc theo chế độ cơ bản-liều cao. Theo phương án được ưu tiên, một hoặc nhiều dược phẩm (ví dụ, vaccin) của sáng chế được dùng như liều cao.

Theo phương án được ưu tiên khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm HIV ở đối tượng bằng cách cho dùng, như dược phẩm cơ bản trong chế độ dùng vaccin cơ bản-liều cao, vaccin mà bao gồm polypeptit thứ nhất có ít nhất 85% trình tự axit amin (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) giống với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 6, hoặc ít nhất vật truyền thứ nhất (ví dụ, vật truyền adenovirut hoặc poxvirut) mà bao gồm phân tử axit nucleic thứ nhất mà mã hoá polypeptit thứ nhất. Tuy ý là, polypeptit thứ hai có ít nhất 85% (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) giống với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 7 cũng có thể được dùng trong tổ hợp với polypeptit thứ nhất hoặc, nếu vật truyền thứ nhất mã hoá polypeptit thứ nhất được dùng, vật truyền thứ hai (ví dụ, vật truyền adenovirut hoặc poxvirut) bao gồm phân tử axit nucleic thứ hai mà mã hoá polypeptit thứ hai có thể được dùng trong tổ hợp với vật truyền thứ nhất. Dược phẩm liều cao trong chế độ cơ bản-liều cao có thể bao gồm một hoặc nhiều trong số (các) dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các trime ổn định của khía cạnh thứ nhất hoặc thứ hai, dược phẩm của khía cạnh thứ ba, vaccin của khía cạnh thứ tư, phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ năm, và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ sáu). Vẫn theo phương án khác nữa, dược phẩm cơ bản trong chế độ liều cơ bản-liều cao có thể bao gồm (các) polypeptit có (các) trình tự của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: từ 8 đến 32, hoặc một hoặc nhiều vật truyền bao gồm các phân tử axit nucleic mà mã hoá bất kỳ trong số các SEQ ID NO: từ 8 đến 32, tiếp theo liều bao bao gồm một hoặc nhiều trong số (các) dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các trime ổn định của khía cạnh thứ nhất hoặc thứ hai, dược phẩm của khía cạnh thứ ba, vaccin của khía cạnh thứ tư, phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ năm, và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ sáu).

Vẫn theo phương án khác, một hoặc nhiều dược phẩm của sáng chế (ví dụ, vaccin) được dùng như dược phẩm cơ bản trong chế độ cơ bản-liều cao và dược phẩm liều cao là dược phẩm vaccin khác nhau, ví dụ, vaccin mà bao gồm một hoặc nhiều polypeptit có ít nhất 85% trình tự axit amin (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) giống với, hoặc có trình tự của, bất kỳ một hoặc nhiều trong số các SEQ ID NO: từ 6 đến 32 (tốt hơn là polypeptit của SEQ ID NO: 6 và/hoặc 7), hoặc một hoặc nhiều vật truyền (ví dụ, vật truyền adenovirut hoặc poxvirut) mỗi trong số chung bao gồm phân tử axit nucleic mà mã hoá một hoặc nhiều polypeptit có ít nhất 85% (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) giống với, hoặc có trình tự của, một hoặc nhiều trong số các SEQ ID NO: từ 8 đến 32 (tốt hơn là vật truyền mã hoá polypeptit của SEQ ID NO: 6 và/hoặc 7).

Theo một số phương án, đối tượng có thể, ví dụ, được cho dùng dược phẩm polypeptit của sáng chế (ví dụ, trime gp140 Env ổn định của sáng chế) trong dược phẩm không chứa vật truyền. Dược phẩm polypeptit được dùng có thể bao gồm khoảng từ 1µg đến 1mg trime Env ổn định và tốt hơn nữa là khoảng từ 50µg đến 300µg trime Env ổn định của sáng chế.

Theo các phương án khác, trong đó vật truyền phân phối là virut, đối tượng có thể được dùng ít nhất khoảng 1×10^3 hạt virut (vp)/liều hoặc khoảng từ 1×10^1 đến 1×10^{14} vp/liều, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1×10^3 đến 1×10^{12} vp/liều, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1×10^5 đến 1×10^{11} vp/liều. Dược phẩm có thể được dùng, ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, hoặc 60 phút, 2, 4, 6, 10, 15, hoặc 24 giờ, 2, 3, 5, hoặc 7 ngày, 2, 4, 6 hoặc 8 tuần hoặc thậm chí 3, 4, hoặc 6 tháng trước phơi nhiễm hoặc trước chẩn đoán, hoặc có thể được dùng cho đối tượng từ 15 đến 30 phút hoặc 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 20, 24, 48, hoặc 72 giờ, 2, 3, 5, hoặc 7 ngày, 2, 4, 6 hoặc 8 tuần, 3, 4, 6, hoặc 9 tháng, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 năm hoặc lâu hơn sau chẩn đoán hoặc sau phơi nhiễm hoặc với HIV. Đối tượng được dùng một hoặc nhiều liều của dược phẩm một lần hàng ngày, hàng tuần, hàng tháng hoặc hàng năm. Khi điều trị lây nhiễm HIV, (các) dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các trime ổn định của khía cạnh thứ nhất, thứ hai hoặc thứ ba, dược phẩm của khía cạnh thứ tư hoặc thứ năm, vaccin của khía cạnh thứ sáu, phân tử axit nucleic của khía cạnh

thứ bảy và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ tám) có thể được dùng cho đối tượng trước khi xuất hiện triệu chứng lây nhiễm HIV hoặc bệnh/hội chứng (ví dụ, hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (acquired immune deficiency syndrome-AIDS)) hoặc chẩn đoán đáng tin cậy hoặc sau khi chẩn đoán hoặc hội chứng trở nên rõ ràng. (Các) dược phẩm có thể được dùng, ví dụ, ngay sau khi chẩn đoán hoặc nhận biết triệu chứng lâm sàng hoặc 2, 4, 6, 10, 15, hoặc 24 giờ, 2, 3, 5, hoặc 7 ngày, 2, 4, 6 hoặc 8 tuần hoặc thậm chí 3, 4, hoặc 6 tháng sau khi chẩn đoán hoặc phát hiện triệu chứng.

Theo khía cạnh thứ chín, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất vacxin để điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm HIV ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này. Phương pháp bao gồm các bước: (a) cho axit nucleic của khía cạnh thứ hai của sáng chế (ví dụ, axit nucleic mà còn bao gồm vật truyền của khía cạnh thứ tám) với tế bào; và (b) biểu hiện axit nucleic trong tế bào để tạo thành trime ổn định. Theo một số phương án, phương pháp được thực hiện *in vitro* hoặc *ex vivo*. Theo một số phương án, tế bào là tế bào vi khuẩn, thực vật hoặc động vật có vú (ví dụ, tế bào của người hoặc động vật có vú không phải con người). Theo phương án được ưu tiên, tế bào động vật có vú là tế bào 293T.

Theo khía cạnh cuối cùng, sáng chế đề xuất kit bao gồm: (a) dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các trime ổn định của khía cạnh thứ nhất, thứ hai hoặc thứ ba, dược phẩm của khía cạnh thứ tư hoặc thứ năm, vacxin của khía cạnh thứ sáu, phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ bảy và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ tám, ví dụ, vacxin bao gồm các trime mEnv và/hoặc mEnv+ và trime cEnv); (b) chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng được dụng; và (c) các chỉ dẫn để sử dụng nó. Kit tùy ý có thể bao gồm chất bổ trợ.

Theo các phương án được ưu tiên của tất cả các khía cạnh của sáng chế, đối tượng là động vật có vú, tốt hơn là động vật linh trưởng, như con người.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1A thể hiện trình tự axit amin của polypeptit vỏ ngoài (Env) gp140 của virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) khảm ("mEnv"; SEQ ID NO: 1) của sáng chế. Vùng được đóng khung để chỉ trình tự tín hiệu/dẫn đầu; vùng được gạch dưới để chỉ

gp120; vùng chỉ gồm văn bản không đánh dấu để chỉ gp41 miền ngoài; và vùng được gạch dưới kép để chỉ miền trime hoá/oligome hoá T4-fibritin “foldon”.

Fig.1B thể hiện trình tự axit amin của polypeptit gp140 Env HIV khảm (“mEnv+”; SEQ ID NO: 2) của sáng chế. Trình tự polypeptit được tối ưu hoá tiếp và bao gồm trình tự tín hiệu/dẫn đầu khác nhau để tối ưu hoá sự biểu hiện protein (vùng hộp); việc bổ sung các đột biến làm bất hoạt vị trí tách (đột biến thay thế E/E) (các góc được khoanh tròn); và bổ sung vị trí nhân tố Xa (vùng được gạch dưới zig-zag). Các vùng khác được lưu ý như trên Fig.1A.

Fig.1C thể hiện trình tự axit amin của polypeptit Env nhánh C được tối ưu hoá (cEnv; SEQ ID NO: 3) của sáng chế. Tất cả các vùng được lưu ý như trên Fig.1B.

Fig.2 là thẩm tách Western thể hiện mức biểu hiện của mEnv và mEnv+ lần lượt trong đường 3 và 4, so với cEnv và vật truyền biểu hiện đối chứng (pVRC8400) lần lượt trong các đường 1 và 2.

Fig.3 là sắc phổ lọc gel mô tả phép tách rửa đồng nhất các trime mEnv+ sáu ngày sau chuyển nhiễm PEI của tế bào 293T trong các chai trực lẫn (750-ml dịch nổi).

Fig.4 là hình ảnh của SDS-PAGE từ gradien 4 đến 16% thể hiện các phân đoạn đỉnh của mEnv+ sau khi tách rửa lọc gel. Hiệu suất protein cuối cùng/lần tinh chế bằng khoảng 8,44mg sau khi lọc gel. Nồng độ cuối cùng bằng khoảng 5,62mg/ml.

Fig.5A là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime nhánh C gp140 Env (cEnv) được thử nghiệm đối với panen nhiều nhánh của dãy 1 thể phân lập nhảy trung hòa bao gồm pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh B (SF162.LS và Bal.26) và nhánh C (MW965.26 và TV1.21), cũng như virut gây bệnh bạch cầu cấp tính ở chuột (MuLV) (đối chứng âm tính).

Fig.5B là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime gp140 Env version-1 khảm (mEnv) được thử nghiệm đối với panen nhiều nhánh của dãy 1 thể phân lập nhảy trung hòa bao gồm

pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh B (SF162.LS và Bal.26) và nhánh C (MW965.26 và TV1.21), cũng như virut gây bệnh bạch cầu cấp tính ở chuột (MuLV) (đối chứng âm tính).

Fig.5C là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với panen nhiều nhánh của dãy 1 thể phân lập nhảy trung hòa bao gồm pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh B (SF162.LS và Bal.26) và nhánh C (MW965.26 và TV1.21), cũng như virut gây bệnh bạch cầu cấp tính ở chuột (MuLV) (đối chứng âm tính).

Fig.6A là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh A nhảy trung hoà, MS208.A1.

Fig.6B là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh A nhảy trung hoà, Q23.17.

Fig.7A là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1A pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh B nhảy trung hòa ở mức cao, SF162.LS.

Fig.7B là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh B nhảy trung hoà, BaL.26.

Fig.7C là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh B nhảy trung hoà, SS1196.1.

Fig.7D là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh B nhảy trung hoà, 6535.3.

Fig.8A là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1A pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh C nhảy trung hoà ở mức cao, MW965.26.

Fig.8B là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh C nhảy trung hoà, TV1.21.

Fig.8C là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh C nhảy trung hoà, ZM109F.PB4.

Fig.8D là biểu đồ thể hiện phép phân tích định lượng của độ chuẩn ID₅₀ khi xác định các đáp ứng kháng thể trung hòa TZM.bl ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv, hoặc trime cEnv và mEnv được thử nghiệm đối với dãy 1B qua trung gian pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 nhánh C nhảy trung hoà, ZM197M.PB7.

Fig.9A là thấm tách Western thể hiện sự biểu hiện của HIV-1 mEnv, mEnv2, và mEnv3 48 giờ sau khi chuyển nhiễm chuyển nhiễm tạm thời tế bào 293Ts. cEnv (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270) và Clade A (92UG037.8) gp140 (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111) được sử dụng làm đối chứng dương tính.

Fig.9B là biểu đồ thể hiện profin sắc ký loại trừ theo kích thước của mEnv tinh chế.

Fig.9C là biểu đồ thể hiện profin sắc ký loại trừ theo kích thước của mEnv sau khi tan băng và ủ ở 4°C trong 7 ngày. Các tín hiệu đối với mẫu được làm tan giá và mẫu ủ ở 4°C trong 7 ngày chồng khít lên nhau.

Fig.10A là biểu đồ thể hiện profin gắn kết cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) của mEnv với CD4. CD4 hai miền có thể hòa tan được ghép cặp theo cách không thuận nghịch với CM5 chip và mEnv chảy qua chip ở nồng độ từ 62,5 đến 1000nM. Sensorgram được thể hiện theo màu đen và khớp động học được thể hiện màu xám; hai tín hiệu chồng khít lên nhau. RU = đơn vị đáp ứng.

Fig.10B là biểu đồ thể hiện profin gắn kết SPR của mEnv với 17b IgG. 17b IgG được bắt giữ và mEnv trime chảy qua IgG được gắn kết ở nồng độ 1000nM với sự có mặt (vết xám) hoặc không có mặt (vết đen) của CD4 được gắn kết với chất gây miễn dịch.

Các hình vẽ Fig.10C và Fig.10D là các biểu đồ thể hiện profin gắn kết SPR của mEnv với VRC01 và 3BNC117. VRC01 IgG (C) hoặc 3BNC117 IgG (D) được bắt giữ và mEnv trime chảy qua IgG được gắn kết ở nồng độ từ 62,5 đến 1000nM. Sensorgram được thể hiện màu đen và khớp động học được thể hiện màu xám; trong cả hai biểu đồ, hai tín hiệu chồng khít lên nhau. RU = đơn vị đáp ứng.

Các hình vẽ từ Fig.11A đến Fig.11F là các biểu đồ thể hiện profin gắn kết SPR của mEnv với bnAb PGT121 phụ thuộc glycan, PGT126 và bnAbs PG9 và PG16 phụ thuộc nhóm bốn. Đối với tất cả các thử nghiệm, protein A được ghép cặp theo cách không thuận nghịch với CM5 chip và IgG được bắt giữ. M gp140 khả năng được chảy qua (A) PGT121 IgG và (B) PGT126 IgG được gắn kết ở nồng độ từ 62,5 đến 1000nM. gp140 khả năng được chảy qua (C) PG9 IgG và (D) PG16 IgG được gắn kết. gp120 khả năng cũng được chảy qua (E) PG9 IgG và (F) PG16 IgG được gắn kết. Sensorgram được thể

hiện màu đen và khớp động hợp được thể hiện màu xám; trong tất cả các biểu đồ, hai tín hiệu chồng khít lên nhau. RU = đơn vị đáp ứng.

Fig.12A là việc căn thẳng hàng trình tự của các trình tự 2F5 và 4E10 epitop với trình tự trime mEnv.

Fig.12B là phép thâm tách Western của 2F5 và 4E10 được gắn kết với (1) mEnv (2) 92UG037.8 gp140 (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270) (đối chứng dương tính) và (3) M gp120 khám (đối chứng âm tính).

Fig.12C là bộ biểu đồ thể hiện 2F5 và 4E10 gắn kết ELISA của mEnv. mEnv (gp140 khám) và gp120 khám không thể hiện tín hiệu có thể phát hiện. gp41 qua trung gian Nhánh A (92UG037.8) (Frey et al. (2008) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 105:3739) (đối chứng dương tính) được thể hiện là hình vuông, mEnv được thể hiện như hình tam giác. Đường chấm cho biết ngưỡng cơ bản của thử nghiệm.

Fig.12D là bộ biểu đồ thể hiện SPR gắn kết của protein-A được bắt giữ 2F5 và 4E10 với mEnv, với GCN4 gp41 đối chứng dương tính màu đen và mEnv màu xám.

Fig.13 là biểu đồ thể hiện sự lây nhiễm mEnv pseudovirion của tế bào TZM.bl. Pseudovirion được sinh ra với M gp160 Env khám có chiều dài nguyên vẹn được sử dụng để chuyển nhiễm tế bào TZM.bl đích biểu hiện CD4 và đồng thụ thể CCR5/CXCR4 trong thử nghiệm TZM.bl. Đường nằm ngang nét đứt cho biết nền của tế bào TZM.bl đơn lẻ mà không có virus (đối chứng âm tính).RLU, đơn vị huỳnh quang tương đối.

Các hình vẽ Fig.14A và Fig.14B là các biểu đồ thể hiện điểm cuối ELISA gắn kết đáp ứng kháng thể. Huyết thanh thu được 4 tuần sau mỗi lần gây miễn dịch ở chuột lang được gây miễn dịch với gp140 nhánh C (cEnv), mEnv hoặc cEnv + mEnv (C+M) gp140 hoá trị hai trong (A) chất nền M hoặc (B) chất phụ trợ CpG/Emulsigen được thử nghiệm trong các ELISA điểm cuối đối với các kháng nguyên trime mEnv và cEnv. Các dữ liệu được thể hiện như các độ chuẩn trung bình nhân ở mỗi thời điểm +/- độ lệch tiêu chuẩn. Đường nét đứt nằm ngang cho biết ngưỡng cơ bản thử nghiệm. *P<0,05; thử nghiệm t không cặp đôi

Các hình vẽ Fig.15A và Fig.15B là các biểu đồ thể hiện các độ chuẩn kháng thể làm trung hòa đối với các panen thể phân lập dãy 1 HIV-1 trong thử nghiệm TZM.bl,

bằng cách sử dụng chất bổ trợ nền M. Huyết thanh thu được sau khi dùng vaccin trime thứ ba trong cEnv (C), mEnv (M), hoặc chuột lang được dùng vaccin cEnv + mEnv (C+M) hoá trị hai được thử nghiệm đối với panen nhiều nhánh của dãy 1 (MW965.26, SF162.LS, Bal.26, DJ263.8, TV1.21, MS208, Q23.17, SS1196.1, 6535.3, ZM109.F, ZM197M) HIV-1 Env pseudovirut trong các thử nghiệm làm trung hòa TZM.bl. Các đường nằm ngang cho biết các độ chuẩn trung bình. Đường nét đứt nằm ngang cho biết ngưỡng cơ bản thử nghiệm. Huyết thanh từ các thời điểm trước khi dùng vaccin thể hiện ngưỡng cơ bản tối thiểu. * $P < 0,05$; thử nghiệm Mann-Whitney.

Các hình vẽ Fig.15C và Fig.15D là các biểu đồ thể hiện các độ chuẩn kháng thể làm trung hòa đối với các panen thể phân lập của dãy 1 HIV-1 trong thử nghiệm TZM.bl, bằng cách sử dụng chất bổ trợ CpG/Emulsigen. Huyết thanh thu được sau khi dùng vaccin trime thứ ba trong cEnv (C), mEnv (M), hoặc chuột lang được dùng vaccin cEnv + mEnv (C+M) hoá trị hai được thử nghiệm đối với panen nhiều nhánh của dãy 1 (MW965.26, SF162.LS, Bal.26, DJ263.8, TV1.21, MS208, Q23.17, SS1196.1, 6535.3, ZM109.F, ZM197M) HIV-1 Env pseudovirut trong các thử nghiệm làm trung hòa TZM.bl. Các đường nằm ngang cho biết các độ chuẩn trung bình. Đường nét đứt gây nằm ngang cho biết ngưỡng cơ bản thử nghiệm. Huyết thanh từ các thời điểm trước khi dùng vaccin thể hiện ngưỡng cơ bản tối thiểu. * $P < 0,05$; thử nghiệm Mann-Whitney.

Các hình vẽ Fig.16A và Fig.16B là các biểu đồ thể hiện các độ chuẩn kháng thể làm trung hòa của huyết thanh chuột lang đối với các thể phân lập HIV-1 dãy 2 nhánh B và C trong thử nghiệm làm trung hòa A3R5. Huyết thanh thu được trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin trime thứ ba (Post) trong nền M được bổ sung chất bổ trợ cEnv, mEnv hoặc được dùng vaccin cEnv + mEnv (C+M) hoá trị hai được thử nghiệm đối với (A) thể phân lập dãy 2 nhánh C Ce_1086_B2, Ce2010 và Du422.1 và (B) thể phân lập dãy 2 nhánh B SC22.3C2, SUMA và REJO trong các thử nghiệm làm trung hòa A3R5. Đường nét đứt nằm ngang cho biết ngưỡng cơ bản thử nghiệm. * $P < 0,05$; thử nghiệm Mann-Whitney.

Fig.17A là biểu đồ thể hiện độ tinh khiết mạnh của phiên bản tối ưu hoá của M gp140 khả năng dùng để chỉ “mEnv+” trong dược phẩm sạch 2-lit.

Fig.17B là biểu đồ thể hiện độ tan mạnh của mEnv+ sau khi đóng băng/tan băng hoặc ủ ở 4°C trong 1 tuần. Các tín hiệu đối với lạnh đông-tan giả và ủ ở 4°C trong 7 ngày xếp chồng chặt chẽ.

Fig.17C là SDS-PAGE gel thể hiện độ tan mạnh của mEnv+ sau khi đóng băng/tan băng hoặc ủ ở 4°C trong 1 tuần.

Các hình vẽ từ Fig.18A đến Fig.18B là các biểu đồ thể hiện tính gây miễn dịch của mEnv bằng cách sử dụng Adju-Phos làm chất bổ trợ so với mEnv+ bằng cách sử dụng các chất bổ trợ khác nhau. mEnv và mEnv+ thể hiện tính gây miễn dịch có thể so sánh như được đo bằng các kháng thể gắn kết bởi ELISA.

Fig.19 là bộ biểu đồ thể hiện các phép phân tích định lượng của các độ chuẩn ID₅₀, đo TZM.bl làm trung hòa các đáp ứng kháng thể ở chuột lang trước khi dùng vaccin (Pre) và sau khi dùng vaccin (Post). mEnv và mEnv+ thể hiện tính gây miễn dịch có thể so sánh trong các thử nghiệm mà không quan tâm đến chất bổ trợ.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “khoảng” có nghĩa là +/- 10% trị số được trích dẫn.

Thuật ngữ “adenovirut” có nghĩa là virut hai mươi mặt không có vỏ ngoài có kích cỡ trung bình (từ 90 đến 100nm) mà bao gồm capsit và ADN hệ gen mạch thẳng sợi kép. Adenovirut có thể là adenovirut xuất hiện tự nhiên, nhưng được phân lập (ví dụ, sAd4287, sAd4310A, hoặc sAd4312) hoặc adenovirut tái tổ hợp (ví dụ, sAd4287, sAd4310A, hoặc sAd4312 không có khả năng sao chép hoặc có khả năng sao chép, hoặc biến thể khả năng của nó).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “việc dùng” có nghĩa là phương pháp dùng liều được phẩm (ví dụ, được phẩm của sáng chế, như bất kỳ một trong số các vaccin của các khía cạnh thứ nhất hoặc thứ tư, được phẩm của khía cạnh thứ ba, phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ năm, và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ sáu) cho đối tượng. Được phẩm được dùng trong các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này có thể được dùng, ví dụ, trong cơ, trong tĩnh mạch, trong da, dưới da, trong động

mạch, trong màng bụng, trong thương tổn, trong sọ, trong khớp, trong tuyến tiền liệt, trong màng phổi, trong khí quản, trong mũi, trong thủy tinh thể, trong âm đạo, trong trực tràng, cục bộ, trong khối u, qua màng bụng, dưới da, dưới màng kết, trong túi, màng nhầy, trong màng ngoài tim, trong rốn, trong nhãn cầu, qua đường miệng, cục bộ, khu trú, bằng việc xông, bằng việc tiêm, bằng việc truyền, bằng việc truyền liên tục, bằng việc truyền khu trú tẩm tế bào đích một cách trực tiếp, bằng ống thông, bằng việc rửa, bằng ống thông vào dạ dày, trong dạng phẩm dạng kem hoặc dạng lỏng. Phương pháp dùng được ưu tiên có thể thay đổi phụ thuộc vào các nhân tố khác nhau (ví dụ, các thành phần của dược phẩm được dùng và mức trầm trọng của tình trạng bệnh được điều trị).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “nhánh” dùng để chỉ virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) được phân loại theo mức tương tự di truyền của chúng. Hiện nay, có ba nhóm của các thể phân lập HIV-1: M, N và O. Nhóm M (chúng chính) gồm có ít nhất mười nhánh, từ A đến J. Nhóm O (chúng vòng ngoài) có thể gồm có nhiều nhánh tương tự. Nhóm N là thể phân lập HIV-1 mới mà không được phân loại theo nhóm M hoặc O. Theo các phương án lấy làm ví dụ, dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các vaccin của các khía cạnh thứ nhất hoặc thứ tư, dược phẩm của khía cạnh thứ ba, phân tử axit nucleic của khía cạnh thứ năm, và/hoặc vật truyền của khía cạnh thứ sáu) như được mô tả trong bản mô tả này sẽ nhận biết và làm tăng đáp ứng miễn dịch (ví dụ, làm trung hòa kháng huyết thanh kháng HIV) đối với hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười hoặc nhiều nhánh và/hoặc hai hoặc nhiều nhóm HIV.

Trong bản mô tả này và các điểm yêu cầu bảo hộ, thuật ngữ “bao gồm” hoặc các biến thể như “sự bao gồm” hoặc “việc bao gồm,” sẽ được hiểu ngụ ý là gồm có các số nguyên đã nêu hoặc nhóm số nguyên nhưng không gồm có số nguyên hoặc nhóm số nguyên khác bất kỳ.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “glycoprotein vỏ ngoài” dùng để chỉ, không không chỉ giới hạn ở, glycoprotein mà được biểu hiện trên bề mặt của vỏ ngoài của các hạt virus HIV và bề mặt của màng sinh chất của tế bào bị nhiễm HIV. Gen *env* mã hoá gp160, mà được tách nhờ phân giải protein thành các protein vỏ ngoài

(Env) gp120 và gp41. Gp120 gắn kết với thụ thể CD4 trên tế bào đích mà có thụ thể này, như ví dụ, tế bào hỗ trợ T. Gp41 không được gắn kết cộng hoá trị với gp120, và tạo ra bước thứ hai mà nhờ đó HIV đi vào tế bào. Ban đầu, nó được giấu trong màng virut, nhưng khi gp120 gắn kết với thụ thể CD4, gp120 làm thay đổi cấu hình của nó làm cho gp41 trở nên được phơi nhiễm, ở đó nó có thể trợ giúp trong việc dung hợp với tế bào vật chủ.

Thuật ngữ “sản phẩm gen” có nghĩa là bao gồm các ARN thông tin được phiên mã từ gen cũng như polypeptit được dịch mã từ các ARN này.

Thuật ngữ “phân tử axit nucleic khác loại” hoặc “gen khác loại” có nghĩa là phân tử axit nucleic ngoại sinh bất kỳ (ví dụ, phân tử axit nucleic mã hoá polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế) mà có thể được chèn vào trong vật truyền của sáng chế (ví dụ, vật truyền adenovirut hoặc poxvirut) để truyền vào trong tế bào, mô hoặc cơ quan, đối với sự biểu hiện tiếp theo của sản phẩm gen quan tâm hoặc mảnh của nó được mã hoá bằng phân tử axit nucleic khác loại hoặc gen. Theo phương án được ưu tiên, phân tử axit nucleic khác loại, mà có thể được dùng cho tế bào hoặc đối tượng như một phần của sáng chế, có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phân tử axit nucleic mã hoá ít nhất một polypeptit Env khả năng tối ưu (ví dụ, polypeptit Env1 khả năng, như mEnv và mEnv+) và/hoặc polypeptit Env nhánh C (ví dụ, polypeptit Env1 nhánh C, như cEnv).

Thuật ngữ “virut gây suy giảm miễn dịch ở người” hoặc “HIV” có nghĩa là virut thuộc chi *Lentivirinae*, một phần của họ *Retroviridae*, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, HIV typ 1 (HIV-1) và HIV typ 2 (HIV-2), hai loại HIV lây nhiễm cho con người.

Thuật ngữ “đáp ứng miễn dịch” có nghĩa là đáp ứng bất kỳ với kháng nguyên hoặc thể quyết định kháng nguyên bởi hệ miễn dịch của đối tượng (ví dụ, con người). Các đáp ứng miễn dịch lấy làm ví dụ bao gồm các đáp ứng miễn dịch thể dịch (ví dụ, sản xuất kháng thể đặc hiệu kháng nguyên, ví dụ, làm trung hòa kháng thể (NAb)) và đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào (ví dụ, sự tăng sinh tế bào bạch huyết).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “làm giảm” đối với HIV dùng để chỉ việc thu nhỏ hoặc giảm hoạt tính qua trung gian HIV (ví dụ, sự lây nhiễm, dung

hợp (ví dụ, sự đi vào của tế bào đích và/hoặc sự hình thành hợp bào), sự lan truyền virus, v.v) và/hoặc giảm độ chuẩn virus. Hoạt tính qua trung gian HIV và/hoặc độ chuẩn HIV có thể được giảm 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9% hoặc nhiều hơn so với việc giảm của đối tượng đối chứng (ví dụ, đối tượng không được điều trị hoặc đối tượng được điều trị bằng giả thuốc).

Thuật ngữ “kháng thể trung hoà” hoặc “NAb” có nghĩa là kháng thể mà được tinh chế từ hoặc có mặt trong, huyết thanh và mà nhận biết kháng nguyên đặc hiệu (ví dụ, glycoprotein Env HIV, như polypeptit gp140 hoặc polypeptit gp120) và ức chế (các) tác dụng của kháng nguyên ở vật chủ (ví dụ, con người). Như được sử dụng trong bản mô tả này, kháng thể có thể là kháng thể đơn hoặc nhiều kháng thể.

Thuật ngữ “axit nucleic” hoặc “polynucleotit,” như được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này, dùng để chỉ polyme của nucleotit có chiều dài bất kỳ và bao gồm ADN và ARN. Các nucleotit có thể là deoxyribonucleotit, ribonucleotit, nucleotit được cải biến hoặc bazơ và/hoặc thể tương tự của chúng hoặc chất bất kỳ mà có thể được hợp nhất vào trong polyme bằng ADN hoặc ARN polymeraza hoặc bằng phản ứng tổng hợp. Polynucleotit có thể bao gồm các nucleotit được cải biến, như các nucleotit được metyl hoá và các thể tương tự của chúng. Nếu có mặt, việc cải biến đối với cấu trúc nucleotit có thể được tạo ra trước hoặc sau khi lắp ráp polyme. Trình tự của nucleotit có thể bị gián đoạn bởi các thành phần không phải nucleotit. Polynucleotit còn có thể được cải biến sau tổng hợp, như bằng việc tiếp hợp với chất đánh dấu. Các kiểu cải biến khác bao gồm, ví dụ, “mũ”, sự thay thế của một hoặc nhiều nucleotit xuất hiện tự nhiên bằng thể tương tự, các cải biến bên trong nucleotit như, ví dụ, các cải biến với các liên kết không mang điện (ví dụ, metyl phosphonat, phosphotrieste, phosphoamidat, carbamat, v.v) và các liên kết mang điện (ví dụ, phosphorothioat, phosphorodithioat, v.v), các liên kết chứa phản đối xứng như, ví dụ, protein (ví dụ, nucleaza, độc tố, kháng thể, peptit tín hiệu, poly-L-lysine, v.v), các liên kết với các chất xen kẽ (ví dụ, acridin, psoralen, v.v), các liên kết chứa các chất chelat hoá (ví dụ, kim loại, kim loại phóng xạ, bo, kim loại oxy hoá, v.v), các liên kết chứa chất alkyl hoá, các

liên kết có các liên kết cải biến (ví dụ, axit alpha anomeric nucleic, v.v), cũng như các dạng không cải biến của (các) polynucleotit. Hơn nữa, bất kỳ trong số các nhóm hydroxyl thường có mặt trong đường có thể được thay thế, ví dụ bằng các nhóm phosphonat, các nhóm phosphat, được bảo vệ bằng các nhóm bảo vệ tiêu chuẩn hoặc được hoạt hoá để tạo ra các liên kết bổ sung đối với các nucleotit bổ sung hoặc có thể được tiếp hợp với các chất mang dạng rắn hoặc bán rắn. OH đầu cuối 5' và 3' có thể được phosphoryl hoá hoặc được thế bằng amin hoặc các phần nhóm nắp hữu cơ chứa từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon. Các hydroxyl khác cũng có thể tạo dẫn xuất đối với các nhóm bảo vệ tiêu chuẩn. Các polynucleotit cũng có thể chứa các dạng tương tự của đường ribosa hoặc deoxyriboza mà thường đã được biết đến trong lĩnh vực này, bao gồm ví dụ, 2'-O-metyl-, 2'-O-allyl, 2'-flo- hoặc 2'-azido-riboza, chất tương tự đường vòng cacbon, đường alpha-anomeric, đường epimeric như arabinoza, xyloza hoặc lyxoza, đường pyranoza, đường furanoza, sedoheptuloza, chất tương tự không vòng và các chất tương tự bazơ nucleosit như metyl ribosit. Một hoặc nhiều liên kết phosphodiester có thể được thay thế bằng các nhóm liên kết khác nhau. Các nhóm liên kết khác nhau này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các phương án trong đó phosphat được thay thế bằng P(O)S ("thioat"), P(S)S ("dithioat"), "(O)NR₂" ("amidat"), P(O)R, P(O)OR', CO hoặc CH₂ ("formaxetal"), trong đó mỗi R hoặc R' độc lập là H hoặc alkyl (1-20C) được thế hoặc không được thế tùy ý chứa liên kết ete (-O-), aryl, alkenyl, xycloalkyl, xycloalkenyl hoặc araldyl. Không phải tất cả các liên kết trong polynucleotit cần phải giống nhau. Phần mô tả trên đây áp dụng cho tất cả các polynucleotit được đề cập trong bản mô tả này, bao gồm ARN và ADN.

Thuật ngữ "tối ưu hoá" có nghĩa là polypeptit gây miễn dịch mà không phải là peptit xuất hiện tự nhiên, polypeptit hoặc protein, như polypeptit không xuất hiện tự nhiên (ví dụ, polypeptit gp140 của sáng chế). Các trình tự polypeptit virus tối ưu ban đầu được sinh ra bằng cách cải biến trình tự axit amin của một hoặc nhiều sản phẩm gen virus xuất hiện tự nhiên (ví dụ, peptit, polypeptit, và protein, ví dụ, polypeptit Env virus, ví dụ, polypeptit Env1, Env2, và/hoặc Env3 virus) để làm tăng chiều rộng, cường độ, chiều sâu hoặc tuổi thọ của đáp ứng miễn dịch kháng virus (ví dụ, các đáp ứng miễn dịch tế bào hoặc thể dịch) được sinh ra khi gây miễn dịch (ví dụ, khi được hợp nhất vào được phẩm của sáng chế, ví dụ, vacxin của sáng chế) của đối tượng (ví dụ, con người).

Do đó, polypeptit virus tối ưu hoá có thể tương ứng với trình tự gen virus “cha mẹ”; theo cách khác, polypeptit tối ưu hoá có thể không tương ứng với trình tự gen virus “cha mẹ” đặc hiệu nhưng có thể tương ứng với các trình tự tương tự từ các chủng khác nhau hoặc các loài hầu như virus. Các cải biến đối với trình tự gen virus mà có thể được bao gồm trong polypeptit virus tối ưu bao gồm việc bổ sung, thay thế và loại bớt axit amin. Theo một phương án của sáng chế, polypeptit tối ưu là protein vỏ ngoài khảm, như gp140 Env1 khảm (xem, ví dụ, công bố patent Mỹ số 2012/0076812), hoặc phiên bản tối ưu của nó, mà được thay đổi tiếp để bao gồm trình tự dẫn đầu/tín hiệu đối với sự biểu hiện protein tối đa, (các) đột biến vị trí tách, vị trí nhân tố Xa và/hoặc miền trimer hoá foldon (xem, ví dụ, SEQ ID NO: 2). Các phương pháp sinh ra polypeptit virus tối ưu được mô tả, ví dụ, trong ấn phẩm: Fisher et al. “Polyvalent vaccine for Optimal Coverage of Potential T-Cell Epitopes in Global HIV-1 Variants,” *Nat. Med.* 13(1):100-106 (2007) và công bố đơn quốc tế số WO 2007/024941. Khi trình tự polypeptit virus tối ưu được sinh ra, polypeptit tương ứng có thể được tạo ra hoặc được dùng bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn (ví dụ, các vật truyền virus tái tổ hợp, như vật truyền adenovirus được bộc lộ trong các công bố đơn quốc tế số WO 2006/040330 và WO 2007/104792) và tùy ý được lắp ráp kết hợp với một hoặc nhiều polypeptit virus khác của sáng chế để tạo thành trimer polypeptit ổn định.

Thuật ngữ “chất pha loãng, tá dược, chất mang, hoặc chất hỗ trợ được dụng” có nghĩa là chất pha loãng, tá dược, chất mang hoặc chất hỗ trợ mà chấp nhận được về mặt sinh lý đối với đối tượng trong khi duy trì được các đặc tính điều trị của dược phẩm mà nó được dùng. Một chất mang được dụng lấy làm ví dụ là nước muối sinh lý. Các chất pha loãng, tá dược, chất mang hoặc chất hỗ trợ chấp nhận được về mặt sinh lý và dược phẩm chứa chúng là đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, công bố patent Mỹ số 2012/0076812).

Thuật ngữ “tái tổ hợp”, đối với dược phẩm (ví dụ, vật truyền của sáng chế, như vật truyền adenovirus hoặc poxvirus) có nghĩa là dược phẩm mà đã được thao tác *in vitro* (ví dụ, sử dụng các kỹ thuật tạo dòng tiêu chuẩn) để đưa các thay đổi (ví dụ, các thay đổi đối với dược phẩm, ví dụ, hệ gen adenovirus hoặc poxvirus lần lượt của vật truyền adenovirus hoặc poxvirus) mà có khả năng gắn kết với hoặc kiểm soát chất điều trị và/hoặc mà thúc đẩy việc đưa chất điều trị vào trong đối tượng (ví dụ, con người)

hoặc tế bào chủ. Được phẩm tái tổ hợp của sáng chế do đó, có thể là vật truyền vận chuyển adenovirut hoặc poxvirut (ví dụ, vật truyền adenovirut hoặc poxviriut sao chép khiếm khuyết) để phân phối một hoặc nhiều trong số các trime polypeptit Env ổn định của sáng chế.

Thuật ngữ “sự giống nhau về trình tự” hoặc “sự tương tự về trình tự” có nghĩa rằng sự giống nhau hoặc sự tương tự giữa hai hoặc nhiều trình tự axit amin hoặc hai hoặc nhiều trình tự nucleotit, được biểu hiện xét đến sự giống nhau hoặc sự tương tự giữa các trình tự. Sự giống nhau về trình tự có thể được đo xét đến “tỷ lệ phần trăm (%) giống nhau,” trong đó tỷ lệ phần trăm cao hơn, sự giống nhau nhiều hơn được chia sẻ giữa các trình tự. Sự tương tự về trình tự có thể được đo xét đến tỷ lệ phần trăm tương tự (mà xét đến các thay thế axit amin bảo tồn); tỷ lệ phần trăm cao hơn, sự tương tự chung giữa các trình tự nhiều hơn. Chất đồng đẳng hoặc chất đồng đẳng khác loài thích hợp của axit nucleic hoặc trình tự axit amin có mức giống nhau/tương tự về trình tự tương đối cao khi được căn chỉnh hàng bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn. Sự giống nhau về trình tự có thể được đo bằng cách sử dụng phần mềm phân tích trình tự trên thiết lập mặc định (ví dụ, Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, WI 53705). Phần mềm này có thể khớp các trình tự tương tự bằng cách gán mức độ tương đồng với các thay thế khác nhau, loại bỏ hoặc các cải biến khác.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “trime polypeptit ổn định” dùng để chỉ, nhưng không chỉ giới hạn ở, oligome mà bao gồm trình tự protein và/hoặc polypeptit mà làm tăng độ ổn định (ví dụ, qua sự có mặt của một hoặc nhiều miền oligome hoá) của cấu trúc trime (ví dụ, làm giảm sự phân ly của các trime thành các đơn vị monome). Cụ thể là, trime polypeptit ổn định gồm có ba protein Env khảm (ví dụ, Env1, Env2, và/hoặc Env3), ba protein Env Env nhánh C hoặc tổ hợp của một hoặc nhiều protein Env khảm và một hoặc nhiều protein Env nhánh C, trong đó ít nhất một protein Env bao gồm miền oligome hoá. “Miền oligome hoá” dùng để chỉ, nhưng không chỉ giới hạn ở, trình tự polypeptit mà có thể được sử dụng để làm tăng độ ổn định của protein vỏ ngoài oligome như, ví dụ, để làm tăng độ ổn định của trime gp140 HIV. Các miền oligome hoá có thể được sử dụng để làm tăng độ ổn định của polypeptit oligome

trương đồng cũng như polypeptit oligome khác loại. Các miền oligome là đã được biết đến trong lĩnh vực này và bao gồm “các miền trime hoá.” Miền trime hoá dùng để chỉ miền oligome hoá mà làm ổn định polypeptit trime (ví dụ, trime gồm có một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 của sáng chế). Các ví dụ về các miền trime hoá bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, miền trime hoá T4-fibritin “foldon”; miền trime hoá cuộn xoắn thu được từ GCN4 (Yang et al. (2002) J. Virol. 76:4634); và dưới đơn vị xúc tác của *E. coli* aspartat transcarbamoylaza như trime tag (Chen et al. (2004) J. Virol. 78:4508).

Thuật ngữ “đối tượng” là động vật có xương sống, như động vật có vú (ví dụ, con người). Động vật có vú cũng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, động vật trang trại (như bò), động vật thể thao (ví dụ, ngựa), động vật nuôi kiểng (như mèo và chó), chuột cống và chuột nhắt. Đối tượng được điều trị theo các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, đối tượng có sự lây nhiễm HIV hoặc đối tượng có nguy cơ lây nhiễm HIV) có thể là đối tượng mà đã được chẩn đoán bởi bác sĩ y khoa do có tình trạng bệnh. Việc chẩn đoán có thể được thực hiện bằng các phương tiện thích hợp bất kỳ. Đối tượng là người có nguy cơ lây nhiễm HIV sẽ được làm giảm hoặc được ngăn ngừa có thể hoặc có thể không nhận được việc chẩn đoán này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng đối tượng sẽ được điều trị theo sáng chế có thể đã được cho vào các thử nghiệm tiêu chuẩn hoặc có thể đã được nhận dạng, mà không cần xét nghiệm, khi đối tượng ở nguy cơ cao do sự có mặt của một hoặc nhiều nhân tố nguy cơ (ví dụ, dính kim hoặc phơi nhiễm đã biết với HIV hoặc cá nhân bị lây nhiễm HIV).

Thuật ngữ “gần như là giống trình tự của” đối với các cấu trúc của sáng chế có nghĩa là có ít nhất 99% trình tự giống với trình tự tham chiếu được kể đến (ví dụ, có không nhiều hơn 7 gốc axit amin khác nhau, ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 gốc axit amin khác nhau (ví dụ, bổ sung, loại bớt hoặc thay thế axit amin bảo tồn), so với trình tự tham chiếu được kể đến).

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu về mặt điều trị” có nghĩa là lượng chất điều trị mà đơn lẻ hoặc cùng với một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung (tùy ý), tạo ra các kết quả có lợi hoặc mong muốn khi dùng cho động vật có vú. Lượng hữu hiệu về mặt điều trị phụ thuộc vào bối cảnh trong đó chất điều trị được áp dụng. Ví dụ, trong bối cảnh dùng

được phẩm vacxin bao gồm chất điều trị như trime gp140 ổn định của sáng chế, lượng hữu hiệu về mặt điều trị của được phẩm vacxin là lượng đủ để đạt được việc giảm lượng HIV (ví dụ, như được đo bằng sự ổn định hoá hoặc giảm độ chuẩn HIV so với đối chứng không được điều trị), và/hoặc gia tăng lượng làm trung hòa kháng huyết thanh kháng HIV (ví dụ, như được đo bằng việc gia tăng về huyết thanh làm trung hòa lượng kháng thể so với đối chứng không được điều trị trong thử nghiệm làm trung hòa virus dựa trên luciferaza) như được so với đáp ứng thu được mà không cần phải dùng được phẩm của sáng chế (ví dụ, được phẩm vacxin), và/hoặc để ngăn ngừa sự nhân giống của virus lây nhiễm (ví dụ, HIV) ở đối tượng (ví dụ, con người) có nguy cơ lây nhiễm virus gia tăng. Lý tưởng là, lượng hữu hiệu về mặt điều trị tạo ra tác dụng điều trị mà không hầu như gây ra tác dụng độc tế bào ở đối tượng. Nói chung, lượng hữu hiệu về mặt điều trị của được phẩm được dùng cho đối tượng (ví dụ, con người) sẽ thay đổi phụ thuộc vào nhiều nhân tố kết hợp với đối tượng, ví dụ sức khoẻ tổng thể của đối tượng, tình trạng bệnh được điều trị hoặc mức trầm trọng của tình trạng bệnh. Lượng hữu hiệu về mặt điều trị của được phẩm có thể được xác định bằng cách làm thay đổi liều của sản phẩm và đo đáp ứng điều trị thu được.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, và như được hiểu trong lĩnh vực này, “điều trị” là phương pháp thu được kết quả có lợi hoặc mong muốn, như các kết quả lâm sàng. Các kết quả có lợi hoặc mong muốn có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc làm nhẹ hoặc sự cải thiện của một hoặc nhiều triệu chứng hoặc tình trạng bệnh; thu hẹp phạm vi của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh; sự ổn định hoá (nghĩa là, không trở nên xấu hơn) của trạng thái bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh; ngăn ngừa sự lan toả của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh; trì hoãn hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh; sự cải thiện hoặc giảm nhẹ bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh; và thuyên giảm (nếu riêng phần hoặc tổng thể), nếu có thể phát hiện hoặc không thể phát hiện. “Giảm nhẹ” bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh có nghĩa rằng phạm vi và/hoặc thao tác lâm sàng không mong muốn của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh được giảm bớt và/hoặc khoảng thời gian tiến triển được làm chậm hoặc kéo dài, như được so với phạm vi hoặc khoảng thời gian với sự không có mặt của điều trị.

Thuật ngữ “vacxin,” như được sử dụng trong bản mô tả này, được xác định như vật liệu được sử dụng để gây ra đáp ứng miễn dịch (ví dụ, việc sản xuất làm trung hòa

kháng huyết thanh kháng HIV). Việc dùng vaccin cho đối tượng có thể tạo ra ít nhất sự miễn dịch riêng phần kháng lại sự lây nhiễm HIV.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “vật truyền” có nghĩa là bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, virus (ví dụ, adenovirus hoặc poxvirus), AND trần, oligonucleotit, cation lipid (ví dụ, liposom), cation polyme (ví dụ, polysom), virosom, hạt nano hoặc dendrimer. Thuật ngữ “vật truyền adenovirus” có nghĩa là được phẩm mà bao gồm một hoặc nhiều gen (không cấu trúc hoặc cấu trúc) hoặc các mảnh của nó, từ các loài adenovirus (ví dụ, kiểu huyết thanh adenovirus 11 (Ad11), kiểu huyết thanh adenovirus 15 (Ad15), kiểu huyết thanh adenovirus 24 (Ad24), kiểu huyết thanh adenovirus 26 (Ad26), kiểu huyết thanh adenovirus 34 (Ad34), kiểu huyết thanh adenovirus 35 (Ad35), kiểu huyết thanh adenovirus 48 (Ad48), kiểu huyết thanh adenovirus 49 (Ad49), kiểu huyết thanh adenovirus 50 (Ad50), Pan9 (AdC68), hoặc biến thể khảm của nó (ví dụ, kiểu huyết thanh adenovirus 5 HVR48 (Ad5HVR48))) mà có thể được sử dụng để truyền một hoặc nhiều gen khác loại (ví dụ, một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 tối ưu hoá của sáng chế) từ nguồn virus hoặc không virus cho đối tượng hoặc vật chủ. Vật liệu axit nucleic của vật truyền virus có thể được vỏ ngoài, ví dụ, trong màng lipid hoặc bằng protein cấu trúc (ví dụ, capsit protein), mà có thể bao gồm một hoặc nhiều polypeptit virus (ví dụ, glycoprotein vỏ ngoài). Vật truyền virus có thể được sử dụng để làm lây nhiễm tế bào của vật chủ, mà, lần lượt, thúc đẩy việc dịch mã của (các) gen khác loại của vật truyền virus thành sản phẩm protein (ví dụ, một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env được mô tả trong bản mô tả này, sao cho trimer ổn định của sáng chế được tạo thành).

Thuật ngữ “virus,” như được sử dụng trong bản mô tả này, được xác định như chất lây nhiễm mà không thể sinh trưởng hoặc tái tạo bên ngoài tế bào vật chủ và lây nhiễm động vật có vú (ví dụ, con người) hoặc chim.

Các dấu hiệu và thuận lợi khác của sáng chế sẽ rõ ràng hơn dựa vào phần mô tả chi tiết, hình vẽ và các điểm yêu cầu bảo hộ sau đây.

Hầu hết các kháng thể được cảm ứng bởi virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) (ví dụ, HIV typ 1 (HIV-1)) là không hữu hiệu khi ngăn ngừa sự khởi đầu hoặc lan truyền lây nhiễm, do chúng không làm trung hòa hoặc thể phân lập đặc hiệu bị hạn

chế. Một trong số các thử thách lớn nhất trong sự phát triển vacxin HIV là để thiết kế chất gây miễn dịch vỏ ngoài HIV mà có thể cảm ứng các kháng thể bảo vệ làm trung hòa hữu hiệu kháng lại các chủng HIV khác nhau mà làm đặc trưng đại dịch toàn cầu. Thực vật, việc sinh ra các kháng thể “làm trung hòa ở mức rộng rãi” mà nhận biết các vùng tương đối bảo tồn trên glycoprotein vỏ ngoài là hiếm thấy. Sáng chế một phần dựa trên việc khám phá ra protein vỏ ngoài (Env) HIV trime ổn định và các tổ hợp của chúng mà gây ra đáp ứng kháng thể làm trung hòa rộng đáng ngạc nhiên *in vivo*.

Trime gp140 Env ổn định của sáng chế

Sáng chế đề xuất trime polypeptit gp140 Env HIV mới ổn định. Trime ổn định của sáng chế đề cập đến polypeptit gp140 Env tối ưu. Các polypeptit này có thể có hoặc có thể được cải biến để bao gồm, một hoặc nhiều trong số các miền và/hoặc các đột biến sau đây. Các cấu tử polypeptit gp140 Env có thể bao gồm trình tự miền trime hoá T4-fibritin “foldon” để trợ giúp sự hình thành trime ổn định (xem, ví dụ, Fig.1A, Fig.1B, và Fig.1C, lần lượt mô tả các trình tự axit amin của mEnv (SEQ ID NO: 1), mEnv+ (SEQ ID NO: 2), và cEnv (SEQ ID NO: 3), mà mỗi trong số chúng bao gồm miền trime hoá đầu cuối C). polypeptit gp140 Env tối ưu hoá cũng có thể bao gồm các đột biến vị trí tách để làm tăng cường độ ổn định, ví dụ bằng cách loại trừ việc tách bằng peptidaza (xem, ví dụ, Fig.1B và Fig.1C, mà mô tả các gốc đột biến như các gốc vòng tròn lần lượt trong trình tự axit amin mEnv+ và cEnv, giữa các phần gp120 và gp41). polypeptit gp140 Env tối ưu còn có thể có trình tự tín hiệu/dẫn đầu để tối đa hoá sự biểu hiện protein (xem, ví dụ, trình tự tín hiệu/dẫn đầu của mEnv+ hoặc cEnv, lần lượt được phân biệt trên Fig.1B và Fig.1C). Hơn nữa, polypeptit gp140 Env tối ưu hoá có thể bao gồm vị trí tách nhân tố Xa (SRIEGR), mà có thể, ví dụ, được hợp nhất ngược dòng (đầu cuối N với) miền trime hoá (xem, ví dụ, Fig.1B và Fig.1C, mà mô tả sự định vị của vị trí tách nhân tố Xa trong trình tự axit amin lần lượt của mEnv+ và cEnv). Như được mô tả dưới đây trong bản mô tả này, trime ổn định của sáng chế tốt hơn là homotrime (ví dụ, trime gồm có ba polypeptit giống nhau). Heterotrime (ví dụ, trime gồm có ba polypeptit mà không phải tất cả giống nhau) của sáng chế cũng được hình dung.

Trime ổn định của sáng chế tốt hơn là các homotrime ổn định mà bao gồm, ví

dụ, ba polypeptit gp140, trong đó mỗi trong số các polypeptit gp140 bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90% giống nhau (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% giống nhau) với, hoặc trình tự của, SEQ ID NO: 2 (mEnv+). Sáng chế cũng đề cập đến các homotrime ổn định bao gồm ba polypeptit gp140, trong đó mỗi trong số các polypeptit gp140 bao gồm trình tự axit amin gần như là giống trình tự của (ví dụ, 99% giống nhau hoặc nhiều hơn), hoặc trình tự của, SEQ ID NO: 1 (mEnv) hoặc SEQ ID NO: 3 (cEnv) hoặc SEQ ID NO: 4 hoặc SEQ ID NO: 5. Các homotrime lấy làm ví dụ của sáng chế bao gồm các Trime 1, 2, và 3 trong bảng 1 dưới đây.

Theo cách khác, trime ổn định của sáng chế có thể là heterotrime ổn định. Ví dụ, trime ổn định có thể là heterotrime ổn định mà bao gồm tổ hợp của hai trình tự Env1 khác nhau (ví dụ, một mEnv và hai mEnv+; hai mEnv và một mEnv+; hoặc một mEnv, một mEnv+, và cEnv). Trong một số trường hợp, heterotrime ổn định bao gồm cEnv và hai polypeptit Env1 giống nhau (ví dụ, hai mEnv và một cEnv; hai mEnv+ và một cEnv). Trong các trường hợp khác, heterotrime ổn định bao gồm một cEnv và hai polypeptit Env1 khác nhau (ví dụ, một cEnv, một mEnv, và một mEnv+).

Theo cách khác, heterotrime ổn định có thể bao gồm một, hai hoặc ba cấu tử polypeptit Env bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 4 (gp140 Env2 khảm, “mEnv2”) hoặc SEQ ID NO: 5 (gp140 Env3 khảm, “mEnv3”). Tốt hơn là, mEnv2 hoặc mEnv3 được cải biến theo cách tương tự với cách của mEnv, mEnv+, hoặc cEnv, mà mỗi trong số chúng có miền trime hoá, như được mô tả trên đây và như được mô tả trên các hình vẽ từ Fig.1A đến Fig.1C. Do đó, các heterotrime ổn định khác nhau của sáng chế bao gồm các trime có cấu tử polypeptit sau đây: một mEnv và hai mEnv2; hai mEnv và một mEnv2; một mEnv+ và hai mEnv2; hai mEnv+ và một mEnv2; một cEnv và hai mEnv2; hai cEnv và một mEnv2; một mEnv, một mEnv+, và một mEnv2; một mEnv, một cEnv, và mEnv2; một mEnv+, một cEnv, và một mEnv2; một mEnv và hai mEnv3; hai mEnv và một mEnv3; một mEnv+ và hai mEnv3; hai mEnv+ và một mEnv3; một cEnv và hai mEnv3; hai cEnv và một mEnv3; một mEnv, một mEnv+, và một mEnv3; một mEnv, một cEnv, và mEnv3; một mEnv+, một cEnv, và một mEnv3; một mEnv, một mEnv2, và một mEnv3; một mEnv+, một mEnv2, và một mEnv3; hoặc một cEnv, một mEnv2, và một mEnv3. Các heterotrime lấy làm ví dụ của sáng chế bao

gồm các Trime từ 4 đến 31 trong bảng 1 dưới đây.

Bảng 1

Trime ví dụ	Polypeptit thành phần		
	Polypeptit 1	Polypeptit 2	Polypeptit 3
Trime 1	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 1
Trime 2	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 2
Trime 3	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 3
Trime 4	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 2
Trime 5	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2
Trime 6	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 3
Trime 7	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 3
Trime 8	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 3
Trime 9	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3
Trime 10	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3
Trime 11	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 4
Trime 12	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 4
Trime 13	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 4
Trime 14	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 4
Trime 15	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 4
Trime 16	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
Trime 17	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 4
Trime 18	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
Trime 19	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
Trime 20	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 5
Trime 21	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 5
Trime 22	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 5
Trime 23	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 5
Trime 24	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 5
Trime 25	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 5

Trime 26	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 5
Trime 27	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 5
Trime 28	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 5
Trime 29	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5
Trime 30	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5
Trime 31	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5

Dược phẩm trime gp140 Env ổn định của sáng chế

Bất kỳ trime nào trong số các trime gp140 Env ổn định của sáng chế, như các trime được mô tả trên đây, có thể được bao gồm trong chế phẩm (ví dụ, dược phẩm). Do đó, sáng chế đề xuất dược phẩm bao gồm ít nhất một trong số các trime gp140 Env ổn định được mô tả trên đây (ví dụ, ít nhất 2, 3, 4, 5, hoặc nhiều loại trime gp140 Env ổn định khác nhau có thể được bao gồm trong dược phẩm hoặc vaccin đơn lẻ). Ví dụ, dược phẩm bao gồm homotrime của mEnv hoặc mEnv+ còn có thể bao gồm dạng trime ổn định bổ sung, ví dụ, dạng trime ổn định bổ sung mà bao gồm ba polypeptit gp140, trong đó mỗi trong số các polypeptit gp140 bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90% (ví dụ, ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) giống với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 3 (cEnv).

Dược phẩm có thể bao gồm homotrime ổn định bao gồm ba polypeptit Env1 khảm, ví dụ, ba polypeptit của mEnv hoặc ba polypeptit của mEnv+ hoặc ba polypeptit Env nhánh C tối ưu, như polypeptit cEnv của SEQ ID NO: 3.

Theo cách khác, các dược phẩm cũng có thể bao gồm heterotrime ổn định. Ví dụ, dược phẩm (ví dụ, vaccin) có thể bao gồm ít nhất một heterotrime ổn định mà bao gồm tổ hợp của hai trình tự Env1 khảm khác nhau (ví dụ, một mEnv và hai mEnv+; và hai mEnv và một mEnv+). Theo một số phương án, dược phẩm (ví dụ, vaccin) bao gồm ít nhất một heterotrime ổn định mà bao gồm cEnv và polypeptit Env1 (ví dụ, hai mEnv và một cEnv; hai mEnv+ và một cEnv; hai cEnv và một mEnv; và hai cEnv và một mEnv+). Theo các phương án khác, dược phẩm bao gồm ít nhất một heterotrime ổn định mà bao gồm một cEnv và hai polypeptit Env1 khảm khác nhau (ví dụ, một cEnv, một mEnv, và một mEnv+).

Tuỳ ý là, dược phẩm có thể bao gồm ít nhất một heterotrime ổn định có một, hai hoặc ba cấu tử polypeptit Env bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO:4 (gp140 Env2 khảm, “mEnv2”) hoặc SEQ ID NO: 5 (gp140 Env3 khảm, “mEnv3”). Như được kể đến trên đây, tốt hơn là, mEnv2 hoặc mEnv3 có thể là và tốt hơn là, được cải biến theo cách tương tự với cách của mEnv, mEnv+, hoặc cEnv, mà mỗi trong số chúng có miền trime hoá, như được mô tả trên đây và được mô tả trên các hình vẽ từ Fig.1A đến Fig.1C. Do đó, các vacxin khác của sáng chế có thể bao gồm các heterotrime ổn định có cấu tử polypeptit sau đây: một mEnv và hai mEnv2; hai mEnv và một mEnv2; một mEnv+ và hai mEnv2; hai mEnv+ và một mEnv2; một cEnv và hai mEnv2; hai cEnv và một mEnv2; một mEnv, một mEnv+, và một mEnv2; một mEnv, một cEnv, và mEnv2; một mEnv+, một cEnv, và một mEnv2; một mEnv và hai mEnv3; hai mEnv và một mEnv3; một mEnv+ và hai mEnv3; hai mEnv+ và một mEnv3; một cEnv và hai mEnv3; hai cEnv và một mEnv3; một mEnv, một mEnv+, và một mEnv3; một mEnv, một cEnv, và mEnv3; một mEnv+, một cEnv, và một mEnv3; một mEnv, một mEnv2, và một mEnv3; một mEnv+, một mEnv2, và một mEnv3; hoặc một cEnv, một mEnv2, và một mEnv3.

Bất kỳ một trong số các dược phẩm của sáng chế còn có thể bao gồm chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng dược dụng, và/hoặc chất bổ trợ.

Vacxin trime gp140 Env ổn định của sáng chế

Sáng chế đề xuất vacxin bao gồm ít nhất một trong số các dược phẩm của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này và trên đây. Vacxin có thể được sử dụng để điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này. Ví dụ, vacxin có thể gây ra việc sản xuất làm trung hòa kháng huyết thanh kháng HIV (ví dụ, làm trung hòa kháng huyết thanh kháng HIV-1) sau khi dùng cho đối tượng. Kháng huyết thanh kháng HIV cũng có thể có khả năng làm trung hòa HIV (ví dụ, HIV-1), ví dụ, được chọn từ bất kỳ một hoặc nhiều trong số nhánh A, nhánh B và nhánh C.

Phân tử axit nucleic của sáng chế

Theo một số phương án, vacxin của sáng chế bao gồm một hoặc nhiều phân tử axit nucleic của sáng chế, như phân tử axit nucleic có trình tự nucleotit mà mã hoá

polypeptit gp140, trong đó polypeptit gp140 bao gồm (a) trình tự axit amin có ít nhất 95% (ví dụ, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100%) giống với SEQ ID NO: 1, (b) trình tự axit amin có ít nhất 95% (ví dụ, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100%) giống với SEQ ID NO: 2, và/hoặc (c) trình tự axit amin có trình tự SEQ ID NO: 3, (d) trình tự axit amin có trình tự SEQ ID NO: 4, (e) trình tự axit amin có trình tự SEQ ID NO: 5 và/hoặc các tổ hợp của chúng. Như được mô tả dưới đây, vật truyền (ví dụ, vật truyền virus, như vật truyền adenovirus hoặc poxvirus) của sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều trong số các phân tử axit nucleic. Do đó, vaccine của sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều trong số các vật truyền này. Trime gp140 Env polypeptit ổn định của sáng chế, cũng như vaccine, axit nucleic và vật truyền mà hợp nhất một hoặc nhiều polypeptit gp140 Env ổn định, có thể được biểu hiện về mặt tái tổ hợp trong tế bào hoặc cơ quan hoặc có thể được dùng một cách trực tiếp cho đối tượng (ví dụ, con người) bị lây nhiễm với hoặc có nguy cơ lây nhiễm với HIV (ví dụ, HIV-1).

Vật truyền của sáng chế

Như được mô tả trên đây, sáng chế đề xuất vật truyền bao gồm một hoặc nhiều trong số các phân tử axit nucleic của sáng chế. Vật truyền có thể là, ví dụ, chất mang (ví dụ, liposom), plasmit, cosmit, nhiễm sắc thể nhân tạo nấm men hoặc virus (ví dụ, vật truyền adenovirus hoặc vật truyền poxvirus) mà bao gồm một hoặc nhiều trong số các phân tử axit nucleic của sáng chế.

Vật truyền adenovirus của sáng chế có thể thu được từ kiểu huyết thanh adenovirus tái tổ hợp 11 (Ad11), kiểu huyết thanh adenovirus 15 (Ad15), kiểu huyết thanh adenovirus 24 (Ad24), kiểu huyết thanh adenovirus 26 (Ad26), kiểu huyết thanh adenovirus 34 (Ad34), kiểu huyết thanh adenovirus 35 (Ad35), kiểu huyết thanh adenovirus 48 (Ad48), kiểu huyết thanh adenovirus 49 (Ad49), kiểu huyết thanh adenovirus 50 (Ad50), Pan9 (AdC68), hoặc biến thể khảm của nó (ví dụ, kiểu huyết thanh adenovirus 5 HVR48 (Ad5HVR48)). Vật truyền poxvirus của sáng chế có thể thu được ví dụ, từ virus gây bệnh đậu mùa Ankara được cải biến (MVA). Các vật truyền này có thể bao gồm các trình tự axit nucleic bổ sung từ vài nguồn.

Vật truyền của sáng chế có thể được tạo cấu trúc bằng cách sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử tái tổ hợp bất kỳ đã được biết đến trong lĩnh vực này. Vật truyền, khi

chuyển nhiễm hoặc truyền tế bào đích hoặc cơ quan, có thể là nhiễm sắc thể ngoại bào hoặc được hợp nhất vào trong nhiễm sắc thể tế bào chủ. Thành phần axit nucleic của vật truyền có thể trong một hoặc nhiều bản sao/tế bào đích và có thể là mạch thẳng, mạch vòng hoặc dạng móc nối. Vật truyền cũng có thể bao gồm các trình tự vị trí đi vào ribosom bên trong (IRES) để cho phép sự biểu hiện của nhiều chuỗi peptit hoặc polypeptit từ bản sao axit nucleic đơn lẻ (ví dụ, vật truyền đa cistron, ví dụ, vật truyền bi- hoặc tri-cistron).

Vật truyền của sáng chế cũng có thể bao gồm yếu tố biểu hiện gen mà tạo thuận lợi cho việc biểu hiện của (các) polypeptit được mã hoá của sáng chế (ví dụ, SEQ ID NOs: 1 (mEnv), 2 (mEnv+), 3 (cEnv), 4 và/hoặc 5 hoặc polypeptit có trình tự axit amin với ít nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% trình tự giống với SEQ ID NO: 1 hoặc 2). Các yếu tố biểu hiện gen bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, (a) trình tự điều hoà, như các đoạn khởi đầu phiên mã virus và các yếu tố tăng cường của chúng, như đoạn khởi đầu sớm SV40, virus gây bệnh xacôm Rous LTR, và virus gây bệnh bạch cầu ở chuột Moloney LTR; (b) các vùng ghép và vị trí polyadenyl hoá như các vị trí thu được từ vùng trễ SV40; và (c) vị trí polyadenyl hoá như trong SV40. Cũng được bao gồm là các nguồn gốc plasmit của các gen sao chép, kháng kháng sinh hoặc lựa chọn, nhiều vị trí tạo dòng (ví dụ, vị trí tách enzym giới hạn), và các trình tự gen virus khác (ví dụ, các trình tự mã hoá các nhân tố cấu trúc, chức năng hoặc điều hoà virus, như đoạn lặp đầu cuối dài HIV (LTR)).

Các vật truyền lấy làm ví dụ như được mô tả dưới đây.

Vật truyền adenovirus

Adenovirus tái tổ hợp tạo ra vài thuận lợi đáng kể để sử dụng làm vật truyền cho sự biểu hiện của, ví dụ, một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế. Virus có thể được tạo ra với độ chuẩn cao, có thể lây nhiễm tế bào không sao chép và có thể tạo ra việc truyền hữu hiệu ở mức cao của tế bào đích *ex vivo* sau khi tiếp xúc với quần thể tế bào đích. Hơn nữa, adenovirus không hợp nhất ADN của chúng vào trong hệ gen vật chủ. Do đó, việc sử dụng chúng làm vật truyền biểu hiện có nguy cơ giảm cảm ứng các rối loạn tăng sinh tự phát. Trong các mô hình động vật, vật truyền adenovirus thường đã được tìm thấy qua trung gian sự biểu hiện ở mức cao trong

khoảng một tuần. Khoảng thời gian biểu hiện gen chuyển (sự biểu hiện của phân tử axit nucleic của sáng chế) có thể được kéo dài bằng cách sử dụng các đoạn khởi đầu đặc hiệu tế bào hoặc mô. Các cải thiện khác trong việc thiết kế phân tử của vật truyền adenovirut đã tạo ra sự biểu hiện gen chuyển duy trì nhiều hơn và ít viêm hơn. Điều này cũng được gọi là vật truyền “thế hệ thứ hai” neo các đột biến đặc hiệu trong các gen adenovirut sớm bổ sung và vật truyền “nhu nhược” trong đó hầu như tất cả các gen virut được phát hiện bằng cách sử dụng chiến lược Cre-Lox (Engelhardt et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:6196 (1994) và Kochanek et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:5731 (1996)).

Kiểu huyết thanh hiếm và vật truyền adenovirut khác mô được bộc lộ trong các công bố đơn quốc tế số WO 2006/040330 và WO 2007/104792, là hữu ích một cách đặc biệt làm vật truyền của sáng chế. Ví dụ, kiểu huyết thanh adenovirut tái tổ hợp 11 (Ad11), kiểu huyết thanh adenovirut 15 (Ad15), kiểu huyết thanh adenovirut 24 (Ad24), kiểu huyết thanh adenovirut 26 (Ad26), kiểu huyết thanh adenovirut 34 (Ad34), kiểu huyết thanh adenovirut 35 (Ad35), kiểu huyết thanh adenovirut 48 (Ad48), kiểu huyết thanh adenovirut 49 (Ad49), kiểu huyết thanh adenovirut 50 (Ad50), Pan9 (AdC68), hoặc biến thể khảm của nó (ví dụ, kiểu huyết thanh adenovirut 5 HVR48 (Ad5HVR48) có thể mã hoá và/hoặc phân phối một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế để tạo thuận lợi cho sự hình thành và thể hiện sự hình thành trime gp140 Env. Theo một số phương án, một hoặc nhiều vật truyền adenovirut tái tổ hợp có thể được dùng cho đối tượng để biểu hiện polypeptit gp140 Env đối với sự hình thành trime ổn định của sáng chế.

Vật truyền virut kết hợp adeno (AAV)

Virut kết hợp adeno (AAV), thu được từ các parvovirut không phải mầm bệnh, cũng có thể được sử dụng để tạo thuận lợi cho việc phân phối và/hoặc biểu hiện của một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế như các vật truyền gây ra hầu hết đáp ứng miễn dịch tế bào không kháng vật truyền và tạo ra sự biểu hiện gen chuyển kéo dài hàng tháng trong hầu hết các hệ thử nghiệm.

Trime ổn định của sáng chế có thể được tạo ra khi sự biểu hiện của polypeptit gp140 Env được mô tả trong bản mô tả này bằng cách sử dụng vật truyền AAV.

Vật truyền retrovirut

Retrovirut là hữu ích cho sự biểu hiện của polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế. Khác với adenovirut, hệ gen retrovirut chủ yếu là ARN. Khi retrovirut lây nhiễm tế bào, nó sẽ đưa ARN của nó cùng với vài enzym vào trong tế bào. Các phân tử ARN virut từ retrovirut sẽ tạo ra bản sao ADN sợi kép, được gọi là provirut, qua các quy trình được gọi là sự phiên mã ngược. Sau khi vận chuyển vào trong nhân tế bào, ADN provirut được hợp nhất vào trong nhiễm sắc thể tế bào chủ, làm thay đổi theo cách thường xuyên hệ gen của tế bào được truyền và tế bào con cháu bất kỳ mà có thể thu được từ tế bào này. Khả năng đưa theo cách thường xuyên gen vào trong tế bào hoặc sinh vật là đặc điểm xác định retrovirut được sử dụng cho liệu pháp điều trị gen. Retrovirut bao gồm lentivirut, họ virut bao gồm virut gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) mà bao gồm vài protein thêm vào để tạo thuận lợi cho sự lây nhiễm virut và sự hợp nhất provirut. Hiện nay, vật truyền lentivirut “thể hệ thứ ba” đề cập đến tổng sự thiếu khả năng sao chép, tropism rộng và khả năng truyền gen gia tăng đối với tế bào động vật có vú (xem, ví dụ, Mangeat và Trono, *Human Gene Therapy* 16(8):913 (2005) và Wiznerowicz và Trono, *Trends Biotechnol.* 23(1):42 (2005)).

Trime ổn định của sáng chế có thể được tạo ra phụ thuộc vào sự biểu hiện của polypeptit gp140 Env được mô tả trong bản mô tả này bằng cách sử dụng vật truyền retrovirut.

Các vật truyền virut khác

Bên cạnh các vật truyền adenovirut và retrovirut, các vật truyền virut khác và các kỹ thuật khác là đã được biết đến trong lĩnh vực này mà có thể được sử dụng để tạo thuận lợi cho việc phân phối và/hoặc sự biểu hiện của một hoặc nhiều polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế trong tế bào (ví dụ, tế bào máu, như tế bào bạch huyết) hoặc đối tượng (ví dụ, con người) để thúc đẩy sự hình thành của các trime của sáng chế. Các virut này bao gồm các poxvirut (ví dụ, virut gây bệnh đậu mùa và virut gây bệnh đậu mùa Ankara được cải biến (MVA); xem, ví dụ, patent Mỹ số 4,603,112 và 5,762,938), herpesvirut, togavirut (ví dụ, Venezuelan Equine Encephalitis virus; xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,643,576), picornavirut (ví dụ, poliovirut; xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,639,649),

baculovirut và các virut khác được mô tả bởi Wattanapitayakul và Bauer (*Biomed. Pharmacother.* 54:487 (2000)).

ADN trần và oligonucleotit

ADN trần hoặc oligonucleotit mã hoá một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế cũng có thể được sử dụng để biểu hiện các polypeptit này trong tế bào hoặc đối tượng (ví dụ, con người) để thúc đẩy sự hình thành của trime của sáng chế. Xem, ví dụ, Cohen, *Science* 259:1691-1692 (1993); Fynan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:11478 (1993); và Wolff et al., *BioTechniques* 11:474-485 (1991). Đây là phương pháp đơn giản nhất về sự lây nhiễm không virut. Các phương pháp hữu hiệu để phân phối ADN trần tồn tại, như tia điện và sử dụng “súng gen” mà bắn hạt vàng phủ ADN vào trong tế bào bằng cách sử dụng khí áp lực cao và hạt mang (ví dụ, vàng).

Lipoplex và polyplex

Để cải thiện sự phân phối của axit nucleic mã hoá một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế vào trong tế bào hoặc đối tượng để thúc đẩy sự hình thành của các trime của sáng chế, lipoplex (ví dụ, liposom) và polyplex có thể được sử dụng để bảo vệ axit nucleic không bị thoái hoá không mong muốn trong quy trình chuyển nhiễm. Phân tử axit nucleic có thể được phủ bằng lipid trong cấu trúc tổ chức tương tự mixen hoặc liposom. Khi cấu trúc tổ chức được tạo phức hệ với phân tử axit nucleic thì nó được gọi là lipoplex. Có ba kiểu lipid: anion (mang điện tích âm), trung tính hoặc cation (mang điện tích dương). Lipoplex mà dùng lipid cation có tính hữu ích được chứng minh để truyền gen. Lipid cation, do điện tích dương của chúng, tạo phức hệ tự nhiên với axit nucleic mang điện tích âm. Ngoài ra, như kết quả của điện tích của chúng, chúng tương tác với màng tế bào, sự nội nhập bào của lipoplex xảy ra và axit nucleic được giải phóng vào trong tế bào chất. Lipid cation cũng bảo vệ kháng lại sự thoái hoá của axit nucleic bởi tế bào.

Phức hệ của polyme với axit nucleic được gọi là polyplex. Hầu hết polyplex gồm có các polyme cation và việc sản xuất chúng được điều hoà bằng các tương tác ion. Một sự khác nhau lớn giữa các phương pháp tác động của polyplex và lipoplex là ở chỗ polyplex có thể không giải phóng lượng axit nucleic của chúng vào trong tế bào

chất, do đó, để kết thúc, việc đồng chuyển nhiễm với các chất làm tan hạt cơ quan nội bào (để làm tan hạt cơ quan nội bào mà được tạo ra trong quá trình nội nhập bào) như adenovirut bất hoạt phải xuất hiện. Tuy nhiên, điều này là không thường xuyên; polyme như polyetylenimin có phương pháp sở hữu của chúng về việc phá vỡ hạt cơ quan nội bào như tạo ra chitosan và trimetylchitosan.

Lipit và polyme cation lấy làm ví dụ mà có thể được sử dụng trong tổ hợp với một hoặc nhiều trong số các phân tử axit nucleic mã hoá một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế để tạo thành lipoplex hoặc polyplex bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyetylenimin, lipofectin, lipofectamin, polylysin, chitosan, trimetylchitosan, và alginat.

Phương pháp lai

Vài phương pháp lai của việc truyền gen tổ hợp hai hoặc nhiều kỹ thuật. Các virosom, ví dụ, tổ hợp lipoplex (ví dụ, liposom) với virut bất hoạt. Phương pháp này đã được thể hiện dẫn đến việc truyền gen hữu hiệu hơn trong tế bào biểu mô đường hô hấp so với phương pháp virut hoặc liposom đơn lẻ. Các phương pháp khác bao gồm việc trộn các vật truyền viru khác với các lipit cation hoặc lai virut. Mỗi trong số các phương pháp này có thể được sử dụng để tạo thuận lợi cho việc truyền một hoặc nhiều trong số các phân tử axit nucleic của sáng chế mã hoá một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế vào trong tế bào hoặc đối tượng để thúc đẩy sự hình thành trime của sáng chế.

Dendrime

Dendrime cũng có thể được sử dụng để truyền một hoặc nhiều trong số các phân tử axit nucleic của sáng chế mã hoá một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế vào trong tế bào hoặc đối tượng để thúc đẩy sự hình thành trime của sáng chế. Dendrime là phân tử lớn mạch nhánh ở mức cao với hình cầu. Bề mặt của hạt có thể được tạo chức năng theo nhiều cách và nhiều đặc tính của cấu trúc thu được được xác định theo bề mặt của nó. Cụ thể là, có thể tạo cấu trúc dendrime cation (nghĩa là, dendrime có điện tích bề mặt dương tính). Khi với sự có mặt của vật liệu di truyền (ví dụ, phân tử axit nucleic), điện tích theo cách trao tặng dẫn đến sự kết hợp

tạm thời của axit nucleic với dendrime cation. Khi đạt đến nơi đích của nó, phức hệ dendrime-axit nucleic sau đó được đưa vào trong tế bào qua quá trình nội nhập bào.

Phương pháp điều trị bằng cách sử dụng chế phẩm của sáng chế

Dùng *in vivo*

Sáng chế đề xuất phương pháp để dùng *in vivo* lượng hữu hiệu điều trị của một hoặc nhiều chế phẩm (nghĩa là, vacxin, vật truyền, (các) trime ổn định, axit nucleic, polypeptit, trime ổn định, hoặc chế phẩm khác chứa chúng được mô tả trong bản mô tả này) của sáng chế cho đối tượng (ví dụ, con người, ví dụ, người nhiễm HIV hoặc con người có nguy cơ nhiễm HIV) cần điều trị này. Khi dùng một hoặc nhiều dược phẩm của sáng chế cho đối tượng, trime ổn định của sáng chế có thể gây ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ hoặc điều trị (ví dụ, đáp ứng miễn dịch tế bào hoặc thể dịch, ví dụ, làm trung hòa việc sản xuất kháng huyết thanh kháng HIV, ví dụ, kháng huyết thanh kháng HIV mà làm trung hòa HIV được chọn từ HIV nhánh A, nhánh B, và/hoặc nhánh C) được chỉ dẫn kháng chất gây miễn dịch virut.

Phương pháp có thể được sử dụng để điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm HIV ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này. Đối tượng có thể bị nhiễm HIV hoặc có thể có nguy cơ phơi nhiễm HIV. Dược phẩm của sáng chế có thể được dùng cho đối tượng bị nhiễm HIV để điều trị AIDS. Các ví dụ về các triệu chứng bệnh do sự lây nhiễm virut gây ra, như AIDS, mà có thể được điều trị bằng cách sử dụng dược phẩm của sáng chế bao gồm, ví dụ, sốt, đau nhức cơ, ho, hắt hơi, chảy nước mũi, đau họng, đau đầu, ớn lạnh, tiêu chảy, nôn, chứng phát ban, yếu đuối, hoa mắt, chảy máu dưới da, trong các cơ quan bên trong hoặc từ các lỗ cơ thể như miệng, mắt hoặc tai, choáng, giảm chức năng của hệ thần kinh, mê sảng, co giật, suy thận, thay đổi tính cách, đau cứng cổ, mất nước, co giật, hôn mê, liệt các chi, nhầm lẫn, đau lưng, mất cảm giác, suy giảm chức năng bàng quang và ruột, và buồn ngủ mà có thể tiến triển thành hôn mê hoặc bị chết. Các triệu chứng này và sự dung giải của chúng trong quá trình điều trị, có thể được đo bởi, ví dụ, bác sĩ trong quá trình khám sức khỏe hoặc bằng các thử nghiệm khác và các phương pháp đã được biết đến trong lĩnh vực này.

Trong trường hợp mà đối tượng bị nhiễm HIV, phương pháp có thể được sử dụng để làm giảm hoạt tính qua trung gian HIV (ví dụ, sự lây nhiễm sự dung hợp (ví

dụ, sự đi vào của tế bào đích và/hoặc sự hình thành hợp bào), sự lan truyền virus, v.v) và/hoặc làm giảm độ chuẩn HIV ở đối tượng. Hoạt tính qua trung gian HIV và/hoặc độ chuẩn HIV có thể được giảm, ví dụ, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9% hoặc nhiều hơn so với việc giảm của đối tượng đối chứng (ví dụ, đối tượng không được điều trị hoặc đối tượng được điều trị bằng giả dược).

Một hoặc nhiều chế phẩm của sáng chế cũng có thể được dùng ở dạng vaccin để điều trị dự phòng cho đối tượng (ví dụ, con người) có nguy cơ lây nhiễm HIV.

Chế phẩm được dùng trong các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này có thể được bào chế, ví dụ để dùng trong cơ, trong tĩnh mạch, trong da, dưới da, trong động mạch, trong màng bụng, trong thương tổn, trong sọ, trong khớp, trong tuyến tiền liệt, trong màng phổi, trong khí quản, trong mũi, trong thủy tinh thể, trong âm đạo, trong trực tràng, cục bộ, trong khối u, qua màng bụng, dưới da, dưới màng kết, trong túi, màng nhầy, trong màng ngoài tim, trong rốn, trong nhãn cầu, qua đường miệng, cục bộ, khu trú, bằng việc xông, bằng việc tiêm, bằng việc truyền, bằng việc truyền liên tục, bằng việc truyền khu trú tẩm tế bào đích một cách trực tiếp, bằng ống thông, bằng việc rửa, bằng ống thông vào dạ dày, trong dạng phẩm dạng kem hoặc dạng lỏng.

Phương pháp dùng được ưu tiên có thể thay đổi phụ thuộc vào các nhân tố khác nhau (ví dụ, các thành phần của chế phẩm được dùng và mức trầm trọng của tình trạng bệnh được điều trị). Các dạng bào chế thích hợp để dùng qua đường miệng hoặc đường mũi có thể gồm có các dung dịch dạng lỏng, như lượng hữu hiệu của chế phẩm được hòa tan trong chất pha loãng (ví dụ, nước, nước muối hoặc PEG-400), viên nang, túi, viên nén hoặc gel, mỗi trong số chúng chứa lượng định trước của dược phẩm vật truyền nhiều mô Ad5 của sáng chế. Dược phẩm cũng có thể là dược phẩm sol khí để xông, ví dụ, vào đường phế quản. Dược phẩm sol khí có thể được trộn với chất đẩy tăng áp được dùng (ví dụ, diclodi-flometan, propan hoặc nito). Cụ thể là, việc dùng bằng việc xông có thể được hoàn thành bằng cách sử dụng, ví dụ, sol khí chứa sorbitan trioleat hoặc

axit oleic, ví dụ, cùng với tricloflometan, dicloflometan, diclotetrafloetan, hoặc khí đẩy tương thích về mặt sinh học khác bất kỳ.

Tính gây miễn dịch của dược phẩm của sáng chế có thể được cải thiện một cách đáng kể nếu nó được dùng đồng thời với chất kích thích miễn dịch hoặc chất bổ trợ. Các chất bổ trợ thích hợp đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này bao gồm, ví dụ, nhôm phosphat, nhôm hydroxit, QS21, Quil A (và các dẫn xuất và các thành phần của nó), canxi phosphat, canxi hydroxit, kẽm hydroxit, chất tương tự glycolipit, octodexyl este của axit amin, muramyl dipeptit, polyphosphazen, lipoprotein, chất nền ISCOM, DC-Chol, DDA, xytokin, Adju-Phos, chất nền M, CpG/Emulsigen, và các chất bổ trợ khác và các dẫn xuất của chúng.

Dược phẩm theo sáng chế được mô tả trong bản mô tả này có thể được bào chế để giải phóng dược phẩm ngay sau khi dùng (ví dụ, phân phối đích) hoặc tại khoảng thời gian định trước bất kỳ sau khi dùng bằng cách sử dụng dược phẩm giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài. Việc dùng dược phẩm trong dược phẩm giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài là hữu ích khi dược phẩm, riêng hoặc trong tổ hợp, có (i) chỉ số điều trị hẹp (ví dụ, sự khác nhau giữa nồng độ huyết tương dẫn đến các tác dụng phụ có hại hoặc các phản ứng độc và nồng độ huyết tương dẫn đến tác dụng điều trị là nhỏ; thông thường, chỉ số điều trị, TI, được xác định là tỷ lệ của liều gây chết (LD_{50}) với liều hữu hiệu trung tuyến (ED_{50})); (ii) cửa sổ hấp thụ hẹp tại vị trí giải phóng (ví dụ, đường dạ dày-ruột); hoặc (iii) chu kỳ nửa phân rã sinh học ngắn, sao cho tần số dùng liều trong ngày được đòi hỏi đến duy trì mức điều trị.

Nhiều chiến lược có thể được theo đuổi để thu được việc giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài trong đó tốc độ giải phóng có tác dụng nhiều hơn tốc độ chuyển hoá của dược phẩm. Ví dụ, việc giải phóng có kiểm soát có thể thu được bằng việc lựa chọn các tham số và thành phần dược phẩm thích hợp, bao gồm ví dụ, dược phẩm và lớp bao ngoài giải phóng có kiểm soát thích hợp. Các dược phẩm thích hợp là đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các ví dụ bao gồm viên nén một hoặc nhiều đơn vị hoặc dược phẩm dạng viên nang, dung dịch dầu, huyền phù, nhũ tương, vi nang, vi cầu, hạt nano, miếng đắp và liposom.

Dược phẩm của sáng chế có thể được dùng để tạo ra việc phòng bệnh trước lây nhiễm hoặc sau đó đối tượng được chẩn đoán mắc sự lây nhiễm HIV hoặc bệnh với nguyên nhân có thể tạo dấu vết với sự lây nhiễm HIV (ví dụ, AIDS). Dược phẩm có thể được dùng, ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, hoặc 60 phút, 2, 4, 6, 10, 15, hoặc 24 giờ, 2, 3, 5, hoặc 7 ngày, 2, 4, 6 hoặc 8 tuần hoặc thậm chí 3, 4, hoặc 6 tháng trước lây nhiễm hoặc trước chẩn đoán hoặc có thể được dùng cho đối tượng từ 15 đến 30 phút hoặc 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 20, 24, 48, hoặc 72 giờ, 2, 3, 5, hoặc 7 ngày, 2, 4, 6 hoặc 8 tuần, 3, 4, 6, hoặc 9 tháng, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, hoặc 20 năm hoặc lâu hơn sau chẩn đoán hoặc sau lây nhiễm HIV. Đối tượng có thể được dùng liều đơn của (các) dược phẩm (hoặc, ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 liều hoặc nhiều hơn) hoặc đối tượng có thể được dùng ít nhất một liều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 liều hoặc nhiều hơn) hàng ngày, hàng tuần, hàng tháng hoặc hàng năm. Khoảng thời gian dùng có thể được xác định (ví dụ, từ 1 đến 4 tuần, từ 1 đến 12 tháng, từ 1 đến 20 năm) hoặc có thể trong cuộc đời của đối tượng. (Các) dược phẩm cũng có thể được dùng cho đối tượng như dược phẩm cơ bản hoặc liều cao hoặc trong chế độ cơ bản-liều cao. Theo phương án được ưu tiên, dược phẩm (ví dụ, vacxin) của sáng chế được dùng như liều cao sau khi dùng dược phẩm bổ sung (ví dụ, vacxin) như cơ bản, khi cơ bản bao gồm ít nhất vật truyền thứ nhất bao gồm phân tử axit nucleic thứ nhất mà mã hoá polypeptit có ít nhất 85% trình tự axit amin giống nhau (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% giống nhau) với, hoặc trình tự của, SEQ ID NO: 6, và tùy ý vật truyền thứ hai bao gồm phân tử axit nucleic thứ hai mà mã hoá polypeptit có ít nhất 85% giống nhau (ví dụ, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% giống nhau) với, hoặc trình tự của, SEQ ID NO: 7. Liều cao trong chế độ này bao gồm một hoặc nhiều trong số (các) dược phẩm của sáng chế (ví dụ, bất kỳ một trong số các trime ổn định, dược phẩm, vacxin, phân tử axit nucleic và/hoặc vật truyền của sáng chế). Vẫn theo phương án khác, cơ bản bao gồm ít nhất vật truyền thứ nhất bao gồm phân tử axit nucleic mà mã hoá polypeptit có trình tự của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: từ 8 đến 32. Theo cách khác, dược phẩm (ví dụ, vacxin) của sáng chế được dùng như cơ bản. Theo một số phương án trong đó dược phẩm của sáng chế được dùng như cơ bản, các vacxin khác nhau (ví dụ, vacxin bao gồm ít nhất vật truyền thứ nhất

bao gồm phân tử axit nucleic thứ nhất mà mã hoá polypeptit có ít nhất 85% trình tự axit amin (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) giống với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 6, và tùy ý vật truyền thứ hai bao gồm phân tử axit nucleic thứ hai mà mã hoá polypeptit có ít nhất 85% (ví dụ, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) giống với, hoặc có trình tự của, SEQ ID NO: 7; hoặc vacxin bao gồm ít nhất vật truyền thứ nhất bao gồm phân tử axit nucleic mà mã hoá polypeptit có trình tự của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: từ 8 đến 32) được dùng như liều cao.

Khi điều trị bệnh (ví dụ, AIDS), dược phẩm của sáng chế có thể được dùng cho đối tượng trước khi xuất hiện triệu chứng hoặc chẩn đoán tin cậy hoặc sau khi chẩn đoán hoặc triệu chứng trở nên rõ ràng. Ví dụ, dược phẩm có thể được dùng, ví dụ, ngay sau khi chẩn đoán hoặc nhận biết lâm sàng của triệu chứng hoặc 2, 4, 6, 10, 15, hoặc 24 giờ, 2, 3, 5, hoặc 7 ngày, 2, 4, 6 hoặc 8 tuần hoặc thậm chí 3, 4, hoặc 6 tháng sau khi chẩn đoán hoặc phát hiện triệu chứng.

Để điều trị in vivo của đối tượng mắc bệnh là con người và không phải con người bị nhiễm HIV, người bệnh có thể được dùng hoặc được cung cấp dược phẩm bao gồm dược phẩm của sáng chế. Khi được sử dụng cho liệu pháp điều trị in vivo, dược phẩm của sáng chế có thể được dùng cho người bệnh với lượng hữu hiệu về mặt điều trị (nghĩa là, lượng mà loại trừ hoặc làm giảm lượng virus của người bệnh). Dược phẩm có thể được dùng cho người bệnh theo các phương pháp đã biết, như dùng trong tĩnh mạch, ví dụ, như liều cao hoặc bằng việc truyền liên tục trong khoảng thời gian, bằng đường trong cơ, trong màng bụng, trong não tuỷ sống, dưới da, trong khớp, trong hoạt dịch, trong vỏ não, qua đường miệng, khu trú hoặc đường xông. Dược phẩm có thể được dùng ngoài đường tiêu hoá, khi có thể thực hiện được, tại vị trí tế bào đích hoặc trong tĩnh mạch. Việc dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da của dược phẩm là được ưu tiên trong một số phương án. Dược phẩm điều trị của sáng chế có thể được dùng cho người bệnh hoặc đối tượng theo toàn thân, ngoài đường tiêu hoá hoặc hoặc khu trú.

Dược phẩm có thể được làm tiệt trùng bằng các kỹ thuật làm tiệt trùng thông thường hoặc có thể được lọc vô trùng. Dung dịch trong nước thu được có thể được đóng gói để sử dụng như là hoặc được làm khô lạnh, dược phẩm khô lạnh có thể được

dùng ở dạng bột hoặc được tổ hợp với chất mang trong nước vô trùng trước khi dùng. Độ pH của dược phẩm sẽ thường nằm trong khoảng từ 3 đến 11, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5 đến 9 hoặc nằm trong khoảng từ 6 đến 8, và tốt nhất là từ 7 đến 8, như từ 7 đến 7,5. Dược phẩm thu được ở dạng rắn có thể được đóng gói trong các đơn vị đa liều đơn, mỗi đơn vị chứa lượng cố định của bất kỳ một hoặc nhiều trong số các axit nucleic gp140 Env tối ưu được đòi hỏi để trợ giúp cho sự hình thành một hoặc nhiều trong số các trime ổn định của sáng chế và/hoặc một hoặc nhiều trong số các trime ổn định của sáng chế và, nếu muốn, một hoặc chất điều biến miễn dịch, như trong gói viên nén bọc kín hoặc viên nang hoặc dụng cụ xông bột khô thích hợp (DPI) có khả năng dùng một hoặc nhiều liều.

Liều

Liều dược phẩm của sáng chế (ví dụ, vaccin bao gồm một hoặc nhiều trong số các trime gp140 Env ổn định của sáng chế) hoặc nhiều phép điều trị bằng cách sử dụng dược phẩm của sáng chế có thể được gia tăng hoặc được giảm dựa vào mức trầm trọng của, sự xuất hiện của hoặc sự tiến triển của sự lây nhiễm HIV và/hoặc bệnh liên quan đến sự lây nhiễm HIV (ví dụ, AIDS) ở đối tượng (ví dụ, dựa vào mức trầm trọng của một hoặc nhiều triệu chứng lây nhiễm HIV/AIDS được mô tả trên đây).

Dược phẩm trime gp140 Env ổn định của sáng chế có thể được dùng với lượng hữu hiệu về mặt điều trị mà tạo ra tác dụng miễn dịch và/hoặc bảo vệ kháng lại HIV hoặc protein đích của HIV (ví dụ, gp140). Đối tượng có thể, ví dụ, được dùng dược phẩm polypeptit của sáng chế (ví dụ, trime gp140 Env ổn định của sáng chế) trong dược phẩm không chứa vật truyền. Dược phẩm polypeptit được dùng có thể bao gồm khoảng từ 1µg đến 1mg trime Env ổn định và tốt hơn là khoảng từ 50µg đến 300µg trime Env ổn định của sáng chế.

Theo cách khác, đối tượng có thể được dùng, ở dạng vật truyền virus, ít nhất khoảng 1×10^3 hạt virus (vp)/liều hoặc khoảng từ 1×10^1 đến 1×10^{14} vp/liều, tốt hơn là khoảng từ 1×10^3 đến 1×10^{12} vp/liều, và tốt hơn nữa là khoảng từ 1×10^5 đến 1×10^{11} vp/liều.

Hạt virus bao gồm các phân tử axit nucleic mã hoá một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env ổn định của sáng chế và được bao quanh bởi lớp bao bảo vệ

(capsit được tạo thành chủ yếu từ protein với hexon và protein dạng sợi). Số lượng hạt virut có thể được đo dựa trên, ví dụ, sự tiêu hạt vật truyền, tiếp theo đo hấp thụ ở 260nm (xem, ví dụ ấn phẩm: Steel, Curr. Opin. Biotech., 1999).

Liều được dùng phụ thuộc vào đối tượng được điều trị (ví dụ, tuổi, thể trọng, khả năng của hệ miễn dịch và sức khoẻ tổng thể của đối tượng được điều trị), dạng dùng (ví dụ, như dạng rắn hoặc dạng lỏng), cách dùng (ví dụ, bằng việc tiêm, xông, chất đầy dạng bột khô), và tế bào đích (ví dụ, tế bào biểu mô, như tế bào biểu mô mạch máu, tế bào biểu mô mũi hoặc tế bào biểu mô phổi). Dược phẩm tốt hơn là được dùng với lượng mà tạo ra hàm lượng sản phẩm gen trime gp140 Env ổn định đầy đủ (ví dụ, hàm lượng trime gp140 Env ổn định mà gây ra đáp ứng miễn dịch mà không có tác dụng sinh lý ngược đáng kể ở đối tượng do trime gây miễn dịch gây ra).

Ngoài ra, một hoặc nhiều lần dùng được phẩm của sáng chế có thể được đưa ra (trước hoặc sau lây nhiễm và/hoặc trước hoặc sau chẩn đoán) cho đối tượng (ví dụ, một lần dùng hoặc dùng hai hoặc nhiều lần dùng). Ví dụ, các đối tượng mà đặc biệt là dễ bị, ví dụ, nhiễm HIV có thể đòi hỏi nhiều lần điều trị để thiết lập và/hoặc duy trì việc bảo vệ kháng lại virut. Mức độ miễn dịch được cảm ứng được tạo ra bởi dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được kiểm tra bằng cách, ví dụ, đo lượng làm trung hòa bài tiết kháng HIV và kháng thể huyết thanh. Sau đó, các liều được điều chỉnh hoặc được lặp lại nếu cần để khởi động mức đáp ứng miễn dịch mong muốn. Ví dụ, đáp ứng miễn dịch được khởi động bằng việc dùng đơn (cơ bản) dược phẩm của sáng chế có thể không có hiệu lực một cách đầy đủ và/hoặc liên tục tạo ra việc bảo vệ hữu hiệu. Do đó, theo một số phương án, việc dùng lặp lại (liều cao), sao cho chế độ cơ bản-liều cao được thiết lập, có thể làm tăng cường một cách đáng kể các đáp ứng thể dịch và tế bào đối với kháng nguyên của dược phẩm.

Theo cách khác, khi áp dụng cho liệu pháp tái tổ hợp, hiệu quả điều trị có thể được xác định bằng việc kiểm tra hàm lượng của một hoặc nhiều trong số các trime gp140 Env tối ưu được biểu hiện bởi hoặc có mặt ở đối tượng (ví dụ, con người) sau khi dùng dược phẩm của sáng chế. Ví dụ, máu hoặc bạch huyết của đối tượng có thể được thử nghiệm đối với (các) trime gây miễn dịch bằng cách sử dụng, ví dụ, các thử nghiệm tiêu chuẩn đã được biết đến trong lĩnh vực này (xem, ví dụ ấn phẩm: Human

Interferon-Alpha Multi-Species ELISA kit (sản phẩm số 41105) và the Human Interferon-Alpha Serum Sample kit (sản phẩm số 41110) từ Pestka Biomedical Laboratories (PBL), Piscataway, New Jersey).

Liều đơn của một hoặc nhiều trong số các dược phẩm của sáng chế có thể đạt được việc bảo vệ, trước lây nhiễm hoặc trước chẩn đoán. Ngoài ra, liều đơn được dùng sau lây nhiễm hoặc sau chẩn đoán có thể có chức năng điều trị theo sáng chế.

Liều đơn của một hoặc nhiều trong số các dược phẩm của sáng chế cũng có thể được sử dụng để đạt được liệu pháp điều trị ở đối tượng sẽ được điều trị đối với bệnh. Đa liều (ví dụ, 2, 3, 4, 5 liều hoặc nhiều hơn) cũng có thể được dùng, nếu cần, cho các đối tượng này.

Chất mang, tá dược, chất pha loãng

Dạng dược phẩm điều trị của chế phẩm của sáng chế (ví dụ, vaccin, vật truyền, (các) trime ổn định, phân tử axit nucleic, v.v) có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn đã được biết đến trong lĩnh vực này bằng cách trộn hoạt chất có độ tinh khiết mong muốn với chất mang, tá dược hoặc chất làm ổn định chấp nhận được về mặt sinh lý tùy ý (Remington's Pharmaceutical Sciences (20th edition), ed. A. Gennaro, 2000, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA). Chất mang có thể chấp nhận bao gồm nước muối hoặc chất đệm như phosphat, xitrat và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hoá bao gồm axit ascorbic; polypeptit trọng lượng phân tử thấp (nhỏ hơn khoảng 10 gđc); protein như albumin huyết thanh, gelatin hoặc globulin miễn dịch; polyme ưa nước như polyvinylpyrrolidon, axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, arginin hoặc lysin; các monosacarit, disacarit và các carbohydrat khác bao gồm glucoza, mannoza hoặc dextrin; chất tạo chelat như EDTA; các đường rượu như manitol hoặc sorbitol; các ion đối tạo muối như natri; và/hoặc chất hoạt động bề mặt không ion như TWEENTM, PLURONICSTM, hoặc PEG.

Tùy ý, nhưng tốt hơn là, dược phẩm chứa muối dược dụng, tốt hơn là natri clorua và tốt hơn là ở khoảng nồng độ sinh lý. Tùy ý, dược phẩm của sáng chế có thể chứa chất bảo quản dược dụng. Theo một số phương án, nồng độ chất bảo quản nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0%, thường là theo thể tích. Các chất bảo quản thích hợp bao gồm các chất đã được biết đến trong lĩnh vực dược phẩm. Rượu benzylic, phenol, m-cresol,

methylparaben, và propylparaben là các chất bảo quản được ưu tiên. Tùy ý, dược phẩm của sáng chế có thể bao gồm chất hoạt động bề mặt được dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,02%.

Chất bổ trợ

Bất kỳ một trong số các dược phẩm của sáng chế (ví dụ, vaccin, vật truyền, (các) trime ổn định, phân tử axit nucleic, v.v) có thể được bào chế bao gồm, được dùng một cách đồng thời với và/hoặc được dùng theo dãy với một hoặc nhiều chất bổ trợ được dụng để làm tăng tính gây miễn dịch của dược phẩm (ví dụ, khi dùng cho đối tượng cần điều trị này, ví dụ, đối tượng bị nhiễm HIV hoặc có nguy cơ nhiễm HIV). Các chất bổ trợ được chấp thuận dùng cho người sử dụng bao gồm các muối nhôm (phèn). Các chất bổ trợ này là hữu ích đối với một số vaccin bao gồm bệnh viêm gan B, bệnh bạch hầu, bệnh bại liệt, bệnh dại và bệnh cúm. Các chất bổ trợ hữu ích khác bao gồm các chất bổ trợ Freund đầu đủ (CFA), chất bổ trợ Freund không đầu đủ (IFA), muramyl dipeptit (MDP), các chất tương tự tổng hợp của MDP, N-axetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamyl-L-alanin-2-[1,2-dipalmitoyl-s-gly-cero-3-(hydroxyphosphoryloxy)]-etylamin (MTP-PE), Adju-Phos, chất nền M, CpG/Emulsigen, và dược phẩm chứa dầu có thể chuyển hoá và chất nhũ hoá, trong đó dầu và chất nhũ hoá có thể có mặt ở dạng nhũ tương dầu trong nước có giọt dầu hầu như tất cả trong số chúng có đường kính nhỏ hơn 1 micron.

Chuyển nhiễm và tải nạp ex vivo

Sáng chế cũng đề xuất việc chuyển nhiễm hoặc tải nạp ex vivo của tế bào, tiếp theo dùng tế bào này trở lại vào trong đối tượng (ví dụ, con người) để cho phép đối với sự biểu hiện của một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu của sáng chế mà có các đặc tính gây miễn dịch. Theo một phương án, tế bào là tự rụng đối với đối tượng được điều trị. Tế bào có thể được chuyển nhiễm hoặc được tải nạp ex vivo với, ví dụ, một hoặc nhiều vật truyền của sáng chế để cho phép đối với sự biểu hiện tạm thời hoặc cố định của một hoặc nhiều trong số các polypeptit gp140 Env tối ưu ở đối tượng được điều trị. Khi dùng tế bào được cải biến này cho đối tượng, một hoặc nhiều vật truyền của sáng chế sẽ được biểu hiện, gây ra các đáp ứng miễn dịch bảo vệ hoặc điều trị (ví dụ, các đáp ứng miễn dịch tế bào hoặc thể dịch, ví dụ tạo ra việc làm trung

hòa kháng huyết thanh kháng HIV) được định hướng kháng trime gây miễn dịch gp140 hoặc các trime mà tạo thành.

Tế bào mà có thể được phân lập và được chuyển nhiễm hoặc tải nạp ex vivo theo các phương pháp của sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào máu, tế bào da, nguyên bào sợi, tế bào màng trong, tế bào cơ xương, tế bào gan, tế bào biểu mô tuyến tiền liệt và tế bào màng trong mạch. Các tế bào gốc cũng là các tế bào thích hợp để tải nạp hoặc chuyển nhiễm với vật truyền của sáng chế. Tế bào tốc toàn năng, nhiều năng, đa năng hoặc đơn năng, bao gồm các tế bào nguyên bản tuỷ xương và tế bào gốc tạo máu (HSC), có thể được phân lập và được chuyển nhiễm hoặc được tải nạp với, ví dụ, vật truyền của sáng chế và được dùng cho đối tượng theo các phương pháp của sáng chế.

Phương pháp chuyển nhiễm hoặc tải nạp có tác động mạnh đến cường độ và tuổi thọ của sự biểu hiện protein (ví dụ, sự biểu hiện trime gp140 ổn định) ở tế bào được chuyển nhiễm hoặc được tải nạp và tiếp theo, ở đối tượng (ví dụ, con người) nhận tế bào này. Sáng chế đề xuất vật truyền mà là tạm thời (ví dụ, vật truyền adenovirut) hoặc kéo dài (ví dụ, vật truyền retrovirut) trong tự nhiên. Các trình tự điều hoà (ví dụ, đoạn khởi đầu và đoạn tăng cường) là đã được biết đến trong lĩnh vực này mà có thể được sử dụng để điều hoà sự biểu hiện protein. Loại tế bào được chuyển nhiễm hoặc được truyền cũng có quan hệ chặt chẽ về cường độ và tuổi thọ của sự biểu hiện protein. Ví dụ, các loại tế bào với tốc độ thay thế ở mức cao có thể được mong đợi để có khoảng thời gian biểu hiện protein ngắn hơn.

Các liệu pháp điều trị kết hợp

Các chế độ điều trị khác có thể được tổ hợp với việc dùng dược phẩm của sáng chế. Việc dùng tổ hợp bao gồm việc dùng đồng thời, bằng cách sử dụng các dược phẩm riêng biệt hoặc dược phẩm đơn lẻ và dùng liên tiếp theo thứ tự, trong đó tốt hơn là có khoảng thời gian trong khi cả hai (hoặc tất cả) hoạt chất gây ra một cách đồng thời các hoạt tính sinh học của chúng. Tốt hơn là, liệu pháp điều trị kết hợp này dẫn đến tác dụng điều trị hiệp đồng. Theo một số phương án, có thể mong muốn dùng tổ hợp dược phẩm của sáng chế với chất (ví dụ, kháng thể hoặc mảnh kháng thể) được định hướng kháng kháng nguyên kết hợp với chất lây nhiễm. Việc gây miễn dịch thụ động đã được

chứng minh là chiếm lượng hữu hiệu và an toàn để ngăn ngừa và điều trị các bệnh virus (xem ấn phẩm: Keller et al., Clin. Microbiol. Rev. 13:602- 14 (2000); Casadevall, Nat. Biotechnol. 20: 114 (2002); Shibata et al., Nat. Med. 5:204-10 (1999); và Igarashi et al., Nat. Med. 5:211-16 (1999)). Việc gây miễn dịch thụ động bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng của người, tạo ra chiến lược điều trị tức thì đối với việc phòng bệnh khẩn cấp và điều trị HIV, và có thể được sử dụng trong tổ hợp cùng với các dược phẩm của sáng chế. Các kháng thể HIV và mảnh của nó gắn kết một cách đặc hiệu hoặc gắn kết theo cách ưu tiên với tế bào lây nhiễm, như so với tế bào và mô đối chứng thông thường không lây nhiễm. Do đó, các kháng thể HIV này có thể được sử dụng để tạo đích một cách chọn lọc tế bào hoặc mô bị lây nhiễm ở người bệnh, mẫu sinh học hoặc quần thể tế bào, ví dụ, như một phần của liệu pháp điều trị tổ hợp với dược phẩm của sáng chế.

Ví dụ, đơn yêu cầu cấp patent tạm thời của Mỹ số 61/886,932 bộc lộ trime Env nhánh C HIV, polypeptit của nó có thể được sử dụng trong tổ hợp với polypeptit được bộc lộ trong bản mô tả này để tạo thành trime của sáng chế. Đơn yêu cầu cấp patent tạm thời của Mỹ số 61/884,414 bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng bị nhiễm HIV và phong bế sự lây nhiễm HIV ở đối tượng mắc nguy cơ lây nhiễm HIV bằng cách sử dụng kháng thể phụ thuộc H332 glycan. Công bố đơn quốc tế số 2012/030904 bộc lộ kháng thể làm trung hòa rộng rãi kháng HIV, bất kỳ trong số chúng có thể được sử dụng trong các phương pháp điều trị HIV ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này theo sáng chế. Các kháng thể lấy làm ví dụ bao gồm VRC01, PGT121, PGT126, PG9, PG16, và 3BNC117.

Kit

Sáng chế đề xuất kit mà bao gồm dược phẩm chứa vaccin, vật truyền, trime ổn định, hoặc polypeptit virus tối ưu của sáng chế và chất mang dược dụng, với lượng hữu hiệu về mặt điều trị để ngăn ngừa hoặc điều trị sự lây nhiễm. Kit bao gồm các chỉ dẫn để cho phép thầy thuốc lâm sàng (ví dụ, bác sĩ hoặc y tá) dùng dược phẩm được chứa trong đó.

Tốt hơn là, kit bao gồm nhiều gói của (các) dược phẩm liều đơn chứa lượng hữu hiệu của vaccin, vật truyền, trime ổn định, hoặc polypeptit virus tối ưu của sáng chế.

Tuỳ ý là, các dụng cụ hoặc thiết bị cần thiết để dùng (các) dược phẩm có thể được bao gồm trong kit. Ví dụ, kit của sáng chế có thể có một hoặc nhiều ống tiêm được làm đầy trước chứa lượng hữu hiệu của vaccin, vật truyền, trime ổn định, hoặc polypeptit virus tối ưu của sáng chế. Hơn nữa, kit cũng có thể bao gồm các thành phần bổ sung như các chỉ dẫn hoặc chế độ dùng đối với người bệnh bị nhiễm hoặc có nguy cơ bị nhiễm virus để sử dụng (các) dược phẩm chứa vaccin, vật truyền, trime ổn định, hoặc polypeptit virus tối ưu của sáng chế.

Sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này rằng các cải biến hoặc biến đổi khác nhau có thể được tạo ra trong dược phẩm, phương pháp và kit của sáng chế mà không tách rời tinh thần hoặc phạm vi của sáng chế. Do đó, dự định rằng sáng chế bao gồm các cải biến và biến đổi của sáng chế thuộc phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo và các dạng tương đương của chúng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được minh họa bằng các ví dụ sau đây, mà không phải là cách để làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1. Vật liệu và phương pháp

Phát hiện miễn dịch thấm tách Western

Thế tích chứa 10- μ g đương lượng vật truyền biểu hiện ADN pVRC8400 trống rỗng, phiên bản gp140 khám pVRC8400 (vật truyền biểu hiện đối với polypeptit bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1), hoặc phiên bản 2 của gp140 khám pVRC8400 (vật truyền biểu hiện đối với polypeptit bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2) mỗi phiên bản được tạo thành đến 100 μ l với môi trường eagle được cải biến Dulbeco (DMEM; Invitrogen). Sau đó, thêm 60 μ l DMEM vào 40 μ l thuốc thử chuyển nhiễm Lipofectamine (Invitrogen) và 100 μ l hỗn hợp này được thêm vào mỗi vật truyền ADN tiếp theo khuấy nhẹ và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Rửa một lần 293T tế bào được sinh trưởng đến khoảng từ 70 đến 80% hợp dòng trong bình thót cổ T-25 bằng 2,5ml DMEM, 2,3ml DMEM được thêm vào tiếp theo 200 μ l hỗn hợp ADN/Lipofectamin. Sau đó, ủ tế bào ở 37°C, 10% CO₂ trong 48 giờ. 48 giờ sau chuyển nhiễm, thu hoạch 0,5ml dịch nổi từ mỗi bình thót cổ T-25, quay nhanh và 20 μ l được

đặt vào trong ống eppendorf sạch. Thêm 5µl chất đệm mẫu giảm 5 lần (Pierce) vào mỗi ống, mỗi mẫu được gia nhiệt trong 5 phút ở 100°C và sau đó đặt lên nước đá để làm mát. Nạp 20µl mỗi mẫu vào từ 4 đến 15% SDS-PAGE đúc trước (Biorad), và chạy gel ở 150V trong khoảng 70 phút. Việc chuyển protein từ gel vào màng được thực hiện bằng cách sử dụng hệ thống tạo vết khô iblot (Invitrogen) theo phương thức của nhà cung cấp bằng cách sử dụng khối chuyển gel PVDF. Việc phong bế màng được thực hiện qua đêm ở 4°C trong 20ml dung dịch phong bế PBS-T (nghĩa là, nước muối đệm phosphat Dulbecco (Invitrogen), chứa 0,2% thể tích Tween 20 (Sigma) và 5% trọng lượng/thể tích bột sữa không chứa chất béo) trên thiết bị lắc quỹ đạo. Sau đó, thêm 10µl HRP đơn dòng tiếp hợp kháng thể kháng His tag (Qiagen) vào 20ml dung dịch phong bế PBS-T (pha loãng 1:2000) tiếp theo ở trên thiết bị lắc quỹ đạo ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Rửa màng 5 lần trong dung dịch phong bế PBS-T, màng được làm khô trên giấy hấp thụ để loại bỏ chất phong bế dư và để phát hiện, Amersham ECL Plus Western Blotting Detection System (GE Healthcare) được sử dụng.

Sự chuyển nhiễm chai trực lẫn và tinh chế protein

Môi trường sinh trưởng DMEM được bổ sung với 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) được sử dụng để sinh trưởng 293T để hợp dòng trong chai trực lẫn Cell Bind® (Corning), môi trường sinh trưởng được loại bỏ, tiếp theo bổ sung 250ml môi trường biểu hiện Freestyle 293 được làm ấm trước (Invitrogen) và ủ trong 2 giờ ở 37°C, 5% CO₂. Trộn 250µg phiên bản 2 của gp 140 khả năng vật truyền biểu hiện ADN pVRC8400 với 320µl polyetylenimin (PEI) (1mg/ml) được bổ sung vào 20ml môi trường freestyle 293 ở nhiệt độ trong phòng, ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút và sau đó bổ sung vào mỗi chai trực lẫn tiếp theo ủ trong 6 ngày trong 37°C, 5% CO₂. Thu hoạch dịch nổi tế bào ở 6 ngày sau khi thay đổi môi trường. Protein phiên bản 2 của gp140 Env khả năng tối ưu được tạo Histidin-tag, bao gồm SEQ ID NO: 2, được tinh chế bằng Ni-NTA (Qiagen) tiếp theo sắc ký loại trừ theo kích thước. Tóm lại, sau khi gạn quay và bổ sung imidazol vào đến nồng độ cuối cùng bằng 10mM, nạp dịch nổi tế bào vào cột niken ở tốc độ dòng 0,8mL/phút và rửa bằng 20mM imidazol trong PBS tiếp theo rửa tiếp bằng 40mM imidazol trong PBS. Sau đó, tách rửa protein bằng 300mM imidazol trong PBS. Gom các phân đoạn chứa protein tinh chế, cô đặc và tinh chế tiếp bằng sắc ký lọc gel trên Superose 6 (GE Healthcare) trong chất đệm chạy cột chứa 25mM Tris (độ pH=7,5)

và 150mM NaCl. Cô đặc protein tinh chế, làm đông lạnh trong nitơ dạng lỏng và lưu trữ ở -80°C.

Động vật và gây miễn dịch

Chuột lang giống cái giao phối xa Hartley (Elm Hill Labs) được nhốt ở Phòng nghiên cứu động vật của Beth Israel Deaconess Medical Center theo phương thức được chấp thuận bởi the Institutional Animal Care and Use Committee. Chuột lang được gây miễn dịch bằng việc tiêm trong cơ hai bên ở cơ bốn đầu phía trên với polypeptit gp140 Env nhánh C (nghĩa là, homotrimer có ba phân tử bao gồm trình tự axit amin của cEnv (SEQ ID NO: 3)), gp140 Env khảm (nghĩa là, homotrimer có ba phân tử bao gồm trình tự axit amin của mEnv (SEQ ID NO: 1)), hoặc hỗn hợp gp140 Env/gp140 Env khảm nhánh C (100µg/động vật) ở khoảng thời gian 4 tuần (các tuần 0, 4, và 8) sử dụng 500µl tổ hợp chất bổ trợ kép bao gồm 15% (thể tích) Emulsigen dầu trong nước (MVP Laboratories)/PBS và 50µg chất kích thích miễn dịch di-nucleotit CpG ADN (5'-TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT-3') (Midland Reagent Company). Hỗn hợp gp140 Env/ gp140 Env khảm nhánh C chứa 50µg mỗi protein. Các mẫu huyết thanh thu được từ tĩnh mạch chủ của động vật gây mê 4 tuần sau mỗi lần gây miễn dịch.

Thử nghiệm làm trung hòa kháng thể trong tế bào TZM.bl

Việc làm trung hòa các đáp ứng kháng thể kháng HIV-1 Env pseudovirut được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm làm trung hòa virut dựa trên luciferaza trong tế bào TZM.bl. Các thử nghiệm này đo việc giảm sự biểu hiện gen thông báo luciferaza trong tế bào TZM-bl tiếp theo vòng chuyển nhiễm virut đơn lẻ. ID₅₀ được tính toán như sự pha loãng huyết thanh mà dẫn đến việc giảm 50% trong các đơn vị huỳnh quang tương đối so với các giếng đối chứng virut sau khi trừ đi các đơn vị huỳnh quang tương đối của tế bào đối chứng. Tóm lại, các pha loãng theo dãy gấp ba lần của các mẫu huyết thanh được thực hiện hai lần (đĩa đáy phẳng 96 giếng) trong môi trường sinh trưởng 10% DMEM (100µl/giếng). Virut được bổ sung vào mỗi giếng với thể tích 50µl, và ủ đĩa trong 1 giờ ở 37°C. Sau đó, thêm tế bào TZM.bl (1x10⁴ /giếng trong 100µl thể tích) trong môi trường sinh trưởng 10% DMEM chứa diethylaminoethyl-dextran (Sigma) ở nồng độ cuối cùng 11µg/ml. Đối chứng âm tính virut gây bệnh bạch cầu ở chuột (MuLV) được bao gồm trong tất cả các thử nghiệm. Pseudovirut vỏ ngoài HIV-1 bao

gồm thể phân lập nhánh A (MS208.A1 và Q23.17), thể phân lập nhánh B (SF162.LS, BaL.26, SS1196.1 và 6535.3), và nhánh C (MW965.26, TV1.21, ZM109F.PB4 và ZM197M.PB7).

Ví dụ 2. Tạo ra trime Env1 gp140 khả năng tối ưu của sáng chế

mEnv+ (polypeptit bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2) đã được cải biến từ mEnv (polypeptit bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1) theo cách sau đây. Thứ nhất, trình tự tiết peptit dẫn đầu đã được tạo ra giống với trình tự được sử dụng trong cấu trúc trime polypeptit gp140 Env nhánh C ổn định (cEnv) (SEQ ID NO: 3). Thứ hai, các đột biến vị trí tách đã được hợp nhất giữa các phần gp120 và gp41 để làm tăng cường tiếp độ ổn định. Thứ ba, vị trí tách nhân tố Xa proteaza (SRIEGR) đã được hợp nhất ngược dòng của miền trime hoá foldon. Trình tự axit amin của ba polypeptit Env (SEQ ID NO: từ 1 đến 3) và các cải biến đặc hiệu có mặt trong mỗi số chúng được mô tả trên các hình vẽ từ Fig.1A đến Fig.1C.

Ngạc nhiên là, các cải biến này dẫn đến trime gp140 Env1 ổn định một cách rõ rệt (ví dụ, mEnv+ trime của sáng chế). Để đánh giá độ ổn định, các tác giả sáng chế so sánh mức biểu hiện của mEnv+ so với mEnv bằng phép phân tích thẩm tách Western. Để kết thúc, bình thốt cổ T-25 chứa 80% tế bào 293T hợp dòng được chuyển nhiễm với vật truyền biểu hiện sinh vật nhân thật pVRC8400 biểu hiện mEnv hoặc mEnv+ bằng cách sử dụng lipofectamine 2000 (Invitrogen) và 10µl mỗi dịch nổi được phân tích bằng việc phát hiện miễn dịch thẩm tách Western bằng cách sử dụng kháng Histidin tag HRP (Qiagen). Fig.2 mô tả thẩm tách Western thể hiện mức biểu hiện của mEnv và mEnv+ lần lượt trong đường 3 và 4. Đáng chú ý là, mức biểu hiện của mEnv+ là cao hơn một cách đáng kể so với mức biểu hiện của mEnv hoặc cEnv, mà được sử dụng làm đối chứng dương tính (xem đường 1). Trong thử nghiệm này, pVRC8400 trông rộng được sử dụng làm đối chứng âm tính (xem đường 2).

Như được mô tả trên đây, mEnv+ được biểu hiện ở tế bào 293T và tinh chế theo dịch tan tế bào và gạn bằng công dụng của His-tag bằng cách sử dụng cột Ni-NTA (Qiagen). Nhóm các phân đoạn gom lại sau khi tách rửa imidazol, cô đặc và tinh chế tiếp bằng sắc ký lọc gel trên Superose 6 (GE Healthcare) trong chất đệm chạy cột chứa 25mM Tris (độ pH=7,5) và 150mM NaCl. Dấu vết sắc ký mô tả việc tách rửa mEnv+

từ cột Superose 6 được mô tả trên Fig.3. Các phân đoạn đỉnh (nghĩa là, các phân đoạn thu được dưới đường cong đỉnh trên Fig.3) sau đó được phân tích theo cách riêng rẽ trên từ 4 đến 15% tiền cảnh gel SDS-PAGE (Fig.4). Gel SDS-PAGE chứng minh việc tinh chế lọc gel một cách thành công dẫn đến việc phân lập quần thể đồng nhất của mEnv+ polypeptit. Như được mô tả hơn nữa trong bản mô tả này, tính gây miễn dịch của các trime gp140 Env ổn định (homotrime của mEnv và mEnv+, cũng như tổ hợp của mEnv và homotrime cEnv) được đánh giá ở chuột lang bằng cách sử dụng panen thể phân lập độ chuẩn 1 từ các nhánh A, B, và C.

Ví dụ 3. Phép phân tích làm trung hòa các đáp ứng kháng thể

Việc đánh giá cận lâm sàng của các chất gây miễn dịch Env ứng viên là tối hạn đối với khái niệm thử nghiệm và đối với sự ưu tiên của các ứng viên vaccin. Các thử nghiệm làm trung hòa virus dựa trên luciferaza trong tế bào TZM.b1 (Li et al. (2005) J. Virol. 79:10108; Montefiori (2005) Curr. Prot. Immunol. Chapter 12: Unit 1211) đã được phát triển như thử nghiệm liên tục ở mức cao mà có thể được tiêu chuẩn hoá (Montefiori (2009) Methods Mol. Biol. 485:395; Polonis et al. (2008) Virology 375:315). Thử nghiệm gen thông báo luciferaza được thực hiện trong tế bào TZM-b1 (dòng tế bào được thao tác về mặt di truyền mà biểu hiện CD4, CXCR4 và CCR5 và chứa gen thông báo thông báo Luc có thể cảm ứng Tat và β -Gal) dựa trên sự lây nhiễm vòng đơn với các virus kiểu Env-pseudo được tạo dòng về mặt phân tử. Thử nghiệm này dẫn đến tốc độ thành công ở mức cao trong các lây nhiễm vòng đơn, khả năng thử nghiệm tăng (ví dụ, thử nghiệm hai ngày), độ chính xác tăng (ví dụ, đo một cách chính xác sự trung hòa 50%) và mức tiêu chuẩn hoá được cải thiện (ví dụ, dòng tế bào ổn định). Thử nghiệm gen thông báo luciferaza được tối ưu hoá và thích hợp.

Để đánh giá profin làm trung hòa có đủ khả năng bởi trime gp140 Env ổn định của sáng chế, các thử nghiệm TZM.b1 được thực hiện trong đó huyết thanh chuột lang thu được trước khi dùng vaccin (Pre) và bốn tuần sau lần dùng vaccin thứ ba (Post) với homotrime cEnv, homotrime mEnv hoặc cEnv và homotrime mEnv được thử nghiệm đối với panen nhiều nhánh của dãy 1 thể phân lập nhạy trung hòa bao gồm pseudovirus ngoài HIV-1 nhánh B (SF162.LS và Bal.26), và nhánh C (MW965.26 và TV1.21)

và virus gây bệnh bạch cầu cấp tính ở chuột (MuLV) (đối chứng âm tính) (các hình vẽ từ Fig.5A đến Fig.5C).

Các thử nghiệm TZM.b1 cũng được thực hiện trong đó huyết thanh chuột lang thu được trước khi dùng vaccin (Pre) và bốn tuần sau lần dùng vaccin thứ ba (Post) bằng cách sử dụng homotrimer cEnv, homotrimer mEnv hoặc cEnv và homotrimer mEnv được thử nghiệm đối với pseudovirus vỏ ngoài HIV-1 của thể phân lập nhánh A độ chuẩn-1 nhạy trung hòa trung gian (Tier 1B) (MS208.A1 và Q23.17) (các hình vẽ từ Fig.6A đến Fig.6B), thể phân lập nhánh B (Tier 1A) và Tier 1B nhạy trung hòa ở mức cao (SF162.LS, BaL.26, SS1196.1, và 6535.3) (các hình vẽ từ Fig.7A đến Fig.7D), và các thể phân lập nhánh C Tier 1A và Tier 1B (MW965.26, TV1.21, ZM109F.PB4, và ZM197M.PB7) (các hình vẽ từ Fig.8A đến Fig.8D).

Bất ngờ là, việc định lượng của các dữ liệu độ chuẩn ID₅₀ chứng minh chung rằng tổ hợp của cEnv và homotrimer mEnv gây ra việc làm trung hòa các đáp ứng kháng thể mà tốt hơn so với cEnv hoặc mEnv đơn lẻ. Cụ thể là, tổ hợp của cEnv và mEnv ngưng kết một cách đặc biệt là xét đến việc mở rộng chiều rộng làm trung hòa các đáp ứng kháng thể được cảm ứng. Sự mở rộng chiều rộng làm trung hòa kháng thể đã được mô tả trước đây và là nhu cầu chính không đạt được trong lĩnh vực này.

Ví dụ 4. Điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm HIV ở đối tượng bằng cách sử dụng được phẩm của sáng chế

Dược phẩm của sáng chế (ví dụ, vaccin của sáng chế) có thể được dùng cho đối tượng (ví dụ, con người bị nhiễm HIV hoặc có nguy cơ nhiễm HIV) trong chế độ dùng vaccin cơ bản-liều cao để điều trị hoặc làm giảm nguy cơ nhiễm HIV ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này. Ví dụ, một hoặc nhiều trong số các dược phẩm của sáng chế, như vaccin bao gồm trimer mEnv, mEnv+, hoặc cEnv hoặc tổ hợp của mEnv với trimer cEnv hoặc mEnv+ với cEnv có thể được dùng như liều cao. Trước khi dùng liều cao, đối tượng được dùng như việc dùng vaccin cơ bản ít nhất vật truyền thứ nhất bao gồm phân tử axit nucleic thứ nhất mà mã hoá polypeptit có ít nhất 85% trình tự axit amin giống nhau (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% giống nhau) với, hoặc trình tự của, SEQ ID NO: 6, và tùy ý vật truyền thứ hai bao gồm phân tử axit nucleic thứ hai mà mã hoá polypeptit có ít nhất

85% giống nhau (ví dụ, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% giống nhau) với, hoặc trình tự của, SEQ ID NO: 7.

Dược phẩm tốt hơn là được dùng với lượng mà tạo ra hàm lượng đủ của sản phẩm gen trime gp140 Env ổn định (ví dụ, hàm lượng trime gp140 Env ổn định mà gây ra đáp ứng miễn dịch mà không có tác dụng sinh lý bất lợi quá mức ở đối tượng do trime gây miễn dịch gây ra). Nếu dược phẩm không chứa vật truyền, dược phẩm polypeptit được dùng có thể bao gồm khoảng từ 1 μ g và 1mg trime Env ổn định và tốt hơn nữa là khoảng từ 50 μ g đến 300 μ g trime Env ổn định của sáng chế. Theo cách khác, đối tượng có thể được dùng, ở dạng vật truyền virus, ít nhất khoảng 1x10³ hạt virus (vp)/liều hoặc khoảng từ 1x10¹ đến 1x10¹⁴ vp/liều, tốt hơn là khoảng từ 1x10³ đến 1x10¹² vp/liều, và tốt hơn nữa là khoảng từ 1x10⁵ đến 1x10¹¹ vp/liều.

Sau khi dùng dược phẩm của sáng chế theo chế độ cơ bản-liều cao, người bệnh có thể được đánh giá đối với các thay đổi về một hoặc nhiều triệu chứng, cụ thể là, mức độ chuẩn HIV ở đối tượng được điều trị và chế độ có thể được lặp lại nếu cần như được mô tả trên đây trong bản mô tả này.

Ví dụ 5. Tổ hợp của trime mEnv với trime cEnv gây ra việc làm trung hòa các đáp ứng kháng thể tốt hơn so với trime đơn lẻ

Giới thiệu

Việc sinh ra chất gây miễn dịch glycoprotein Env HIV-1 mà có thể gây ra việc gắn kết và nAbs kháng lại các chủng HIV-1 tuần hoàn khác nhau là mục tiêu chính của việc phát triển vaccin HIV-1 (Stephenson et al. (2013) Immunol. Rev. 254:295; Srivastava et al. (2005) Hum. Vaccin. 1:45; Barouch (2008) Nature. 455:613; Karlsson Hedestam et al. (2008) Nat. Rev. Microbiol. 6:143; Mascola et al. (2010) Annu. Rev. Immunol. 28:413). Glycoprotein Env bề mặt, mà là đích chính của các kháng thể làm trung hoà, bao gồm dưới đơn vị gắn kết thụ thể gp120 và dưới đơn vị dung hợp gp41 được kết hợp bởi các tương tác không cộng hoá trị và có mặt như đỉnh trime (gp120/gp41)₃ trên bề mặt virus. Trong quá trình lây nhiễm HIV-1 tự nhiên, hầu hết các cá thể gây ra đáp ứng kháng thể kháng Env với khả năng làm trung hòa bị giới hạn và tính biến thiên về gen *Env* có thể là cao 30% (Louwagie et al. (1995) J. Virol. 69:263; Kalish et al. (1995) Aids. 9:851; Korber et al. (2001) Br. Med. Bull. 58:19), cho là thử

thách chính trong việc phát triển chất gây miễn dịch dựa trên Env có liên quan đến toàn cầu. Tuy nhiên, đã được báo cáo rằng khoảng từ 10 đến 25% cá thể bị nhiễm HIV-1 có khả năng tạo ra kháng thể làm trung hòa ở mức rộng rãi (bnAbs) (Stamatatos et al. (2009) Nat. Med. 15:866) tạo ra cơ sở rằng các đáp ứng tương tự có thể đạt được với các chất gây miễn dịch Env thích hợp. Các nghiên cứu gần đây đã làm sáng tỏ hiệu quả điều trị bnAbs có ở khi nân Ấn Độ bị nhiễm theo cách mạn tính với virus gây suy giảm miễn dịch ở khi-người gây bệnh SHIV-SF162P3 Barouch et al. (2013) Nature. 503:224).

Một chiến lược để giải quyết sự khác biệt trình tự HIV-1 đã sử dụng các protein “khảm” tối ưu về mặt thông tin sinh học (Fischer et al. (2007) Nat. Med. 13:100), mà là các trình tự HIV-1 tái tổ hợp *in silico* được thiết kế cho việc bao phủ được cải thiện của sự khác biệt HIV-1 toàn cầu. Vài nghiên cứu tính gây miễn dịch bằng chứng của khái niệm ở động vật linh trưởng không phải con người đã chứng minh rằng kháng nguyên khảm được mã hoá vật truyền có thể làm tăng chiều sâu và chiều rộng của các đáp ứng miễn dịch tế bào và cũng cải thiện các đáp ứng kháng thể khi so với các kháng nguyên trình tự liên ứng và/hoặc tự nhiên (Stephenson et al. (2012) J. Virol. 86:11434; Barouch et al. (2010) Nat. Med. 16:319; Santra et al. (2010) Nat. Med. 16:324; Santra et al. (2012) Virology. 428:121). Gần đây, các tác giả sáng chế cũng đã báo cáo rằng hiệu quả bảo vệ của kháng nguyên khảm HIV-1 dựa trên vật truyền kháng các thử thách SHIV ở khi nân Ấn Độ (Barouch et al. (2013) Cell. 155:531). Tuy nhiên, việc sinh ra và đánh giá các chất gây miễn dịch protein Env khảm HIV-1 đã chưa được mô tả trước đây.

Trong nghiên cứu này, các tác giả sáng chế báo cáo rằng việc sản xuất và đặc trưng hoá của trime M gp140 khảm (mEnv). Bằng việc cộng hưởng plasmon bề mặt, mEnv gắn kết CD4 cũng như vài bnAb bao gồm VRC01, PGT121, PGT126, PG9, PG16, và 3BNC117, chứng minh rằng trime là nguyên vẹn và thể hiện các epitop liên quan. mEnv cũng thể hiện khả năng chức năng để lây nhiễm tế bào đích trong thử nghiệm TZM.bl. Các nghiên cứu gây miễn dịch ở chuột lang thể hiện rằng mEnv gây ra các độ chuẩn kháng thể gắn kết ở mức cao, ngang nhánh dây 1 TZM.bl nAbs và độ chuẩn 2 A3R5 nAbs có thể phát hiện mà là các quang phổ khác với quang phổ được

gây ra bởi trime gp140 nhánh C (cEnv). Đáp ứng nAb được gây ra bởi hỗn hợp gồm mEnv và cEnv chứng minh tác dụng cộng hợp và tốt hơn so với trime đơn lẻ.

Phương pháp

Sản xuất và biểu hiện của protein Env HIV-1

Ba trình tự gen M Env khảm gp140 tổng hợp thiết kế mEnv, mEnv2 (Barouch et al. (2010) Nat. Med. 16:319) và mEnv3, tất cả chứa các đột biến điểm để loại trừ hoạt tính tách và dung hợp, thu được từ phương pháp tối ưu hoá máy tính được mô tả trước đây (Fischer et al. (2007) Nat. Med. 13:100; Barouch et al. (2010) Nat. Med. 16:319). Các phiên bản tối ưu hoá codon ở người được tổng hợp bằng GeneArt (Life Technologies). Mỗi cấu trúc được theo tác để biểu hiện miền trime hoá “fold-on” fibrin thể thực khuẩn T4 đầu cuối C và polyhistidin motif bằng sự khuếch đại PCR với các đoạn mồi theo ý. Các gen được tạo dòng vào trong vị trí giới hạn *Sall-BamHI* của vật truyền biểu hiện nhân thật pCMV, các thể lỏng vào được kiểm tra bằng các phân loại giới hạn chẩn đoán và ADN được tạo trình tự và thử nghiệm biểu hiện được thực hiện bằng cách sử dụng 10µg ADN với Lipofectamin (Life Technologies) trong tế bào 293T. Dòng tế bào ổn định đối với nhánh C (C97ZA.012) (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111) và trime Env M gp140 khảm được sinh ra bởi Codex Biosolutions. Đối với việc sản xuất protein, các dòng tế bào ổn định được sinh trưởng trong môi trường Eagle được cải biến Dulbecco (DMEM) (được bổ sung với 10% FBS, penicillin/streptomycin và puromycin) để hợp dòng và sau đó được thay đổi thành môi trường biểu hiện Freestyle 293 (Invitrogen) được bổ sung với cùng thuốc kháng sinh. Thu hoạch dịch nổi tế bào ở từ 96 đến 108 giờ sau khi thay đổi môi trường và protein gp140 tạo His-tag được tinh chế bằng Ni-NTA (Qiagen) và sắc ký loại trừ theo kích thước như được mô tả trước đây (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270). Gen tổng hợp đối với M gp120 khảm có chiều dài nguyên vẹn với His-tag đầu cuối C được sinh ra từ cấu trúc mEnv bằng việc khuếch đại PCR với các đoạn mồi tùy ý, được tạo ra trong tế bào 293T dùng các lần chuyển nhiễm chuyển nhiễm tạm thời với polyetylenimin và tiếp theo tinh chế bằng Ni-NTA (Qiagen) và sắc ký loại trừ theo kích thước trên Superdex 200 (GE Healthcare). Gen tổng hợp đối với M gp160 khảm có chiều dài nguyên vẹn được sử

dụng trong thử nghiệm TZM.bl được tổng hợp bằng GeneArt (Life Technologies) và được tạo dòng vào trong vật truyền pcDNATM3.1/V5-His-TOPO (Invitrogen).

Phát hiện miễn dịch thấm tách Western

Dịch nổi (20µl) thu được 48 giờ sau chuyển nhiễm chuyển nhiễm tạm thời của tế bào 293T với các cấu trúc biểu hiện pCMV- mEnv, mEnv2, hoặc mEnv3 gp140 được trộn theo cách riêng biệt với việc giảm chất đệm mẫu giảm (Pierce), gia nhiệt trong 5 phút ở 100°C và chạy trên từ 4 đến 15% gel SDS-PAGE đúc sẵn (Biorad). Protein được truyền vào màng PVDF sử dụng hệ thống tạo vết khô iBlot (Invitrogen) và việc phong bế màng được thực hiện qua đêm ở 4°C trong PBS-T [nước muối đệm phosphat Dulbecco + 0,2% thể tích Tween 20 (Sigma) + 5% trọng lượng/thể tích bột sữa không chứa chất béo]. Sau khi phong bế qua đêm, màng PVDF được ủ trong 1 giờ với PBS-T chứa sự pha loãng 1:2000 của kháng thể đơn dòng penta His-HRP (Qiagen), rửa 5 lần bằng PBS-T và phát triển bằng cách sử dụng Amersham ECL cộng với hệ thống dò tìm thấm tách Western (GE Healthcare). Đối với việc phát hiện miễn dịch thấm tách western bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng 2F5 và 4E10, nhánh A (92UG037.8) gp140 (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270) và M gp140 protein khản được xử lý như trên đây.

Cộng hưởng plasmon bề mặt

Cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) được thực hiện trên Biacore 3000 (GE Healthcare) ở 25°C sử dụng chất đệm chạy HBS-EP (GE Healthcare). Việc giữ ổn định CD4 hai miền có thể hòa tan (Freeman et al. (2010) Structure. 18:1632) (1,500 RU) hoặc protein A (ThermoScientific) vào chip CM5 được thực hiện theo khuyến cáo của nhà sản xuất (GE Healthcare). Các IgG được giữ cố định được bắt giữ ở từ 300 đến 750 RU. Các thử nghiệm gắn kết được thực hiện ở tốc độ dòng 50µl/phút với pha kết hợp 2 phút và pha phân ly 5 phút. Việc phục hồi được thực hiện với việc tiêm đơn lẻ 35mM NaOH và 1,3M NaCl ở 100µl/phút tiếp theo pha cân bằng 3 phút trong chất đệm HBS-EP. Việc tiêm qua bề mặt trống rỗng được trừ ra khỏi dữ liệu gắn kết để phân tích. Động học gắn kết được xác định bằng cách sử dụng phần mềm BIAevaluation (GE Healthcare) và mô hình gắn kết Langmuir 1:1 với việc ngoại trừ

PG16 mà được xác định bằng cách sử dụng mô hình phân tích hoá trị hai. Tất cả các mẫu được chạy hai lần và thu được kết quả động học tương tự. CD4 hai miền có thể hòa tan được tạo ra như được mô tả trên đây (Freeman et al. (2010) Structure. 18:1632) và được cung cấp rộng rãi bởi Bing Chen (Children's Hospital Boston). Thử lai 17b được cung cấp bởi James Robinson (Tulane University, New Orleans, LA) và được tinh chế như được mô tả trước đây (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111). VRC01 thu được qua NIH AIDS Reagent Program, Division of AIDS, NIAID, NIH: HIV-1 gp120 mAb (VRC01), từ John Mascola (Wu et al. (2010) Science. 329:856). 3BNC117 được cung cấp bởi Michel Nussenzweig (Rockefeller University, New York, NY). PGT121 và PGT126 được cung cấp rộng rãi bởi Dennis Burton (The Scripps Research Institute, La Jolla, CA). 2F5, 4E10, PG9, PG16 thu được về mặt thương mại (Polymun Scientific). GCN gp41-Inter (Frey et al. (2010) Nat. Struct. Mol. Biol. 17:1486) được sử dụng làm đối chứng dương tính trong các phép phân tích 4E10 và 2F5 SPR được cung cấp bởi Bing Chen (Children's Hospital Boston).

Động vật và gây miễn dịch

Chuột lang giống cái giao phối xa Hartley (Elm Hill) (n=5/nhóm) được nhốt ở phòng nghiên cứu động vật của Beth Israel Deaconess Medical Center theo phương thức Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) được chấp thuận. Chuột lang được gây miễn dịch trong cơ (i.m.) bằng M khảm hoặc protein trime gp140 Env nhánh C (100µg/động vật) ở tuần 0, 4, 8 trong 500µl thể tích tiêm được chia giữa cơ bốn đầu bên phải và bên trái. Các tá chất bổ trợ được dùng đồng thời với protein là hỗn hợp được mô tả trước đây bao gồm 15% (thể tích) Emulsigen dầu trong nước (MVP Laboratories)/PBS và 50µg chất kích thích miễn dịch di-nucleotit typ B oCpG ADN (5'-TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT-3') (Midland Reagent Company) (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111) hoặc nền M được tạo thành chủ yếu từ ISCOM (Isconova, Sweden). Các nhóm động vật nhận hỗn hợp gồm nhánh C và M gp140 khảm là sao cho 50µg mỗi trong số chúng được trộn trong tổng số gồm 100µg được dùng/động vật. Các mẫu huyết thanh thu được từ tĩnh mạch chủ của các động vật gây mê 4 tuần sau mỗi lần gây miễn dịch.

Thử nghiệm gắn kết ELISA

Các độ chuẩn kháng thể gắn kết huyết thanh kháng trime gp140 Env M khảm hoặc nhánh C được xác định bằng các thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym điểm cuối (ELISA) như được mô tả trước đây (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270). Các độ chuẩn điểm cuối ELISA được xác định như sự pha loãng huyết thanh thuận nghịch cao nhất mà thu được sự hấp thụ >2 lần so với các trị số gốc. Để phát hiện MPER epitop trong trime khảm, các đĩa ELISA được bọc bằng 2F5 hoặc 4E10 IgG, kháng thể được bổ sung vào và được phát hiện bằng cách dùng mAb kháng his tag HRP (Abcam). 2F5 và 4E10 thu được về mặt thương mại (Polymun Scientific) và GCN gp41-Inter (Frey et al. (2010) Nat. Struct. Mol. Biol. 17:1486) được sử dụng làm đối chứng dương tính trong 4E10 và 2F5 ELISA được cung cấp bởi Bing Chen (Children's Hospital Boston).

Thử nghiệm làm trung hòa TZM.bl

Việc làm trung hòa các đáp ứng kháng thể kháng pseudovirut Env dãy 1 HIV-1 được đo bằng cách sử dụng các thử nghiệm làm trung hòa virus dựa trên luciferaza với tế bào TZM.bl như được mô tả trước đây (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270; Mascola et al. (2005) J. Virol. 79:10103). Các thử nghiệm này đo việc giảm mức biểu hiện gen thông báo luciferaza trong tế bào TZM-bl theo vòng lây nhiễm virus đơn lẻ. Nồng độ ức chế 50% (IC50) được tính toán như sự pha loãng huyết thanh mà dẫn đến việc giảm 50% trong các đơn vị huỳnh quang tương đối so với giếng đối chứng virus sau khi trừ các đơn vị huỳnh quang tương đối của tế bào đối chứng. Panen dãy 1 virus được phân tích bao gồm virus dãy 1A để làm trung hòa (SF162.LS, MW965.26) và panen kéo dài của virus dãy 1B (DJ263.8, Bal.26, TV1.21, MS208, Q23.17, SS1196.1, 6535.3, ZM109.F, ZM197M). Các đối chứng âm tính virus gây bệnh bạch cầu ở chuột (MuLV) được bao gồm trong tất cả các thử nghiệm này.

Thử nghiệm làm trung hòa A3R5

Các đáp ứng dãy 2 nAb được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm A3R5 như được mô tả trước đây (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111). Tóm lại, việc pha loãng theo dãy các mẫu huyết thanh được thực hiện

trong môi trường sinh trưởng 10% RPMI (100 μ L/giếng) trong đĩa đáy phẳng 96 giếng. IMC HIV-1 biểu hiện Renilla luciferaza (Edmonds et al. (2010) Virology. 408:1) được bổ sung và mỗi giếng với thể tích 50 μ l, và ủ đĩa trong 1 giờ ở 37°C. Tế bào A3R5 sau đó được bổ sung (9×10^4 tế bào/giếng với thể tích 100 μ l) trong môi trường sinh trưởng 10% RPMI chứa diethylaminoethyl-dextran (11 μ g/ml). Các đối chứng thử nghiệm bao gồm các giếng sao chép của tế bào A3R5 đơn lẻ (tế bào đối chứng) và tế bào A3R5 với virut (virut đối chứng). Sau khi ủ trong 4 ngày ở 37°C, 90 μ l môi trường được loại bỏ ra khỏi mỗi giếng thử nghiệm và 75 μ l huyền phù tế bào được chuyển vào đĩa dạng rắn màu trắng 96 giếng. Chất nền ViviRen Renilla luciferaza được pha loãng (Promega) được bổ sung vào mỗi giếng (30 μ l), và sau 4 phút, đọc đĩa trên thiết bị đo ánh sáng Victor 3. Dòng tế bào A3R5 được cung cấp rộng rãi bởi R. McLinden và J. Kim (US Military HIV Research Program, Rockville, MD). Virut dây 2 nhánh B IMCRenilla luciferaza bao gồm SC22.3C2.LucR, SUMA.LucR và REJO.LucR. Virut dây 2 nhánh C IMCRenilla luciferaza bao gồm Du422.1.LucR.T2A.ecto, Ce2010_F5.LucR.T2A.ecto, và e1086_B2.LucR.T2A.ecto và được cung cấp rộng rãi bởi C. Ochsenbauer (University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL). Dịch gốc virut được tạo ra trong tế bào 293T/17 như được mô tả trước đây (Edmonds et al. (2010) Virology. 408:1).

Kết quả

Sự biểu hiện và độ ổn định của trime M gp140 khảm

Các vật truyền ADN pCMV của sinh vật nhân thật biểu hiện HIV-1 mEnv, mEnv2, và mEnv3 được chuyển nhiễm vào trong tế bào 293T và sự biểu hiện và độ ổn định protein được đánh giá sau 48 giờ. Phép phân tích thâm tách Western cho biết kích cỡ dải của kích cỡ thích hợp đối với mEnv gp140 nhưng không cho biết đối với mEnv2 hoặc mEnv3 (Fig.9A), gợi ý rằng mEnv là ổn định hơn và protein nguyên vẹn hơn so với các chất khác. Sắc ký ngoại cỡ (SEC) sử dụng vật liệu được sinh ra từ dòng tế bào 293T ổn định biểu hiện mEnv chứng minh đin phân tán mono tương ứng với kích cỡ được mong đợi đối với trime gp140 và xác nhận tính tương đồng của trime (Fig.9B). Để đánh giá độ ổn định của trime này, 100 μ g protein trải qua chu kỳ lạnh đông-tan giá

hoặc được lưu trữ trong 7 ngày ở 4°C và được đánh giá lại bởi SEC và không thể hiện dấu hiệu về sự kết tụ, phân ly hoặc thoái hoá (Fig.9C).

Tính kháng nguyên của trime M gp140 khảm

Các nghiên cứu cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) được thực hiện để xác định nếu trime mEnv thể hiện CD4 gắn kết và thể hiện epitop then chốt được tạo đích bởi vài nAb rộng rãi. Trime gắn kết CD4 ở ái lực cao 34,7nM, thể hiện rằng vị trí gắn kết CD4 (CD4b) là có mặt và được phơi trần trong mEnv (bảng 2; Fig.10A). Tiếp theo, các tác giả sáng chế đánh giá khả năng linh hoạt về cấu trúc nội tại của trime mEnv bằng cách đo khả năng của nó gắn kết 17b globulin miễn dịch (IgG) với sự có mặt hoặc không có mặt của CD4 gắn kết. 17b nhận biết epitop cảm ứng CD4 (CD4i) được phơi trần bởi CD4 gắn kết và sự hình thành của tấm tạo cầu và vị trí gắn kết đồng thụ thể trong gp120 (Kwong et al. (1998) Nature. 393:648; Chen et al. (2005) Nature. 433:834). Trime mEnv thể hiện việc gắn kết 17b thấp với sự không có mặt của CD4, nhưng có sự gia tăng đáng kể về việc gắn kết này tiếp theo gắn kết CD4 như được mong đợi (Fig.10B).

Bảng 2. Hằng số tốc độ gắn kết thu được từ phép phân tích cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR). Các động học gắn kết được khớp với mô hình gắn kết Langmuir 1:1.

Phối tử giữ cố định	Dòng chất phân tích	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
CD4	M gp140 khảm	$1,52 \times 10^4$	$1,73 \times 10^{-4}$	$1,14 \times 10^{-8}$
17b IgG	M gp140 khảm	$2,42 \times 10^4$	$5,00 \times 10^{-5}$	$2,07 \times 10^{-9}$
VRC01 IgG	M gp140 khảm	$3,84 \times 10^3$	$4,90 \times 10^{-6}$	$1,28 \times 10^{-9}$
3BNC117 IgG	M gp140 khảm	$7,65 \times 10^3$	$1,81 \times 10^{-5}$	$2,12 \times 10^{-9}$
PGT121 IgG	M gp140 khảm	$8,63 \times 10^3$	$2,44 \times 10^{-4}$	$2,82 \times 10^{-8}$
PGT126 IgG	M gp140 khảm	$2,43 \times 10^4$	$1,29 \times 10^{-4}$	$5,39 \times 10^{-9}$
PG9 IgG	M gp140 khảm	$9,61 \times 10^3$	$5,55 \times 10^{-4}$	$5,78 \times 10^{-8}$
	M gp120 khảm	$1,86 \times 10^3$	$2,37 \times 10^{-3}$	$1,28 \times 10^{-6}$

Tiếp theo, các tác giả sáng chế đánh giá khả năng của CD4bs bnAbs VRC01 và 3BNC117 (Wu et al. (2010) Science. 329:856; Scheid et al. (2011) Science. 333:1633) gắn kết với mEnv. VRC01 và 3BNC117 gắn kết trime mEnv với ái lực ở mức cao lần

lượt bằng 1,28nM và 2,12nM, thể hiện rằng các epitop có mặt trong trime mEnv (bảng 2; Fig.10C đến Fig.10D).

Các nghiên cứu gần đây đã nêu bật vai trò nổi bật của glycan liên kết N trong việc nhận biết các epitop được tạo đích bởi vài bnAbs (Pejchal et al. (2011) Science. 334:1097; Walker et al. (2011) Nature. 477:466). Cụ thể là, PGT nhóm bnAbs tương tác với các glycan liên kết N (N332) và vòng biến đổi 3 (V3). PGT121 và PGT126 gắn kết trime với các ái lực ở mức cao lần lượt bằng 28,2nM và 5,39nM (bảng 2; Fig.11A đến Fig.11B), cho biết rằng glycan epitop liên kết N then chốt được nhận biết bởi bnAbs có mặt trên trime.

PG9 và PG16 gắn kết theo cách ưu tiên với các trime Env nguyên vẹn và glycan liên kết N đích và các vòng biến đổi 1 và 2 (V1/V2) và glycan liên kết N trong vùng này (Walker et al. (2009) Science. 326:285; McLellan et al. (2011) Nature. 480:336). mEnv trime gắn kết PG9 với ái lực ở mức cao đáng kể (57,8nM; Fig.11C), trong khi monome gp120 khảm gắn kết với ái lực thấp hơn 22 lần và độ lớn thấp hơn một cách đáng kể (1,280nM) (bảng 2; Fig.11E). Việc gắn kết được quan sát đối với PG9 là có thể so sánh với việc gắn kết được quan sát với BG505 SOSIP.664 gp140 trime tách được glycosyl hoá đầy đủ có thể hòa tan được mô tả gần đây (Julien et al. (2013) Science. 342:1477; Sanders et al. (2013) PLoS Pathog. 9:e1003618). Việc gắn kết PG16 cũng lớn hơn một cách đáng kể với mEnv trime hơn so với monome gp120 tương ứng (bảng 3; Fig.11D, Fig.11F), mặc dù off-rate là nhanh hơn đối với PG16 so với PG9. Các dữ liệu này thể hiện rằng trime mEnv, nhưng không phải monome tương ứng, gắn kết một cách hữu hiệu các bnAb phụ thuộc cấu hình.

Bảng 3. Hằng số tốc độ gắn kết thu được từ phép phân tích cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR). Động học gắn kết được khớp với mô hình phân tích hoá trị hai.

Phối tử được ổn định	Dòng chất phân tích	k_{a1} (1/Ms)	k_{d1} (1/s)	k_{a2} (1/Ms)	k_{d2} (1/s)	K_{D1} (M)	K_{D2} (M)
PG16 IgG	M gp140 khảm	$2,34 \times 10^3$	$7,67 \times 10^{-3}$	$1,31 \times 10^5$	$8,57 \times 10^{-4}$	$3,27 \times 10^{-6}$	$6,54 \times 10^{-9}$
	M gp120 khảm	$7,14 \times 10^3$	$1,79 \times 10^{-2}$	$1,69 \times 10^4$	$8,42 \times 10^{-4}$	$2,56 \times 10^{-6}$	$1,51 \times 10^{-8}$

Cuối cùng, các tác giả sáng chế đã đánh giá 2F5 và 4E10 gắn kết với các epitop vùng ngoài gần màng (MPER). 2F5 và 4E10 bnAbs gắn kết với epitop tuyến tính (Cardoso et al. (2007) J. Mol. Biol. 365:1533; Ofek et al. (2004) J. Virol. 78:10724) và ít nhất epitop 2F5 có mặt trong trình tự mEnv tuyến tính như được xác nhận bằng việc căn thẳng hàng trình tự (Fig.12A) và các phân tích thẩm tách Western (Fig.12B). Tuy nhiên, bằng SPR và ELISA, trime mEnv nguyên vẹn không có khả năng gắn kết 2F5, gợi ý rằng MPER epitop được vùi trong trime (Ofek et al. (2004) J. Virol. 78:10724) và không có khả năng tiếp cận trong trime mEnv gấp ổn định (Fig.12C đến Fig.12D), tương tự với các phát hiện của tác giả sáng chế với trime nhánh C ổn định được mô tả trước đây (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111). Cùng với nhau, các dữ liệu về tính kháng nguyên này cho biết rằng trime mEnv thể hiện nhiều dấu hiệu của trime gấp đúng đắn.

Tính chức năng của trime mEnv

Tiếp theo, các tác giả sáng chế đã đánh giá nếu mEnv protein có chức năng. M gp160 khảm có chiều dài đầy đủ được sử dụng để sinh ra pseudovirion để đánh giá tính lây nhiễm trong tế bào TZM.bl (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270; Mascola et al. (2005) J. Virol. 79:10103; Montefiori (2009) Methods. Mol. Biol. 485:395). Các tác giả sáng chế đã quan sát được rằng, trong khoảng độ chuẩn rộng, mEnv dễ dàng bị nhiễm tế bào đích TZM.bl biểu hiện quá mức CD4 và đồng thụ thể CCR5/CXCR4 (Fig.13). Các dữ liệu này cho biết rằng mEnv tổng hợp có khả năng chức năng để lây nhiễm tế bào đích TZM.bl.

Tính gây miễn dịch của trime mEnv

Chuột lang (n=5/nhóm) được gây miễn dịch ba lần ở khoảng thời gian hàng tháng bằng 100µg trime mEnv, 100µg trime gp140 nhánh C được báo cáo trước đây (sau đây được dùng để chỉ như “cEnv”; Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270) hoặc hỗn hợp gồm 50µg trime với nền M được tạo thành chủ yếu từ ISCOM hoặc chất bổ trợ Emulsigen/CpG (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Ioannou et al. (2002) J. Virol. 76:9002). Các kháng thể gắn kết độ chuẩn ở mức cao bởi ELISA được gây ra bởi tất cả các chế độ dùng vacxin với các động học có thể so sánh (Fig.14A đến

Fig.14B). Các đáp ứng này có thể phát hiện sau khi gây miễn dịch đơn lẻ và gia tăng sau lần gây miễn dịch thứ hai và thứ ba. Các độ chuẩn gây miễn dịch đỉnh nằm trong khoảng từ 5,0 đến 7,0 log. Các độ chuẩn kháng thể gắn kết được gây ra bởi các trime cEnv và mEnv là cao hơn kháng lại các kháng nguyên tương đồng tương ứng của chúng ($P < 0,05$), trong khi hỗn hợp mEnv và cEnv hoá trị hai cảm ứng các đáp ứng có thể so sánh với cả hai kháng nguyên (Fig.14A đến Fig.14B).

Tiếp theo, các tác giả sáng chế đã đánh giá các đáp ứng nAb được gây ra ở các động vật này trước khi dùng vaccin và các mẫu huyết thanh sau khi dùng vaccin lần thứ ba bằng cách sử dụng thử nghiệm TZM.bl nAb (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270; Mascola et al. (2005) J. Virol. 79:10103; Montefiori (2009) Methods. Mol. Biol. 485:395). Tác giả sáng chế bao gồm cả panen nhiều nhánh của dãy 1 psuedovirut bao gồm virut dãy 1A để làm trung hòa (SF162.LS, MW965.26) và panen kéo dài của virut dãy 1B trung gian (DJ263.8, Bal.26, TV1.21, MS208, Q23.17, SS1196.1, 6535.3, ZM109.F, ZM197M). Các độ chuẩn trước khi dùng vaccin cơ sở được quan sát là âm tính để giảm (< 20). mEnv được dùng trong chất bổ trợ nền M được quan sát để cảm ứng TZM.bl nAb độ chuẩn ở mức cao kháng virut dãy 1A (SF162.LS, MW965.26) và vài dãy 1B (DJ263.8, Bal.26, SS1196.1) (Fig.15A đến Fig.15B). Khi so với cEnv được dùng trong cùng chất bổ trợ, mEnv gây ra độ chuẩn độ lớn cao hơn nAb kháng virut dãy 1B nhánh B Bal.26 và SS1196.1 ($P < 0,05$; thử nghiệm t không cặp đôi) (Fig.15A đến Fig.15B). Trái lại, cEnv gây ra đáp ứng cao hơn so với mEnv kháng virut nhánh A và nhánh C (MW965.26, DJ263.8, TV1.21, MS208.1, Q23.17 và ZM109F; $P < 0,05$, thử nghiệm t không cặp đôi) (Fig.15A đến Fig.15B).

Quan trọng là, các đáp ứng nAb được gây ra bởi hỗn hợp mEnv và cEnv hoá trị hai xuất hiện cộng hợp (Fig.15A). Các dữ liệu này cho biết rằng tổ hợp gây ra chiều rộng tăng hơn so với mEnv hoặc cEnv đơn lẻ và các đáp ứng nAb với mỗi thể phân lập được cảm ứng bởi tổ hợp thường là có thể so sánh là cao hơn của hai trime riêng rẽ (Fig.15A đến Fig.15B). Các dữ liệu này cho biết rằng hỗn hợp mEnv và cEnv tạo ra lợi ích miễn dịch so với trime đơn lẻ. Các kết quả so sánh được quan sát ở chuột lang nhận mEnv, cEnv, hoặc hỗn hợp mEnv và cEnv hoá trị hai trong chất bổ trợ CpG/Emulsigen (Fig.15C đến Fig.15D). Nói chung, các dữ liệu này cho biết rằng các trime mEnv và

cEnv là phần bù và có thể được tổ hợp một cách hữu hiệu như hỗn hợp mà là tốt hơn so với trime đơn lẻ khi xét đến việc bao phủ nAb.

Các nghiên cứu trước với cEnv chứng minh các đáp ứng dây 2 nAb ở mức rời rạc và thấp bằng thử nghiệm TZM.bl (Kovacs et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109:12111; Nkolola et al. (2010) J. Virol. 84:3270). Do đó, tác giả sáng chế lựa chọn để dùng thử nghiệm A3R5 nhạy hơn để so sánh hoạt tính dây 2 nAb trong các nhóm động vật này. cEnv và mEnv cảm ứng dây 2 nAbs có thể phát hiện kháng virus nhánh C (Ce1086_B2, Ce2010, Du422) (Fig.16A) và virus nhánh B (SUMA, SC22.3C2) (Fig.16B). Hỗn hợp mEnv và cEnv hoá trị hai gây ra các đáp ứng mà thường có thể so sánh là tốt hơn của hai trime riêng rẽ (Fig.16A đến Fig.16B). Ngoài ra, hoạt tính dây 2 nAb thấp được phát hiện kháng virus nhánh B REJO.LucR với chế độ tổ hợp nhưng không kháng trime đơn lẻ (* $P < 0,05$; thử nghiệm Mann Whitney) (Fig.16B). Các dữ liệu này chứng minh rằng hỗn hợp gồm các trime mEnv và cEnv bù về tính miễn dịch là tốt hơn so với trime đơn lẻ.

Tác giả sáng chế còn phát triển phiên bản tối ưu của mEnv polypeptit, được dùng trong bản mô tả này để chỉ “phiên bản 2 1 Env gp140 khảm” hoặc “mEnv+.” Như được thể hiện trên Fig.2, mEnv+ (đường 4) được biểu hiện ở mức cao hơn so với cEnv (đường 1) hoặc mEnv (đường 2). mEnv+ cũng chứng minh độ tinh khiết và độ ổn định mạnh, như được thể hiện bởi sắc ký loại trừ theo kích thước (Fig.17A đến Fig.17B) và bởi profin SDS-PAGE (Fig.17C). Tính gây miễn dịch của mEnv+ là có thể so sánh với tính gây miễn dịch của mEnv, mà không xét đến chất bổ trợ được sử dụng (Fig.18A đến Fig.18B). Các thử nghiệm trung hòa còn chứng minh tính gây miễn dịch có thể so sánh được của mEnv+ so với mEnv (Fig.19).

Các phương án khác

Mục dù sáng chế đã được mô tả trong các phương án cụ thể của nó, cần hiểu rằng có khả năng có các cải biến khác và đơn sáng chế này được dự định bao gồm các biến thể bất kỳ, ứng dụng hoặc sự thích ứng bất kỳ của sáng chế, nói chung, tuân theo các nguyên lý của sáng chế và bao gồm các xuất phát từ bản mô tả này mà nằm trong thực tiễn đã biết hoặc thông thường nằm trong lĩnh vực mà sáng chế đề cập đến và có thể được áp dụng cho các dấu hiệu cơ bản được mô tả trên đây.

Đơn yêu cầu cấp patent tạm thời của Mỹ số 61/749,737 được viện dẫn trong bản mô tả này để tham khảo. Tất cả các tài liệu công bố và đơn yêu cầu cấp patent được đưa ra trong bản mô tả này để tham khảo đến cùng phạm vi như nếu mỗi công bố hoặc đơn yêu cầu cấp patent độc lập được chỉ định một cách cụ thể và theo cách riêng rẽ được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Trime ổn định bao gồm ba polypeptit gp140, trong đó mỗi polypeptit gp140 này bao gồm trình tự axit amin chứa các axit amin 30-724 của SEQ ID NO: 2.
2. Chế phẩm chứa trime ổn định theo điểm 1.
3. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó chế phẩm này còn chứa một hoặc nhiều trime ổn định khác.
4. Chế phẩm theo điểm 3, trong đó một hoặc nhiều trime ổn định khác này bao gồm ba polypeptit gp140 và trong đó mỗi polypeptit gp140 này bao gồm trình tự axit amin có trình tự giống ít nhất 95% với trình tự SEQ ID NO: 3 hoặc chứa trình tự SEQ ID NO: 3.
5. Chế phẩm theo điểm 4, trong đó một hoặc nhiều trime ổn định khác này bao gồm ba polypeptit gp140 và trong đó mỗi polypeptit gp140 này bao gồm trình tự axit amin chứa các axit amin 30-708 của trình tự SEQ ID NO: 3.
6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 5, trong đó chế phẩm này còn bao gồm chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng được dụng.
7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm 2 hoặc 6, trong đó dược phẩm này còn bao gồm chất bổ trợ.
8. Vacxin bao gồm chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 7.
9. Phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit mã hoá ít nhất một polypeptit gp140, trong đó polypeptit gp140 này bao gồm trình tự axit amin chứa các axit amin 30-724 của SEQ ID NO: 2.
10. Phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit mã hoá ít nhất một polypeptit gp140, trong đó polypeptit gp140 này bao gồm trình tự axit amin chứa SEQ ID NO: 2.
11. Vật truyền bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 9 hoặc 10.
12. Chế phẩm để điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm HIV ở đối tượng cần điều trị, trong đó chế phẩm này chứa lượng hữu hiệu vacxin theo điểm 8.
13. Chế phẩm để làm giảm hoạt tính qua trung gian HIV ở đối tượng bị lây nhiễm HIV, trong đó chế phẩm này chứa lượng hữu hiệu vacxin theo điểm 8.
14. Chế phẩm theo điểm 12 hoặc 13, trong đó vacxin này được bào chế để sử dụng ở dạng liều tăng cường sau khi dùng vacxin thứ nhất chứa ít nhất vật truyền thứ nhất chứa phân tử

axit nucleic thứ nhất mã hóa polypeptit có trình tự axit amin giống ít nhất 90% với SEQ ID NO: 6 và tùy ý chứa vật truyền thứ hai chứa phân tử axit nucleic thứ hai mã hóa polypeptit có trình tự axit amin giống ít nhất 90% với SEQ ID NO: 7.

15. Phương pháp sản xuất vacxin để điều trị hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm HIV ở đối tượng cần điều trị hoặc làm giảm này, phương pháp này bao gồm các bước:

- (a) cho tế bào tiếp xúc với vật truyền theo điểm 11 *in vitro* hoặc *ex vivo*; và
- (b) biểu hiện ít nhất một polypeptit gp140 để tạo thành trime ổn định trong tế bào này.

16. Phương pháp theo điểm 15, trong đó tế bào là tế bào của động vật có vú.

17. Phương pháp sản xuất tái tổ hợp trime polypeptit gp140 ổn định, phương pháp này bao gồm các bước:

- (a) biểu hiện phân tử axit nucleic gồm trình tự nucleotit mã hóa polypeptit gp140 ở tế bào đã nêu *in vitro* hoặc *ex vivo* ở tế bào của sinh vật có nhân điển hình, trong đó polypeptit gp140 này chứa trình tự axit amin bao gồm SEQ ID NO: 2; và
- (b) phân lập trime polypeptit gp140 ổn định đã nêu.

18. Phương pháp theo điểm 17, phương pháp này còn bao gồm bước tạo ra chế phẩm sinh miễn dịch để gây ra đáp ứng kháng thể chống lại HIV ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này còn bao gồm bước:

- (c) phối chế trime polypeptit gp140 ổn định đã được phân lập với chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng được dụng để tạo thành chế phẩm sinh miễn dịch.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER, INC.

<120> TRIME ỔN ĐỊNH, CHẾ PHẨM CHỨA TRIME NÀY, VACCIN CHỨA CHẾ PHẨM NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VACCIN

<130> 01948-223WO2

<150> 61/749,737

<151> 2013-01-07

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 712

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (mEnv)

<400> 1

Met	Arg	Val	Thr	Gly	Ile	Arg	Lys	Asn	Tyr	Gln	His	Leu	Trp	Arg	Trp
1				5					10					15	

Gly	Thr	Met	Leu	Leu	Gly	Ile	Leu	Met	Ile	Cys	Ser	Ala	Ala	Gly	Lys
			20					25						30	

Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Glu	Ala	Thr
		35					40					45			

Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Asp	Thr	Glu	Val
		50					55				60				

His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro
65					70					75				80	

Gln	Glu	Val	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys
				85					90					95	

Asn	Asn	Met	Val	Glu	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	Leu	Trp	Asp
			100					105					110		

100	105	110
Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu		
115	120	125
Asn Cys Thr Asp Asp Val Arg Asn Val Thr Asn Asn Ala Thr Asn Thr		
130	135	140
Asn Ser Ser Trp Gly Glu Pro Met Glu Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys		
145	150	155
Ser Phe Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asn Lys Val Gln Lys Gln Tyr		
	165	170
Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asn Asp Ser Asn		
	180	185
Asn Thr Asn Tyr Arg Leu Ile Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln		
	195	200
Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala		
	210	215
Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asp Lys Lys Phe Asn Gly		
225	230	235
Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile		
	245	250
Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu		
	260	265
Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Glu Asn Phe Thr Asn Asn Ala Lys Thr		
	275	280
Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro		
	290	295
Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe		
		300

305					310					315					320
Tyr	Thr	Ala	Gly	Asp	Ile	Ile	Gly	Asp	Ile	Arg	Gln	Ala	His	Cys	Asn
				325					330					335	
Ile	Ser	Arg	Ala	Asn	Trp	Asn	Asn	Thr	Leu	Arg	Gln	Ile	Val	Glu	Lys
			340					345					350		
Leu	Gly	Lys	Gln	Phe	Gly	Asn	Asn	Lys	Thr	Ile	Val	Phe	Asn	His	Ser
		355					360					365			
Ser	Gly	Gly	Asp	Pro	Glu	Ile	Val	Met	His	Ser	Phe	Asn	Cys	Gly	Gly
	370					375					380				
Glu	Phe	Phe	Tyr	Cys	Asn	Ser	Thr	Lys	Leu	Phe	Asn	Ser	Thr	Trp	Thr
385					390					395					400
Trp	Asn	Asn	Ser	Thr	Trp	Asn	Asn	Thr	Lys	Arg	Ser	Asn	Asp	Thr	Glu
				405					410					415	
Glu	His	Ile	Thr	Leu	Pro	Cys	Arg	Ile	Lys	Gln	Ile	Ile	Asn	Met	Trp
			420					425					430		
Gln	Glu	Val	Gly	Lys	Ala	Met	Tyr	Ala	Pro	Pro	Ile	Arg	Gly	Gln	Ile
		435					440					445			
Arg	Cys	Ser	Ser	Asn	Ile	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Thr	Arg	Asp	Gly	Gly
	450					455					460				
Asn	Asp	Thr	Ser	Gly	Thr	Glu	Ile	Phe	Arg	Pro	Gly	Gly	Gly	Asp	Met
465					470					475					480
Arg	Asp	Asn	Trp	Arg	Ser	Glu	Leu	Tyr	Lys	Tyr	Lys	Val	Val	Lys	Ile
				485					490					495	
Glu	Pro	Leu	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Lys	Ala	Lys	Arg	Arg	Val	Val	Gln
			500					505					510		
Ser	Glu	Lys	Ser	Ala	Val	Gly	Ile	Gly	Ala	Val	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu

515		520		525
Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val				
530		535		540
Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu				
545		550		555
				560
Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp				
	565		570	575
Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu				
	580		585	590
Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile				
	595		600	605
Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu				
	610		615	620
Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile				
625		630		635
				640
Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn				
	645		650	655
Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala				
	660		665	670
Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Gly Tyr Ile				
	675		680	685
Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu				
	690		695	700
Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu				
705		710		

<210> 2

<211> 724

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (mEnv+)

<400> 2

Met	Arg	Val	Arg	Gly	Ile	Gln	Arg	Asn	Cys	Gln	His	Leu	Trp	Arg	Trp
1				5					10					15	

Gly	Thr	Leu	Ile	Leu	Gly	Met	Leu	Met	Ile	Cys	Ser	Ala	Ala	Gly	Lys
			20					25					30		

Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Glu	Ala	Thr
		35					40					45			

Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Asp	Thr	Glu	Val
	50					55					60				

His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro
65					70					75				80	

Gln	Glu	Val	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys
				85					90					95	

Asn	Asn	Met	Val	Glu	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	Leu	Trp	Asp
			100					105					110		

Gln	Ser	Leu	Lys	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu
		115					120					125			

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

Asn	Ser	Ser	Trp	Gly	Glu	Pro	Met	Glu	Lys	Gly	Glu	Ile	Lys	Asn	Cys
145					150					155					160

Ser	Phe	Asn	Ile	Thr	Thr	Ser	Ile	Arg	Asn	Lys	Val	Gln	Lys	Gln	Tyr
				165					170					175	

Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asn Asp Ser Asn
 180 185 190

Asn Thr Asn Tyr Arg Leu Ile Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln
 195 200 205

Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala
 210 215 220

Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asp Lys Lys Phe Asn Gly
 225 230 235 240

Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile
 245 250 255

Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu
 260 265 270

Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Glu Asn Phe Thr Asn Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro
 290 295 300

Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe
 305 310 315 320

Tyr Thr Ala Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn
 325 330 335

Ile Ser Arg Ala Asn Trp Asn Asn Thr Leu Arg Gln Ile Val Glu Lys
 340 345 350

Leu Gly Lys Gln Phe Gly Asn Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn His Ser
 355 360 365

Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Gly Gly
 370 375 380

Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Ser Thr Lys Leu Phe Asn Ser Thr Trp Thr
385 390 395 400

Trp Asn Asn Ser Thr Trp Asn Asn Thr Lys Arg Ser Asn Asp Thr Glu
405 410 415

Glu His Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp
420 425 430

Gln Glu Val Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Arg Gly Gln Ile
435 440 445

Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly
450 455 460

Asn Asp Thr Ser Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met
465 470 475 480

Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile
485 490 495

Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Lys Ala Lys Glu Arg Val Val Gln
500 505 510

Arg Glu Glu Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu
515 520 525

Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val
530 535 540

Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu
545 550 555 560

Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp
565 570 575

Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu
580 585 590

Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile
 595 600 605

Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu
 610 615 620

Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile
 625 630 635 640

Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn
 645 650 655

Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala
 660 665 670

Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys
 675 680 685

Ser Arg Ile Glu Gly Arg Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro
 690 695 700

Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu
 705 710 715 720

Ser Thr Phe Leu

<210> 3
 <211> 708
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp (cEnv)

<400> 3

Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Cys Gln His Leu Trp Arg Trp
 1 5 10 15

Gly Thr Leu Ile Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Glu Asn

20	25	30
Leu Trp Val Gly Asn Met Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val		
35	40	45
Trp Thr Asp Ala Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Thr Lys Ala		
50	55	60
Tyr Asp Arg Glu Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro		
65	70	75
Thr Asp Pro Asn Pro Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn		
	85	90
Phe Asn Met Trp Lys Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile		
	100	105
Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro		
	115	120
Leu Cys Val Thr Leu His Cys Thr Asn Ala Thr Phe Lys Asn Asn Val		
	130	135
Thr Asn Asp Met Asn Lys Glu Ile Arg Asn Cys Ser Phe Asn Thr Thr		
145	150	155
Thr Glu Ile Arg Asp Lys Lys Gln Gln Gly Tyr Ala Leu Phe Tyr Arg		
	165	170
Pro Asp Ile Val Leu Leu Lys Glu Asn Arg Asn Asn Ser Asn Asn Ser		
	180	185
Glu Tyr Ile Leu Ile Asn Cys Asn Ala Ser Thr Ile Thr Gln Ala Cys		
	195	200
Pro Lys Val Asn Phe Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala		
	210	215
Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Ser Gly Lys Gly		

225					230					235				240	
Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys	Thr	His	Gly	Ile	Lys	Pro
				245					250					255	
Val	Val	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Gly	Ser	Leu	Ala	Glu	Lys	Glu
			260					265					270		
Ile	Ile	Ile	Arg	Ser	Glu	Asn	Leu	Thr	Asp	Asn	Val	Lys	Thr	Ile	Ile
		275					280					285			
Val	His	Leu	Asn	Lys	Ser	Val	Glu	Ile	Val	Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn
	290					295					300				
Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Met	Arg	Ile	Gly	Pro	Gly	Gln	Thr	Phe	Tyr	Ala
305					310					315					320
Thr	Gly	Asp	Ile	Ile	Gly	Asp	Ile	Arg	Gln	Ala	Tyr	Cys	Asn	Ile	Ser
			325						330					335	
Gly	Ser	Lys	Trp	Asn	Glu	Thr	Leu	Lys	Arg	Val	Lys	Glu	Lys	Leu	Gln
			340					345					350		
Glu	Asn	Tyr	Asn	Asn	Asn	Lys	Thr	Ile	Lys	Phe	Ala	Pro	Ser	Ser	Gly
	355						360					365			
Gly	Asp	Leu	Glu	Ile	Thr	Thr	His	Ser	Phe	Asn	Cys	Arg	Gly	Glu	Phe
	370					375					380				
Phe	Tyr	Cys	Asn	Thr	Thr	Arg	Leu	Phe	Asn	Asn	Asn	Ala	Thr	Glu	Asp
385					390				395						400
Glu	Thr	Ile	Thr	Leu	Pro	Cys	Arg	Ile	Lys	Gln	Ile	Ile	Asn	Met	Trp
				405					410					415	
Gln	Gly	Val	Gly	Arg	Ala	Met	Tyr	Ala	Pro	Pro	Ile	Ala	Gly	Asn	Ile
			420					425					430		
Thr	Cys	Lys	Ser	Asn	Ile	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Val	Arg	Asp	Gly	Gly

435		440		445
Glu Asp Asn Lys Thr Glu Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asn Met				
450		455		460
Lys Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Ile Glu Leu				
465		470		475 480
Lys Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Gly Ala Lys Glu Arg Val Val Glu				
	485		490	495
Arg Glu Glu Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu				
	500		505	510
Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Leu Thr Leu Thr Val				
	515		520	525
Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Ser Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu				
	530		535	540
Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp				
	545		550	555 560
Gly Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu				
	565		570	575
Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile				
	580		585	590
Cys Thr Thr Asn Val Pro Trp Asn Ser Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln				
	595		600	605
Thr Asp Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile				
	610		615	620
Ser Asn Tyr Thr Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Asp Ser Gln Thr				
	625		630	635 640
Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys				

645								650				655			
Asn	Leu	Trp	Ser	Trp	Phe	Asp	Ile	Ser	Asn	Trp	Leu	Trp	Tyr	Ile	Lys
			660					665				670			
Ser	Arg	Ile	Glu	Gly	Arg	Gly	Ser	Gly	Gly	Tyr	Ile	Pro	Glu	Ala	Pro
			675					680				685			
Arg	Asp	Gly	Gln	Ala	Tyr	Val	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu	Trp	Val	Leu	Leu
			690					695				700			
Ser	Thr	Phe	Leu												
705															

```
<210>      4
<211>      684
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo

<220>
<223>      Cấu trúc tổng hợp (mEnv2)

<400>      4
```

Met	Arg	Val	Arg	Gly	Ile	Gln	Arg	Asn	Trp	Pro	Gln	Trp	Trp	Ile	Trp
1				5					10					15	
Gly	Ile	Leu	Gly	Phe	Trp	Met	Ile	Ile	Ile	Cys	Arg	Val	Met	Gly	Asn
			20					25					30		
Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Glu	Ala	Lys
		35					40					45			
Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Glu	Lys	Glu	Val
	50					55					60				
His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro
65					70					75					80
Gln	Glu	Met	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys
				85					90					95	

Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg Leu Trp Asp
 100 105 110

Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
 115 120 125

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

Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala
 145 150 155 160

Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr
 165 170 175

Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser
 180 185 190

Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser
 195 200 205

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

His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
 225 230 235 240

Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
 245 250 255

Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
 260 265 270

Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr
 290 295 300

Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro
305 310 315 320

Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
325 330 335

Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly
340 345 350

Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Asn Phe
355 360 365

Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn
370 375 380

Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly
385 390 395 400

Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr
405 410 415

Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly
420 425 430

Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser
435 440 445

Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly
450 455 460

Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg
465 470 475 480

Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys
485 490 495

Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Ser
500 505 510

Glu Lys Ser Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly
515 520 525

Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln
530 535 540

Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu
545 550 555 560

Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly
565 570 575

Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln
580 585 590

Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys
595 600 605

Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr
610 615 620

Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly
625 630 635 640

Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln
645 650 655

Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn
660 665 670

Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp
675 680

<210> 5

<211> 678

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (mEnv3)

<400> 5

Met Arg Val Lys Gly Ile Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Lys Trp
1 5 10 15

Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Glu Gln
20 25 30

Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Arg Asp Ala Glu
35 40 45

Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Arg Glu Val
50 55 60

His Asn Ile Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
65 70 75 80

Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Glu Phe Asn Met Trp Lys
85 90 95

Asn Asp Met Val Glu Gln Met His Thr Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp
100 105 110

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

Asn Cys Thr Asn Ala Asn Leu Asn Cys Thr Asn Asp Asn Cys Asn Arg
130 135 140

Thr Val Asp Lys Met Arg Glu Glu Ile Lys Asn Cys Ser Phe Asn Met
145 150 155 160

Thr Thr Glu Leu Arg Asp Lys Lys Gln Lys Val Tyr Ala Leu Phe Tyr
165 170 175

Lys Leu Asp Ile Val Pro Ile Glu Lys Asn Ser Ser Glu Tyr Arg Leu
180 185 190

Ile Asn Cys Asn Thr Ser Thr Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Thr

195	200	205
Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Thr Pro Ala Gly Phe Ala Ile		
210	215	220
Leu Lys Cys Lys Asp Lys Lys Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Lys Asn		
225	230	235 240
Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Ile Ser Thr		
	245	250 255
Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Gly Glu Ile Ile Ile Arg		
	260	265 270
Ser Glu Asn Ile Thr Asn Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val Gln Leu Asn		
	275	280 285
Glu Ser Val Val Ile Asn Cys Thr Arg Pro Gly Asn Asn Thr Arg Lys		
	290	295 300
Ser Val Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Glu Ile		
305	310	315 320
Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala Tyr Cys Asn Ile Ser Arg Ala Lys Trp		
	325	330 335
Asn Asn Thr Leu Lys Gln Ile Val Thr Lys Leu Lys Glu Gln Phe Lys		
	340	345 350
Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn Gln Ser Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile		
	355	360 365
Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Gly Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr		
	370	375 380
Thr Gln Leu Phe Asn Ser Thr Trp Asn Ser Asn Ser Thr Trp Asn Asp		
385	390	395 400
Thr Thr Gly Ser Val Thr Glu Gly Asn Asp Thr Ile Thr Leu Pro Cys		

				405					410						415
Arg	Ile	Lys	Gln	Ile	Val	Asn	Met	Trp	Gln	Arg	Val	Gly	Gln	Ala	Met
			420					425					430		
Tyr	Ala	Pro	Pro	Ile	Glu	Gly	Asn	Ile	Thr	Cys	Lys	Ser	Asn	Ile	Thr
		435					440					445			
Gly	Leu	Leu	Leu	Val	Arg	Asp	Gly	Gly	Asn	Ile	Asn	Arg	Thr	Asn	Glu
	450					455					460				
Thr	Phe	Arg	Pro	Gly	Gly	Gly	Asn	Met	Lys	Asp	Asn	Trp	Arg	Ser	Glu
465					470					475					480
Leu	Tyr	Lys	Tyr	Lys	Val	Val	Glu	Ile	Lys	Pro	Leu	Gly	Val	Ala	Pro
				485					490					495	
Thr	Arg	Ala	Lys	Arg	Arg	Val	Val	Glu	Ser	Glu	Lys	Ser	Ala	Val	Gly
			500					505					510		
Leu	Gly	Ala	Val	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu	Gly	Thr	Ala	Gly	Ser	Thr	Met
		515					520					525			
Gly	Ala	Ala	Ser	Leu	Thr	Leu	Thr	Val	Gln	Ala	Arg	Gln	Val	Leu	Ser
	530					535					540				
Gly	Ile	Val	Gln	Gln	Gln	Ser	Asn	Leu	Leu	Lys	Ala	Ile	Glu	Ala	Gln
545					550					555					560
Gln	His	Leu	Leu	Lys	Leu	Thr	Val	Trp	Gly	Ile	Lys	Gln	Leu	Gln	Ala
				565					570					575	
Arg	Ile	Leu	Ala	Val	Glu	Arg	Tyr	Leu	Arg	Asp	Gln	Gln	Leu	Leu	Gly
			580					585					590		
Ile	Trp	Gly	Cys	Ser	Gly	Lys	Leu	Ile	Cys	Thr	Thr	Asn	Val	Pro	Trp
		595					600					605			
Asn	Ser	Ser	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Gln	Glu	Glu	Ile	Trp	Asn	Asn	Met

610 615 620
 Thr Trp Met Gln Trp Asp Arg Glu Ile Ser Asn Tyr Thr Asp Thr Ile
 625 630 635 640
 Tyr Arg Leu Leu Glu Asp Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln
 645 650 655
 Asp Leu Leu Ala Leu Asp Lys Trp Ala Ser Leu Trp Asn Trp Phe Ser
 660 665 670
 Ile Thr Asn Trp Leu Trp
 675
 <210> 6
 <211> 685
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp (gp140 Env1 khảm)
 <400> 6
 Met Arg Val Thr Gly Ile Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp
 1 5 10 15
 Gly Thr Met Leu Leu Gly Ile Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Gly Lys
 20 25 30
 Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Thr
 35 40 45
 Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu Val
 50 55 60
 His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
 65 70 75 80
 Gln Glu Val Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
 85 90 95

Asn Asn Met Val Glu Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp
 100 105 110

Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
 115 120 125

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

Asn Ser Ser Trp Gly Glu Pro Met Glu Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys
 145 150 155 160

Ser Phe Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asn Lys Val Gln Lys Gln Tyr
 165 170 175

Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asn Asp Ser Asn
 180 185 190

Asn Thr Asn Tyr Arg Leu Ile Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln
 195 200 205

Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala
 210 215 220

Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asp Lys Lys Phe Asn Gly
 225 230 235 240

Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile
 245 250 255

Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu
 260 265 270

Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Glu Asn Phe Thr Asn Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro
 290 295 300

Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe
305 310 315 320

Tyr Thr Ala Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn
325 330 335

Ile Ser Arg Ala Asn Trp Asn Asn Thr Leu Arg Gln Ile Val Glu Lys
340 345 350

Leu Gly Lys Gln Phe Gly Asn Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn His Ser
355 360 365

Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Gly Gly
370 375 380

Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Ser Thr Lys Leu Phe Asn Ser Thr Trp Thr
385 390 395 400

Trp Asn Asn Ser Thr Trp Asn Asn Thr Lys Arg Ser Asn Asp Thr Glu
405 410 415

Glu His Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp
420 425 430

Gln Glu Val Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Arg Gly Gln Ile
435 440 445

Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly
450 455 460

Asn Asp Thr Ser Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met
465 470 475 480

Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile
485 490 495

Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln
500 505 510

Ser Glu Lys Ser Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu
515 520 525

Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val
530 535 540

Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu
545 550 555 560

Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp
565 570 575

Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu
580 585 590

Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile
595 600 605

Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu
610 615 620

Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile
625 630 635 640

Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn
645 650 655

Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala
660 665 670

Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp
675 680 685

<210> 7
<211> 1350
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (gagpol1 v3 khảm)

<400> 7

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
 1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
 20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
 35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
 50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
 65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
 85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
 100 105 110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val
 115 120 125

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
 130 135 140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
 145 150 155 160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
 165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
 180 185 190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu

195	200	205
Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala		
210	215	220
Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr		
225	230	235 240
Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile		
	245	250 255
Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys		
	260	265 270
Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly		
	275	280 285
Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu		
	290	295 300
Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr		
305	310	315 320
Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala		
	325	330 335
Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly		
	340	345 350
Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser		
	355	360 365
Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg		
	370	375 380
Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His		
385	390	395 400
Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys		

				405						410					415
Gly	Lys	Glu	Gly	His	Gln	Met	Lys	Asp	Cys	Thr	Glu	Arg	Gln	Ala	Asn
			420					425					430		
Phe	Leu	Gly	Lys	Ile	Trp	Pro	Ser	Asn	Lys	Gly	Arg	Pro	Gly	Asn	Phe
		435					440					445			
Leu	Gln	Asn	Arg	Pro	Glu	Pro	Thr	Ala	Pro	Pro	Glu	Glu	Ser	Phe	Arg
		450				455					460				
Phe	Gly	Glu	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Gln	Lys	Gln	Glu	Pro	Ile	Asp
465					470					475					480
Lys	Glu	Met	Tyr	Pro	Leu	Ala	Ser	Leu	Lys	Ser	Leu	Phe	Gly	Asn	Asp
				485					490					495	
Pro	Ser	Ser	Gln	Met	Ala	Pro	Ile	Ser	Pro	Ile	Glu	Thr	Val	Pro	Val
			500					505					510		
Lys	Leu	Lys	Pro	Gly	Met	Asp	Gly	Pro	Arg	Val	Lys	Gln	Trp	Pro	Leu
		515					520					525			
Thr	Glu	Glu	Lys	Ile	Lys	Ala	Leu	Thr	Ala	Ile	Cys	Glu	Glu	Met	Glu
	530					535					540				
Lys	Glu	Gly	Lys	Ile	Thr	Lys	Ile	Gly	Pro	Glu	Asn	Pro	Tyr	Asn	Thr
545					550					555					560
Pro	Val	Phe	Ala	Ile	Lys	Lys	Lys	Asp	Ser	Thr	Lys	Trp	Arg	Lys	Leu
				565					570					575	
Val	Asp	Phe	Arg	Glu	Leu	Asn	Lys	Arg	Thr	Gln	Asp	Phe	Trp	Glu	Val
			580					585					590		
Gln	Leu	Gly	Ile	Pro	His	Pro	Ala	Gly	Leu	Lys	Lys	Lys	Lys	Ser	Val
		595					600					605			
Thr	Val	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Ala	Tyr	Phe	Ser	Val	Pro	Leu	Asp	Glu

610		615		620
Gly Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu				
625		630		635 640
Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys				
	645		650	655
Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro				
	660		665	670
Phe Arg Ala Lys Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala				
	675		680	685
Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile				
	690		695	700
Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp				
705		710		715 720
Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu				
	725		730	735
His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp				
	740		745	750
Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp				
	755		760	765
Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu				
	770		775	780
Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu				
785		790		795 800
Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val				
	805		810	815
His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln				

820	825	830
Lys Gln Gly His Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe		
835	840	845
Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr		
850	855	860
Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met Glu		
865	870	875 880
Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln		
	885	890 895
Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp		
	900	905 910
Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp		
	915	920 925
Tyr Gln Leu Glu Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val		
	930	935 940
Ala Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val		
	945	950 955 960
Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn		
	965	970 975
Gln Lys Thr Ala Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly		
	980	985 990
Ser Glu Val Asn Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile		
	995	1000 1005
Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile		
	1010	1015 1020
Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val		

1025		1030		1035
Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu				
1040		1045		1050
Val Ser Ser Gly Ile Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp				
1055		1060		1065
Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala				
1070		1075		1080
Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile				
1085		1090		1095
Val Ala Ser Cys Asp Gln Cys Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His				
1100		1105		1110
Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln Leu Ala Cys Thr				
1115		1120		1125
His Leu Glu Gly Lys Ile Ile Leu Val Ala Val His Val Ala Ser				
1130		1135		1140
Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu				
1145		1150		1155
Thr Ala Tyr Phe Ile Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val Lys				
1160		1165		1170
Val Ile His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Ala Val				
1175		1180		1185
Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Gln Gln Glu Phe Gly Ile				
1190		1195		1200
Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Met Asn Lys				
1205		1210		1215
Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His				

1220		1225		1230
Leu Lys Thr Ala Val Gln Met	Ala Val Phe Ile His	Asn Phe Lys		
1235	1240	1245		
Arg Lys Gly Gly Ile Gly Gly	Tyr Ser Ala Gly Glu	Arg Ile Ile		
1250	1255	1260		
Asp Ile Ile Ala Thr Asp Ile	Gln Thr Lys Glu Leu	Gln Lys Gln		
1265	1270	1275		
Ile Ile Lys Ile Gln Asn Phe	Arg Val Tyr Tyr Arg	Asp Ser Arg		
1280	1285	1290		
Asp Pro Ile Trp Lys Gly Pro	Ala Lys Leu Leu Trp	Lys Gly Glu		
1295	1300	1305		
Gly Ala Val Val Ile Gln Asp	Asn Ser Asp Ile Lys	Val Val Pro		
1310	1315	1320		
Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile	Lys Asp Tyr Gly Lys	Gln Met Ala		
1325	1330	1335		
Gly Ala Asp Cys Val Ala Gly	Arg Gln Asp Glu Asp			
1340	1345	1350		

<210> 8

<211> 857

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (gp160 Env1 khảm)

<400> 8

Met Arg Val Thr Gly Ile Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp
1 5 10 15

Gly Thr Met Leu Leu Gly Ile Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Gly Lys
20 25 30

Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Thr
35 40 45

Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu Val
50 55 60

His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
65 70 75 80

Gln Glu Val Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
85 90 95

Asn Asn Met Val Glu Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp
100 105 110

Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
115 120 125

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

Asn Ser Ser Trp Gly Glu Pro Met Glu Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys
145 150 155 160

Ser Phe Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asn Lys Val Gln Lys Gln Tyr
165 170 175

Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asn Asp Ser Asn
180 185 190

Asn Thr Asn Tyr Arg Leu Ile Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln
195 200 205

Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala
210 215 220

Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asp Lys Lys Phe Asn Gly
225 230 235 240

Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile
245 250 255

Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu
260 265 270

Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Glu Asn Phe Thr Asn Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro
290 295 300

Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe
305 310 315 320

Tyr Thr Ala Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn
325 330 335

Ile Ser Arg Ala Asn Trp Asn Asn Thr Leu Arg Gln Ile Val Glu Lys
340 345 350

Leu Gly Lys Gln Phe Gly Asn Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn His Ser
355 360 365

Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Gly Gly
370 375 380

Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Ser Thr Lys Leu Phe Asn Ser Thr Trp Thr
385 390 395 400

Trp Asn Asn Ser Thr Trp Asn Asn Thr Lys Arg Ser Asn Asp Thr Glu
405 410 415

Glu His Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp
420 425 430

Gln Glu Val Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Arg Gly Gln Ile
435 440 445

Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly
 450 455 460

Asn Asp Thr Ser Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met
 465 470 475 480

Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile
 485 490 495

Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln
 500 505 510

Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu
 515 520 525

Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val
 530 535 540

Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu
 545 550 555 560

Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp
 565 570 575

Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu
 580 585 590

Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile
 595 600 605

Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu
 610 615 620

Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile
 625 630 635 640

Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn
 645 650 655

Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala
 660 665 670

Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys
 675 680 685

Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg Ile Val Phe
 690 695 700

Ala Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu
 705 710 715 720

Ser Phe Gln Thr Arg Leu Pro Ala Pro Arg Gly Pro Asp Arg Pro Glu
 725 730 735

Gly Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Arg Asp Arg Asp Arg Ser Val Arg
 740 745 750

Leu Val Asp Gly Phe Leu Val Leu Ile Trp Asp Asp Leu Gln Ser Leu
 755 760 765

Cys Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Glu
 770 775 780

Leu Leu Gly Arg Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu
 785 790 795 800

Leu Gln Tyr Trp Ser Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Ile Ser Leu Leu
 805 810 815

Asn Ala Thr Ala Val Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu
 820 825 830

Ala Leu Gln Arg Ala Cys Arg Ala Ile Leu His Ile Pro Arg Arg Ile
 835 840 845

Arg Gln Gly Leu Glu Arg Leu Leu Leu
 850 855

<210> 9
 <211> 867
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp (gp160 Env2 khám)

<400> 9

Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp
 1 5 10 15

Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val Met Gly Asn
 20 25 30

Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys
 35 40 45

Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val
 50 55 60

His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
 65 70 75 80

Gln Glu Met Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
 85 90 95

Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg Leu Trp Asp
 100 105 110

Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
 115 120 125

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

Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala
 145 150 155 160

Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr

					165						170					175
Arg	Leu	Asp	Ile	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Ser	
			180					185					190			
Ser	Glu	Asn	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ile	Asn	Cys	Asn	Thr	Ser	
		195					200					205				
Ala	Ile	Thr	Gln	Ala	Cys	Pro	Lys	Val	Ser	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ile	
	210					215					220					
His	Tyr	Cys	Ala	Pro	Ala	Gly	Tyr	Ala	Ile	Leu	Lys	Cys	Asn	Asn	Lys	
225					230					235					240	
Thr	Phe	Asn	Gly	Thr	Gly	Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys	
				245					250					255		
Thr	His	Gly	Ile	Lys	Pro	Val	Val	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Gly	
			260					265					270			
Ser	Leu	Ala	Glu	Glu	Glu	Ile	Ile	Ile	Arg	Ser	Glu	Asn	Leu	Thr	Asn	
		275						280				285				
Asn	Ala	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	His	Leu	Asn	Glu	Thr	Val	Asn	Ile	Thr	
	290					295					300					
Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Pro	
305					310					315					320	
Gly	Gln	Thr	Phe	Tyr	Ala	Thr	Gly	Asp	Ile	Ile	Gly	Asp	Ile	Arg	Gln	
				325					330					335		
Ala	His	Cys	Asn	Leu	Ser	Arg	Asp	Gly	Trp	Asn	Lys	Thr	Leu	Gln	Gly	
			340					345					350			
Val	Lys	Lys	Lys	Leu	Ala	Glu	His	Phe	Pro	Asn	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe	
		355					360					365				
Thr	Ser	Ser	Ser	Gly	Gly	Asp	Leu	Glu	Ile	Thr	Thr	His	Ser	Phe	Asn	

370																	
Cys	Arg	Gly	Glu	Phe	Phe	Tyr	Cys	Asn	Thr	Ser	Gly	Leu	Phe	Asn	Gly		
385					390					395					400		
Thr	Tyr	Met	Pro	Asn	Gly	Thr	Asn	Ser	Asn	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Thr		
				405					410					415			
Leu	Pro	Cys	Arg	Ile	Lys	Gln	Ile	Ile	Asn	Met	Trp	Gln	Glu	Val	Gly		
			420					425					430				
Arg	Ala	Met	Tyr	Ala	Pro	Pro	Ile	Ala	Gly	Asn	Ile	Thr	Cys	Arg	Ser		
		435					440					445					
Asn	Ile	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Thr	Arg	Asp	Gly	Gly	Ser	Asn	Asn	Gly		
	450					455					460						
Val	Pro	Asn	Asp	Thr	Glu	Thr	Phe	Arg	Pro	Gly	Gly	Gly	Asp	Met	Arg		
465					470					475					480		
Asn	Asn	Trp	Arg	Ser	Glu	Leu	Tyr	Lys	Tyr	Lys	Val	Val	Glu	Val	Lys		
				485					490					495			
Pro	Leu	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Ala	Lys	Arg	Arg	Val	Val	Glu	Arg		
			500					505					510				
Glu	Lys	Arg	Ala	Val	Gly	Ile	Gly	Ala	Val	Phe	Leu	Gly	Ile	Leu	Gly		
		515					520					525					
Ala	Ala	Gly	Ser	Thr	Met	Gly	Ala	Ala	Ser	Ile	Thr	Leu	Thr	Val	Gln		
		530				535					540						
Ala	Arg	Gln	Leu	Leu	Ser	Gly	Ile	Val	Gln	Gln	Gln	Ser	Asn	Leu	Leu		
545					550				555						560		
Arg	Ala	Ile	Glu	Ala	Gln	Gln	His	Met	Leu	Gln	Leu	Thr	Val	Trp	Gly		
				565					570					575			
Ile	Lys	Gln	Leu	Gln	Thr	Arg	Val	Leu	Ala	Ile	Glu	Arg	Tyr	Leu	Gln		

				580					585					590			
Asp	Gln	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Trp	Gly	Cys	Ser	Gly	Lys	Leu	Ile	Cys		
		595					600					605					
Thr	Thr	Ala	Val	Pro	Trp	Asn	Thr	Ser	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Gln	Thr		
	610					615					620						
Asp	Ile	Trp	Asp	Asn	Met	Thr	Trp	Met	Gln	Trp	Asp	Lys	Glu	Ile	Gly		
625					630					635					640		
Asn	Tyr	Thr	Gly	Glu	Ile	Tyr	Arg	Leu	Leu	Glu	Glu	Ser	Gln	Asn	Gln		
				645					650					655			
Gln	Glu	Lys	Asn	Glu	Lys	Asp	Leu	Leu	Ala	Leu	Asp	Ser	Trp	Lys	Asn		
			660					665					670				
Leu	Trp	Asn	Trp	Phe	Asp	Ile	Thr	Asn	Trp	Leu	Trp	Tyr	Ile	Lys	Ile		
		675					680					685					
Phe	Ile	Met	Ile	Val	Gly	Gly	Leu	Ile	Gly	Leu	Arg	Ile	Ile	Leu	Gly		
	690					695					700						
Val	Leu	Ser	Ile	Val	Arg	Arg	Val	Arg	Gln	Gly	Tyr	Ser	Pro	Leu	Ser		
705					710					715					720		
Phe	Gln	Thr	Leu	Thr	Pro	Asn	Pro	Arg	Gly	Leu	Asp	Arg	Leu	Gly	Arg		
				725					730					735			
Ile	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Glu	Gln	Asp	Arg	Asp	Arg	Ser	Ile	Arg	Leu		
			740					745					750				
Val	Asn	Gly	Phe	Leu	Ala	Leu	Ala	Trp	Asp	Asp	Leu	Arg	Ser	Leu	Cys		
		755					760					765					
Leu	Phe	Ser	Tyr	His	Gln	Leu	Arg	Asp	Phe	Ile	Leu	Ile	Val	Ala	Arg		
	770					775					780						
Ala	Val	Glu	Leu	Leu	Gly	Arg	Ser	Ser	Leu	Arg	Gly	Leu	Gln	Arg	Gly		

785 790 795 800

Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Leu Gly Asn Leu Val Gln Tyr Trp Gly Leu
805 810 815

Glu Leu Lys Lys Gly Ala Ile Ser Leu Leu Asp Thr Ile Ala Ile Ala
820 825 830

Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Ile Ile Glu Leu Ile Gln Ser Ile Cys
835 840 845

Arg Ala Ile Arg Asn Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Phe Glu Ala
850 855 860

Ser Leu Leu
865

```
<210> 10
<211> 500
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (gag1 khảm)

 $\langle 400 \rangle \quad 10$

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
100 105 110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val
115 120 125

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
130 135 140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
145 150 155 160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
180 185 190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
195 200 205

Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
210 215 220

Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
225 230 235 240

Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile
245 250 255

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

Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
275 280 285

Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 295 300

Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320

Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
 325 330 335

Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
 340 345 350

Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365

Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
 370 375 380

Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400

Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415

Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430

Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Asn Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445

Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
 450 455 460

Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480

Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
 485 490 495

Pro Ser Ser Gln
500

<210> 11
<211> 491
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (gag2 khảm)

<400> 11

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln
100 105 110

Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn
115 120 125

Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile
130 135 140

Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala

145		150		155		160									
Phe	Ser	Pro	Glu	Val	Ile	Pro	Met	Phe	Thr	Ala	Leu	Ser	Glu	Gly	Ala
			165					170					175		
Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Met	Leu	Asn	Thr	Val	Gly	Gly	His	Gln
		180					185					190			
Ala	Ala	Met	Gln	Met	Leu	Lys	Asp	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu	Ala	Ala	Glu
		195					200				205				
Trp	Asp	Arg	Leu	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Val	Ala	Pro	Gly	Gln
	210					215					220				
Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr	Ser	Asn	Leu
225					230					235					240
Gln	Glu	Gln	Ile	Ala	Trp	Met	Thr	Ser	Asn	Pro	Pro	Ile	Pro	Val	Gly
			245						250					255	
Asp	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys	Ile	Val	Arg
			260					265					270		
Met	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Lys	Gln	Gly	Pro	Lys	Glu
		275					280					285			
Pro	Phe	Arg	Asp	Tyr	Val	Asp	Arg	Phe	Phe	Lys	Thr	Leu	Arg	Ala	Glu
	290					295					300				
Gln	Ala	Thr	Gln	Asp	Val	Lys	Asn	Trp	Met	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Val
305					310					315					320
Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro
				325					330					335	
Gly	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Met	Met	Thr	Ala	Cys	Gln	Gly	Val	Gly	Gly
			340					345					350		
Pro	Ser	His	Lys	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Ser	Gln	Thr	Asn

355

360

365

Ser Thr Ile Leu Met Gln Arg Ser Asn Phe Lys Gly Ser Lys Arg Ile
 370 375 380

Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys
 385 390 395 400

Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His
 405 410 415

Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile
 420 425 430

Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro
 435 440 445

Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe Glu Glu Thr Thr
 450 455 460

Pro Ala Pro Lys Gln Glu Pro Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser Leu
 465 470 475 480

Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp Pro Leu Ser Gln
 485 490

<210> 12

<211> 999

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (poli khảm)

<400> 12

Phe Phe Arg Glu Asn Leu Ala Phe Gln Gln Gly Glu Ala Arg Glu Phe
 1 5 10 15

Pro Ser Glu Gln Thr Arg Ala Asn Ser Pro Thr Ser Arg Glu Leu Gln
 20 25 30

Val Arg Gly Asp Asn Pro His Ser Glu Ala Gly Ala Glu Arg Gln Gly
 35 40 45

Thr Leu Asn Phe Pro Gln Ile Thr Leu Trp Gln Arg Pro Leu Val Ser
 50 55 60

Ile Lys Val Gly Gly Gln Ile Arg Glu Ala Leu Leu Asp Thr Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Asp Thr Val Leu Glu Asp Ile Asn Leu Pro Gly Lys Trp Lys Pro
 85 90 95

Lys Met Ile Gly Gly Ile Gly Gly Phe Ile Lys Val Arg Gln Tyr Asp
 100 105 110

Gln Ile Leu Ile Glu Ile Cys Gly Lys Lys Ala Ile Gly Thr Val Leu
 115 120 125

Val Gly Pro Thr Pro Val Asn Ile Ile Gly Arg Asn Met Leu Thr Gln
 130 135 140

Leu Gly Cys Thr Leu Asn Phe Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro
 145 150 155 160

Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro
 165 170 175

Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met
 180 185 190

Glu Lys Glu Gly Lys Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn
 195 200 205

Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys
 210 215 220

Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu
 225 230 235 240

Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser
 245 250 255

Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp
 260 265 270

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

Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp
 290 295 300

Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu
 305 310 315 320

Pro Phe Arg Ala Lys Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp
 325 330 335

Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys
 340 345 350

Ile Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro
 355 360 365

Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu
 370 375 380

Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys
 385 390 395 400

Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn
 405 410 415

Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys
 420 425 430

Leu Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu
 435 440 445

Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro
 450 455 460

Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile
 465 470 475 480

Gln Lys Gln Gly His Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro
 485 490 495

Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His
 500 505 510

Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met
 515 520 525

Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile
 530 535 540

Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr
 545 550 555 560

Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu
 565 570 575

Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr
 580 585 590

Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr
 595 600 605

Val Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr
 610 615 620

Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser
 625 630 635 640

Gly Ser Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile
 645 650 655

Ile Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile
 660 665 670

Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val Pro
 675 680 685

Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser
 690 695 700

Ser Gly Ile Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln
 705 710 715 720

Glu Glu His Glu Lys Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Asp
 725 730 735

Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp
 740 745 750

Gln Cys Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser
 755 760 765

Pro Gly Ile Trp Gln Leu Asp Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Ile Ile
 770 775 780

Leu Val Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile
 785 790 795 800

Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Ile Leu Lys Leu Ala
 805 810 815

Gly Arg Trp Pro Val Lys Val Ile His Thr Asp Asn Gly Ser Asn Phe
 820 825 830

Thr Ser Ala Ala Val Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Gln Gln
 835 840 845

Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Glu Ser
 850 855 860

Met Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala
865 870 875 880

Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe
885 890 895

Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile
900 905 910

Asp Ile Ile Ala Thr Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile
915 920 925

Ile Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro
930 935 940

Ile Trp Lys Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val
945 950 955 960

Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Val
965 970 975

Lys Ile Ile Lys Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Ala Asp Cys Val
980 985 990

Ala Gly Arg Gln Asp Glu Asp
995

<210> 13
<211> 1003
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (pol2 khảm)

<400> 13

Phe Phe Arg Glu Asn Leu Ala Phe Pro Gln Gly Lys Ala Arg Glu Phe
1 5 10 15

Ser Ser Glu Gln Thr Arg Ala Asn Ser Pro Thr Arg Arg Glu Leu Gln

[illegible]

225		230		235		240
Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys						
	245		250		255	
Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser						
	260		265		270	
Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro						
	275		280		285	
Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu						
	290		295		300	
Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr						
305		310		315		320
Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr						
	325		330		335	
Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln						
	340		345		350	
His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg Trp Gly						
	355		360		365	
Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp						
	370		375		380	
Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Val						
385		390		395		400
Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val						
	405		410		415	
Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys Val Lys						
	420		425		430	
Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu Val Val						

435		440		445											
Pro	Leu	Thr	Glu	Glu	Ala	Glu	Leu	Glu	Leu	Ala	Glu	Asn	Arg	Glu	Ile
450						455					460				
Leu	Lys	Glu	Pro	Val	His	Gly	Val	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Ser	Lys	Asp	Leu
465					470					475					480
Ile	Ala	Glu	Ile	Gln	Lys	Gln	Gly	Gln	Gly	Gln	Trp	Thr	Tyr	Gln	Ile
				485					490					495	
Tyr	Gln	Glu	Pro	Phe	Lys	Asn	Leu	Lys	Thr	Gly	Lys	Tyr	Ala	Arg	Met
			500					505					510		
Arg	Gly	Ala	His	Thr	Asn	Asp	Val	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Ala	Val	Gln
	515						520					525			
Lys	Ile	Ala	Thr	Glu	Ser	Ile	Val	Ile	Trp	Gly	Lys	Thr	Pro	Lys	Phe
530						535					540				
Lys	Leu	Pro	Ile	Gln	Lys	Glu	Thr	Trp	Glu	Ala	Trp	Trp	Thr	Glu	Tyr
545					550					555					560
Trp	Gln	Ala	Thr	Trp	Ile	Pro	Glu	Trp	Glu	Phe	Val	Asn	Thr	Pro	Pro
				565					570					575	
Leu	Val	Lys	Leu	Trp	Tyr	Gln	Leu	Glu	Lys	Glu	Pro	Ile	Val	Gly	Ala
			580					585					590		
Glu	Thr	Phe	Tyr	Val	Asp	Gly	Ala	Ala	Asn	Arg	Glu	Thr	Lys	Leu	Gly
		595					600					605			
Lys	Ala	Gly	Tyr	Val	Thr	Asp	Arg	Gly	Arg	Gln	Lys	Val	Val	Ser	Leu
610						615					620				
Thr	Asp	Thr	Thr	Asn	Gln	Lys	Thr	Glu	Leu	Gln	Ala	Ile	His	Leu	Ala
625					630					635					640
Leu	Gln	Asp	Ser	Gly	Leu	Glu	Val	Asn	Ile	Val	Thr	Asp	Ser	Gln	Tyr

[illegible]

850 855 860
 Val Val Glu Ser Ile Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val
 865 870 875 880
 Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe
 885 890 895
 Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Glu Tyr Ser Ala Gly
 900 905 910
 Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu
 915 920 925
 Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp
 930 935 940
 Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly
 945 950 955 960
 Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro
 965 970 975
 Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly
 980 985 990
 Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln Asp Glu Asp
 995 1000

 <210> 14
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp (nef1 khả)

 <400> 14
 Met Gly Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Val Val Gly Trp Pro Ala Ile
 1 5 10 15

Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly Val Gly Ala
20 25 30

Val Ser Arg Asp Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser Ser Asn Thr
35 40 45

Ala Ala Asn Asn Ala Asp Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Glu Glu
50 55 60

Glu Val Gly Phe Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr
65 70 75 80

Tyr Lys Gly Ala Leu Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly
85 90 95

Leu Glu Gly Leu Ile Tyr Ser Gln Lys Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu
100 105 110

Trp Val Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr
115 120 125

Pro Gly Pro Gly Ile Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe Lys
130 135 140

Leu Val Pro Val Glu Pro Glu Lys Ile Glu Glu Ala Asn Glu Gly Glu
145 150 155 160

Asn Asn Ser Leu Leu His Pro Met Ser Gln His Gly Met Asp Asp Pro
165 170 175

Glu Lys Glu Val Leu Met Trp Lys Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His
180 185 190

His Met Ala Arg Glu Leu His Pro Glu Tyr Tyr Lys Asp Cys
195 200 205

<210> 15
<211> 206
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (nef2 khả)

<400> 15

Met Gly Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Ile Val Gly Trp Pro Ala Val
1 5 10 15

Arg Glu Arg Ile Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Glu Gly Val Gly Ala
20 25 30

Ala Ser Gln Asp Leu Asp Lys Tyr Gly Ala Leu Thr Ser Ser Asn Thr
35 40 45

Ala Ala Thr Asn Ala Asp Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Asp Glu
50 55 60

Glu Val Gly Phe Pro Val Lys Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr
65 70 75 80

Tyr Lys Ala Ala Phe Asp Leu Ser Phe Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly
85 90 95

Leu Asp Gly Leu Ile Tyr Ser Lys Lys Arg Gln Glu Ile Leu Asp Leu
100 105 110

Trp Val Tyr Asn Thr Gln Gly Phe Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr
115 120 125

Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe Lys
130 135 140

Leu Val Pro Val Asp Pro Arg Glu Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu
145 150 155 160

Asn Asn Cys Leu Leu His Pro Met Asn Leu His Gly Met Asp Asp Pro
165 170 175

Glu Arg Glu Val Leu Val Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His

	180		185		190
His Met Ala Arg Glu Lys His Pro Glu Tyr Tyr Lys Asn Cys					
	195		200		205
<210>	16				
<211>	850				
<212>	PRT				
<213>	Trình tự nhân tạo				
<220>					
<223>	Cấu trúc tổng hợp (poll khảm)				
<400>	16				
Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro					
1		5		10	15
Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys					
	20		25		30
Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys					
	35		40		45
Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala					
	50		55		60
Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg					
65		70		75	80
Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile					
		85		90	95
Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala					
	100		105		110
Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Gly Phe Arg Lys					
	115		120		125
Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile					
	130		135		140

Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala
145 150 155 160

Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro Phe Arg Ala Lys
165 170 175

Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly
180 185 190

Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile Glu Glu Leu Arg
195 200 205

Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln
210 215 220

Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys
225 230 235 240

Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val
245 250 255

Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile
260 265 270

Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Ala
275 280 285

Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu
290 295 300

Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr
305 310 315 320

Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly His
325 330 335

Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys
340 345 350

Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr Asn Asp Val Lys
 355 360 365

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

Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp
 385 390 395 400

Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp
 405 410 415

Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu
 420 425 430

Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala
 435 440 445

Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly
 450 455 460

Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala
 465 470 475 480

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

Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro
 500 505 510

Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile
 515 520 525

Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile
 530 535 540

Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ser Gly Ile Arg Lys
 545 550 555 560

Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys
 565 570 575

Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro
 580 585 590

Val Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Gln Cys Gln Leu Lys
 595 600 605

Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln
 610 615 620

Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Ile Ile Leu Val Ala Val His
 625 630 635 640

Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly
 645 650 655

Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Ile Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val
 660 665 670

Lys Val Ile His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Ala Val
 675 680 685

Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Gln Gln Glu Phe Gly Ile Pro
 690 695 700

Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Met Asn Lys Glu Leu
 705 710 715 720

Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr
 725 730 735

Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly
 740 745 750

Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile Asp Ile Ile Ala Thr
 755 760 765

Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Ile Lys Ile Gln Asn
770 775 780

Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Ile Trp Lys Gly Pro
785 790 795 800

Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn
805 810 815

Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile Lys Asp
820 825 830

Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Ala Asp Cys Val Ala Gly Arg Gln Asp
835 840 845

Glu Asp
850

<210> 17
<211> 850
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (poll khảm)

<400> 17

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

Gly Met Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys
20 25 30

Ile Lys Ala Leu Val Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys
35 40 45

Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala
50 55 60

Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg

65					70						75					80
Glu	Leu	Asn	Lys	Arg	Thr	Gln	Asp	Phe	Trp	Glu	Val	Gln	Leu	Gly	Ile	
				85					90					95		
Pro	His	Pro	Ala	Gly	Leu	Lys	Lys	Lys	Lys	Ser	Val	Thr	Val	Leu	Ala	
			100					105					110			
Val	Gly	Asp	Ala	Tyr	Phe	Ser	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asp	Phe	Arg	Lys	
		115					120					125				
Tyr	Thr	Ala	Phe	Thr	Ile	Pro	Ser	Ile	Asn	Asn	Glu	Thr	Pro	Gly	Ile	
	130					135					140					
Arg	Tyr	Gln	Tyr	Asn	Val	Leu	Pro	Gln	Gly	Trp	Lys	Gly	Ser	Pro	Ala	
145					150					155					160	
Ile	Phe	Gln	Ser	Ser	Met	Thr	Lys	Ile	Leu	Glu	Pro	Phe	Arg	Lys	Gln	
				165					170					175		
Asn	Pro	Asp	Ile	Val	Ile	Tyr	Gln	Tyr	Met	Ala	Ala	Leu	Tyr	Val	Gly	
			180					185					190			
Ser	Asp	Leu	Glu	Ile	Gly	Gln	His	Arg	Thr	Lys	Ile	Glu	Glu	Leu	Arg	
	195						200					205				
Gln	His	Leu	Leu	Arg	Trp	Gly	Phe	Thr	Thr	Pro	Asp	Lys	Lys	His	Gln	
	210					215					220					
Lys	Glu	Pro	Pro	Phe	Leu	Trp	Met	Gly	Tyr	Glu	Leu	His	Pro	Asp	Lys	
225					230					235					240	
Trp	Thr	Val	Gln	Pro	Ile	Val	Leu	Pro	Glu	Lys	Asp	Ser	Trp	Thr	Val	
				245					250					255		
Asn	Asp	Ile	Gln	Lys	Leu	Val	Gly	Lys	Leu	Asn	Trp	Ala	Ser	Gln	Ile	
			260					265					270			
Tyr	Ala	Gly	Ile	Lys	Val	Lys	Gln	Leu	Cys	Lys	Leu	Leu	Arg	Gly	Thr	

275	280	285
Lys Ala Leu Thr Glu Val Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu		
290	295	300
Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr		
305	310	315
Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln		
	325	330
Gly Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys		
	340	345
Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys		
	355	360
Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile		
	370	375
Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp		
385	390	395
Glu Ala Trp Trp Thr Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp		
	405	410
Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu		
	420	425
Lys Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala		
	435	440
Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly		
	450	455
Arg Gln Lys Val Val Ser Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala		
465	470	475
Leu Gln Ala Ile His Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn		

				485						490									495
Ile	Val	Thr	Ala	Ser	Gln	Tyr	Ala	Leu	Gly	Ile	Ile	Gln	Ala	Gln	Pro				
			500					505						510					
Asp	Lys	Ser	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Ser	Gln	Ile	Ile	Glu	Gln	Leu	Ile				
		515					520					525							
Lys	Lys	Glu	Lys	Val	Tyr	Leu	Ala	Trp	Val	Pro	Ala	His	Lys	Gly	Ile				
	530					535					540								
Gly	Gly	Asn	Glu	Gln	Val	Asp	Lys	Leu	Val	Ser	Arg	Gly	Ile	Arg	Lys				
545					550					555									
Val	Leu	Phe	Leu	Asp	Gly	Ile	Asp	Lys	Ala	Gln	Glu	Glu	His	Glu	Lys				
				565					570					575					
Tyr	His	Ser	Asn	Trp	Arg	Ala	Met	Ala	Ser	Glu	Phe	Asn	Leu	Pro	Pro				
			580					585					590						
Ile	Val	Ala	Lys	Glu	Ile	Val	Ala	Ser	Cys	Asp	Lys	Cys	Gln	Leu	Lys				
		595					600					605							
Gly	Glu	Ala	Ile	His	Gly	Gln	Val	Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile	Trp	Gln				
	610					615					620								
Leu	Ala	Cys	Thr	His	Leu	Glu	Gly	Lys	Val	Ile	Leu	Val	Ala	Val	His				
625					630					635					640				
Val	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro	Ala	Glu	Thr	Gly				
				645					650					655					
Gln	Glu	Thr	Ala	Tyr	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly	Arg	Trp	Pro	Val				
			660					665					670						
Lys	Thr	Ile	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Ser	Ala	Thr	Val				
		675					680					685							
Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile	Lys	Gln	Glu	Phe	Gly	Ile	Pro				

690

695

700

Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Ile Asn Lys Glu Leu
705 710 715 720

Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr
725 730 735

Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly
740 745 750

Ile Gly Glu Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser
755 760 765

Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn
770 775 780

Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro
785 790 795 800

Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn
805 810 815

Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp
820 825 830

Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln Asp
835 840 845

Glu Asp
850

<210> 18
<211> 851
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (Mos3 pol v3)

<400> 18

Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Asp Thr Val Pro Val Thr Leu Lys Pro
 1 5 10 15
 Gly Met Asp Gly Pro Lys Ile Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys
 20 25 30
 Ile Lys Ala Leu Thr Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys
 35 40 45
 Ile Ser Arg Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala
 50 55 60
 Ile Lys Lys Lys Asn Ser Thr Arg Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg
 65 70 75 80
 Glu Leu Asn Lys Lys Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile
 85 90 95
 Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Arg Ser Val Thr Val Leu Ala
 100 105 110
 Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Lys Asp Phe Arg Lys
 115 120 125
 Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Val Asn Asn Glu Thr Pro Gly Val
 130 135 140
 Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala
 145 150 155 160
 Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Ala Gln
 165 170 175
 Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Val Ala Ala Leu Tyr Val Gly
 180 185 190
 Ser Asp Leu Glu Ile Glu Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg
 195 200 205

Ala His Leu Leu Ser Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln
 210 215 220

Arg Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Arg
 225 230 235 240

Trp Thr Val Gln Pro Ile Glu Leu Pro Glu Lys Glu Ser Trp Thr Val
 245 250 255

Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile
 260 265 270

Tyr Pro Gly Ile Lys Val Lys Gln Leu Cys Arg Leu Leu Arg Gly Ala
 275 280 285

Lys Ala Leu Thr Glu Val Ile Pro Leu Thr Lys Glu Ala Glu Leu Glu
 290 295 300

Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Arg Glu Pro Val His Gly Val Tyr
 305 310 315 320

Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Val Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln
 325 330 335

Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Tyr Lys Asn Leu Lys
 340 345 350

Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Lys Arg Ser Ala His Thr Asn Asp Val Arg
 355 360 365

Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Leu Glu Ser Ile Val Ile
 370 375 380

Trp Gly Lys Ile Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln Arg Glu Thr Trp
 385 390 395 400

Glu Thr Trp Trp Thr Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Asp Trp
 405 410 415

Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu
 420 425 430

Lys Glu Pro Ile Ala Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ser
 435 440 445

Asn Arg Glu Thr Lys Ile Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Lys Gly
 450 455 460

Arg Gln Lys Val Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys Ala Ala
 465 470 475 480

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

Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Val Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro
 500 505 510

Asp Arg Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Glu Leu Ile
 515 520 525

Lys Lys Glu Lys Val Tyr Leu Ser Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile
 530 535 540

Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys
 545 550 555 560

Ile Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Arg
 565 570 575

Tyr His Ser Asn Trp Arg Thr Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro
 580 585 590

Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Asn Cys Asp Lys Cys Gln Leu Lys
 595 600 605

Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Met Trp Gln
 610 615 620

Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Ile Ile Ile Val Ala Val His
625 630 635 640

Val Ala Ser Gly Tyr Met Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly
645 650 655

Gln Glu Thr Ala Tyr Tyr Ile Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val
660 665 670

Lys Val Val His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Thr Thr Val
675 680 685

Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Asn Val Thr Gln Glu Phe Gly Ile Pro
690 695 700

Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Ile Ala Ser Met Asn Lys Glu Leu
705 710 715 720

Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Glu Gln Ala Glu His Leu Lys Thr
725 730 735

Ala Val Gln Met Ala Val Leu Ile His Asn Phe Lys Arg Arg Gly Gly
740 745 750

Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Thr
755 760 765

Asp Ile Gln Thr Arg Glu Leu Gln Lys Gln Ile Ile Lys Ile Gln Asn
770 775 780

Phe Arg Val Tyr Phe Arg Asp Ser Arg Asp Pro Val Trp Lys Gly Pro
785 790 795 800

Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn
805 810 815

Ser Glu Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile Arg Asp
820 825 830

Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Gly Arg Gln Asp
 835 840 845

Glu Asp Gln
 850

<210> 19
 <211> 508
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp (Mos3 gag)

<400> 19

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp
 1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys
 20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro
 35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Ile Glu Gln Leu
 50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Lys Ser Leu Tyr Asn
 65 70 75 80

Thr Val Ala Val Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Asp Val Lys Asp
 85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Gln Asn Lys Ser Lys
 100 105 110

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

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ala Gln Gly Gln Met Val His

130		135		140
Gln Ala Leu Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu				
145		150		155 160
Glu Lys Gly Phe Asn Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ala				
	165		170	175
Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Met Met Leu Asn Ile Val Gly				
	180		185	190
Gly His Gln Ala Ala Met Gln Ile Leu Lys Asp Thr Ile Asn Glu Glu				
	195		200	205
Ala Ala Asp Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Pro				
	210		215	220
Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr				
225		230		235 240
Ser Thr Pro Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Ser Asn Pro Pro Val				
	245		250	255
Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Met Gly Leu Asn Lys				
	260		265	270
Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Lys Gln Gly				
	275		280	285
Pro Lys Glu Ser Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Val Leu				
	290		295	300
Arg Ala Glu Gln Ala Thr Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr				
305		310		315 320
Leu Leu Ile Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Ser Ile Leu Arg Ala				
	325		330	335
Leu Gly Pro Gly Ala Ser Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly				

[illegible]

```
<210> 20
<211> 206
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp ((Mos1 nef) (từ G đến A để loại bớt vị trí myristyl hoá))

<400> 20

Met Ala Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Val Val Gly Trp Pro Ala Ile
 1 5 10 15

Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly Val Gly Ala
 20 25 30

Val Ser Arg Asp Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser Ser Asn Thr
 35 40 45

Ala Ala Asn Asn Ala Asp Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Glu Glu
 50 55 60

Glu Val Gly Phe Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr
 65 70 75 80

Tyr Lys Gly Ala Leu Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly
 85 90 95

Leu Glu Gly Leu Ile Tyr Ser Gln Lys Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu
 100 105 110

Trp Val Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr
 115 120 125

Pro Gly Pro Gly Ile Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe Lys
 130 135 140

Leu Val Pro Val Glu Pro Glu Lys Ile Glu Glu Ala Asn Glu Gly Glu
 145 150 155 160

Asn Asn Ser Leu Leu His Pro Met Ser Gln His Gly Met Asp Asp Pro
 165 170 175

Glu Lys Glu Val Leu Met Trp Lys Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His
 180 185 190

His Met Ala Arg Glu Leu His Pro Glu Tyr Tyr Lys Asp Cys
 195 200 205

<210> 21
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp ((Mos2 nef) (từ G đến A để loại bớt sự myristyl hoá))

<400> 21

Met Ala Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Ile Val Gly Trp Pro Ala Val
 1 5 10 15

Arg Glu Arg Ile Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Glu Gly Val Gly Ala
 20 25 30

Ala Ser Gln Asp Leu Asp Lys Tyr Gly Ala Leu Thr Ser Ser Asn Thr
 35 40 45

Ala Ala Thr Asn Ala Asp Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Asp Glu
 50 55 60

Glu Val Gly Phe Pro Val Lys Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr
 65 70 75 80

Tyr Lys Ala Ala Phe Asp Leu Ser Phe Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly
 85 90 95

Leu Asp Gly Leu Ile Tyr Ser Lys Lys Arg Gln Glu Ile Leu Asp Leu
 100 105 110

Trp Val Tyr Asn Thr Gln Gly Phe Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr
 115 120 125

Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe Lys
 130 135 140

Leu Val Pro Val Asp Pro Arg Glu Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu
 145 150 155 160

Asn Asn Cys Leu Leu His Pro Met Asn Leu His Gly Met Asp Asp Pro
 165 170 175

Glu Arg Glu Val Leu Val Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His
 180 185 190

His Met Ala Arg Glu Lys His Pro Glu Tyr Tyr Lys Asn Cys
 195 200 205

<210> 22

<211> 208

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (Mos3 nef)

<400> 22

Met Ala Gly Lys Trp Ser Lys Arg Ser Val Val Gly Trp Pro Ala Val
 1 5 10 15

Arg Glu Arg Met Arg Arg Thr Glu Pro Ala Ala Glu Gly Val Gly Ala
 20 25 30

Val Ser Gln Asp Leu Asp Lys His Gly Ala Leu Thr Ser Ser Asn Thr
 35 40 45

Ala His Asn Asn Ala Asp Cys Ala Trp Leu Gln Ala Gln Glu Glu Glu
 50 55 60

Glu Glu Val Gly Phe Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Val Arg Pro Met
 65 70 75 80

Thr Tyr Lys Ala Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly
 85 90 95

Gly Leu Glu Gly Leu Ile His Ser Gln Lys Arg Gln Glu Ile Leu Asp
 100 105 110

Leu Trp Val Tyr His Thr Gln Gly Phe Phe Pro Asp Trp His Asn Tyr

115		120		125											
Thr	Pro	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Phe	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Trp	Cys	Tyr
	130					135					140				
Lys	Leu	Val	Pro	Val	Asp	Pro	Lys	Glu	Val	Glu	Glu	Ala	Asn	Glu	Gly
145					150					155					160
Glu	Asn	Asn	Cys	Leu	Leu	His	Pro	Met	Ser	Gln	His	Gly	Met	Glu	Asp
				165					170					175	
Glu	Asp	Arg	Glu	Val	Leu	Lys	Trp	Lys	Phe	Asp	Ser	Ser	Leu	Ala	Arg
			180					185						190	
Arg	His	Met	Ala	Arg	Glu	Leu	His	Pro	Glu	Phe	Tyr	Lys	Asp	Cys	Leu
		195					200					205			
<210> 23															
<211> 705															
<212> PRT															
<213> Trình tự nhân tạo															
<220>															
<223> Cấu trúc tổng hợp (gagnefl khảm)															
<400> 23															
Met	Gly	Ala	Arg	Ala	Ser	Val	Leu	Ser	Gly	Gly	Glu	Leu	Asp	Arg	Trp
1				5					10					15	
Glu	Lys	Ile	Arg	Leu	Arg	Pro	Gly	Gly	Lys	Lys	Lys	Tyr	Arg	Leu	Lys
			20					25					30		
His	Ile	Val	Trp	Ala	Ser	Arg	Glu	Leu	Glu	Arg	Phe	Ala	Val	Asn	Pro
		35					40					45			
Gly	Leu	Leu	Glu	Thr	Ser	Glu	Gly	Cys	Arg	Gln	Ile	Leu	Gly	Gln	Leu
	50					55					60				
Gln	Pro	Ser	Leu	Gln	Thr	Gly	Ser	Glu	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Tyr	Asn
65					70					75					80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
100 105 110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val
115 120 125

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
130 135 140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
145 150 155 160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
180 185 190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
195 200 205

Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
210 215 220

Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
225 230 235 240

Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile
245 250 255

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

Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
275 280 285

Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 295 300

Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320

Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
 325 330 335

Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
 340 345 350

Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365

Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
 370 375 380

Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400

Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415

Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430

Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Asn Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445

Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
 450 455 460

Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480

Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
 485 490 495

Pro Ser Ser Gln Ala Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Val Val Gly Trp
 500 505 510

Pro Ala Ile Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly
 515 520 525

Val Gly Ala Val Ser Arg Asp Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser
 530 535 540

Ser Asn Thr Ala Ala Asn Asn Ala Asp Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln
 545 550 555 560

Glu Glu Glu Glu Val Gly Phe Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu Arg
 565 570 575

Pro Met Thr Tyr Lys Gly Ala Leu Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu
 580 585 590

Lys Gly Gly Leu Glu Gly Leu Ile Tyr Ser Gln Lys Arg Gln Asp Ile
 595 600 605

Leu Asp Leu Trp Val Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln
 610 615 620

Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Ile Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp
 625 630 635 640

Cys Phe Lys Leu Val Pro Val Glu Pro Glu Lys Ile Glu Glu Ala Asn
 645 650 655

Glu Gly Glu Asn Asn Ser Leu Leu His Pro Met Ser Gln His Gly Met
 660 665 670

Asp Asp Pro Glu Lys Glu Val Leu Met Trp Lys Phe Asp Ser Arg Leu
 675 680 685

Ala Phe His His Met Ala Arg Glu Leu His Pro Glu Tyr Tyr Lys Asp
 690 695 700

Cys
705

<210> 24
<211> 696
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (gagnef2 khảm)

<400> 24

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln
100 105 110

Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn
115 120 125

Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile
130 135 140

Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala

145						150						155				160
Phe	Ser	Pro	Glu	Val	Ile	Pro	Met	Phe	Thr	Ala	Leu	Ser	Glu	Gly	Ala	
				165					170					175		
Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Met	Leu	Asn	Thr	Val	Gly	Gly	His	Gln	
			180					185					190			
Ala	Ala	Met	Gln	Met	Leu	Lys	Asp	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu	Ala	Ala	Glu	
		195					200					205				
Trp	Asp	Arg	Leu	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	
	210					215					220					
Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr	Ser	Asn	Leu	
225					230					235					240	
Gln	Glu	Gln	Ile	Ala	Trp	Met	Thr	Ser	Asn	Pro	Pro	Ile	Pro	Val	Gly	
				245					250					255		
Asp	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys	Ile	Val	Arg	
			260					265					270			
Met	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Lys	Gln	Gly	Pro	Lys	Glu	
		275					280					285				
Pro	Phe	Arg	Asp	Tyr	Val	Asp	Arg	Phe	Phe	Lys	Thr	Leu	Arg	Ala	Glu	
	290					295					300					
Gln	Ala	Thr	Gln	Asp	Val	Lys	Asn	Trp	Met	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Val	
305					310					315					320	
Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	
				325					330					335		
Gly	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Met	Met	Thr	Ala	Cys	Gln	Gly	Val	Gly	Gly	
			340					345					350			
Pro	Ser	His	Lys	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Ser	Gln	Thr	Asn	

355							360									365
Ser	Thr	Ile	Leu	Met	Gln	Arg	Ser	Asn	Phe	Lys	Gly	Ser	Lys	Arg	Ile	
370						375					380					
Val	Lys	Cys	Phe	Asn	Cys	Gly	Lys	Glu	Gly	His	Ile	Ala	Arg	Asn	Cys	
385					390					395					400	
Arg	Ala	Pro	Arg	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Lys	Cys	Gly	Lys	Glu	Gly	His	
				405					410					415		
Gln	Met	Lys	Asp	Cys	Thr	Glu	Arg	Gln	Ala	Asn	Phe	Leu	Gly	Lys	Ile	
			420					425					430			
Trp	Pro	Ser	His	Lys	Gly	Arg	Pro	Gly	Asn	Phe	Leu	Gln	Ser	Arg	Pro	
		435					440					445				
Glu	Pro	Thr	Ala	Pro	Pro	Ala	Glu	Ser	Phe	Arg	Phe	Glu	Glu	Thr	Thr	
	450					455					460					
Pro	Ala	Pro	Lys	Gln	Glu	Pro	Lys	Asp	Arg	Glu	Pro	Leu	Thr	Ser	Leu	
465					470					475					480	
Arg	Ser	Leu	Phe	Gly	Ser	Asp	Pro	Leu	Ser	Gln	Ala	Gly	Lys	Trp	Ser	
				485					490					495		
Lys	Ser	Ser	Ile	Val	Gly	Trp	Pro	Ala	Val	Arg	Glu	Arg	Ile	Arg	Arg	
			500					505					510			
Ala	Glu	Pro	Ala	Ala	Glu	Gly	Val	Gly	Ala	Ala	Ser	Gln	Asp	Leu	Asp	
		515					520					525				
Lys	Tyr	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Ser	Asn	Thr	Ala	Ala	Thr	Asn	Ala	Asp	
	530					535					540					
Cys	Ala	Trp	Leu	Glu	Ala	Gln	Glu	Asp	Glu	Glu	Val	Gly	Phe	Pro	Val	
545					550					555					560	
Lys	Pro	Gln	Val	Pro	Leu	Arg	Pro	Met	Thr	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Asp	

[illegible]

```
<210> 25
<211> 1341
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (gag pol2 v3 khảm)

<400> 25

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
 35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu
 50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn
 65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
 85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln
 100 105 110

Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn
 115 120 125

Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile
 130 135 140

Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Thr Ala Leu Ser Glu Gly Ala
 165 170 175

Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln
 180 185 190

Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Asp Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu
 195 200 205

Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Val Ala Pro Gly Gln
 210 215 220

Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Asn Leu
 225 230 235 240

Gln Glu Gln Ile Ala Trp Met Thr Ser Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly
245 250 255

Asp Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg
260 265 270

Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Lys Gln Gly Pro Lys Glu
275 280 285

Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Thr Leu Arg Ala Glu
290 295 300

Gln Ala Thr Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Asp Thr Leu Leu Val
305 310 315 320

Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Arg Ala Leu Gly Pro
325 330 335

Gly Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly
340 345 350

Pro Ser His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln Thr Asn
355 360 365

Ser Thr Ile Leu Met Gln Arg Ser Asn Phe Lys Gly Ser Lys Arg Ile
370 375 380

Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys
385 390 395 400

Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His
405 410 415

Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile
420 425 430

Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro
435 440 445

Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe Glu Glu Thr Thr
 450 455 460

Pro Ala Pro Lys Gln Glu Pro Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser Leu
 465 470 475 480

Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp Pro Leu Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser
 485 490 495

Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro
 500 505 510

Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val
 515 520 525

Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly
 530 535 540

Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp
 545 550 555 560

Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg
 565 570 575

Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly
 580 585 590

Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala Val Gly Asp Ala Tyr
 595 600 605

Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr
 610 615 620

Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn
 625 630 635 640

Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser
 645 650 655

Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val
660 665 670

Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile
675 680 685

Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg
690 695 700

Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe
705 710 715 720

Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro
725 730 735

Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys
740 745 750

Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys
755 760 765

Val Lys Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu
770 775 780

Val Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg
785 790 795 800

Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys
805 810 815

Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr
820 825 830

Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala
835 840 845

Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala
850 855 860

Val Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro
865 870 875 880

Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Ala Trp Trp Thr
885 890 895

Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr
900 905 910

Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Val
915 920 925

Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys
930 935 940

Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Val Val
945 950 955 960

Ser Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala Leu Gln Ala Ile His
965 970 975

Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Ala Ser
980 985 990

Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser
995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys
1010 1015 1020

Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn
1025 1030 1035

Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Arg Gly Ile Arg Lys Val Leu
1040 1045 1050

Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr
1055 1060 1065

His	Ser	Asn	Trp	Arg	Ala	Met	Ala	Ser	Glu	Phe	Asn	Leu	Pro	Pro
	1070					1075					1080			
Ile	Val	Ala	Lys	Glu	Ile	Val	Ala	Ser	Cys	Asp	Lys	Cys	Gln	Leu
	1085					1090					1095			
Lys	Gly	Glu	Ala	Ile	His	Gly	Gln	Val	Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile
	1100					1105					1110			
Trp	Gln	Leu	Ala	Cys	Thr	His	Leu	Glu	Gly	Lys	Val	Ile	Leu	Val
	1115					1120					1125			
Ala	Val	His	Val	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro
	1130					1135					1140			
Ala	Glu	Thr	Gly	Gln	Glu	Thr	Ala	Tyr	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala
	1145					1150					1155			
Gly	Arg	Trp	Pro	Val	Lys	Thr	Ile	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Ser	Asn
	1160					1165					1170			
Phe	Thr	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile
	1175					1180					1185			
Lys	Gln	Glu	Phe	Gly	Ile	Pro	Tyr	Asn	Pro	Gln	Ser	Gln	Gly	Val
	1190					1195					1200			
Val	Ala	Ser	Ile	Asn	Lys	Glu	Leu	Lys	Lys	Ile	Ile	Gly	Gln	Val
	1205					1210					1215			
Arg	Asp	Gln	Ala	Glu	His	Leu	Lys	Thr	Ala	Val	Gln	Met	Ala	Val
	1220					1225					1230			
Phe	Ile	His	Asn	Phe	Lys	Arg	Lys	Gly	Gly	Ile	Gly	Glu	Tyr	Ser
	1235					1240					1245			
Ala	Gly	Glu	Arg	Ile	Val	Asp	Ile	Ile	Ala	Ser	Asp	Ile	Gln	Thr
	1250					1255					1260			

Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val
1265 1270 1275

Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro Ala Lys
1280 1285 1290

Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser
1295 1300 1305

Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp
1310 1315 1320

Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln
1325 1330 1335

Asp Glu Asp
1340

<210> 26
<211> 1359
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (Mos3 gag-pol v3)

<400> 26

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys
20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Ile Glu Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Lys Ser Leu Tyr Asn

65					70						75				80
Thr	Val	Ala	Val	Leu	Tyr	Cys	Val	His	Gln	Arg	Ile	Asp	Val	Lys	Asp
				85					90					95	
Thr	Lys	Glu	Ala	Leu	Asp	Lys	Ile	Glu	Glu	Ile	Gln	Asn	Lys	Ser	Lys
			100					105					110		
Gln	Lys	Thr	Gln	Gln	Ala	Ala	Ala	Asp	Thr	Gly	Ser	Ser	Ser	Lys	Val
		115						120					125		
Ser	Gln	Asn	Tyr	Pro	Ile	Val	Gln	Asn	Ala	Gln	Gly	Gln	Met	Val	His
	130						135					140			
Gln	Ala	Leu	Ser	Pro	Arg	Thr	Leu	Asn	Ala	Trp	Val	Lys	Val	Val	Glu
145					150					155					160
Glu	Lys	Gly	Phe	Asn	Pro	Glu	Val	Ile	Pro	Met	Phe	Ser	Ala	Leu	Ala
				165					170					175	
Glu	Gly	Ala	Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Met	Met	Leu	Asn	Ile	Val	Gly
			180					185					190		
Gly	His	Gln	Ala	Ala	Met	Gln	Ile	Leu	Lys	Asp	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu
		195					200					205			
Ala	Ala	Asp	Trp	Asp	Arg	Leu	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Ile	Pro
	210					215					220				
Pro	Gly	Gln	Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr
225					230					235				240	
Ser	Thr	Pro	Gln	Glu	Gln	Ile	Gly	Trp	Met	Thr	Ser	Asn	Pro	Pro	Val
			245						250					255	
Pro	Val	Gly	Glu	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Met	Gly	Leu	Asn	Lys
		260						265					270		
Ile	Val	Arg	Met	Tyr	Ser	Pro	Val	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Lys	Gln	Gly

275	280	285
Pro Lys Glu Ser Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Val Leu		
290	295	300
Arg Ala Glu Gln Ala Thr Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr		
305	310	315 320
Leu Leu Ile Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Ser Ile Leu Arg Ala		
	325	330 335
Leu Gly Pro Gly Ala Ser Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly		
	340	345 350
Val Gly Gly Pro Ser His Lys Ala Arg Ile Leu Ala Glu Ala Met Ser		
	355	360 365
Gln Ala Asn Asn Thr Asn Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Lys Gly		
	370	375 380
Gln Lys Arg Ile Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Leu Ala		
385	390	395 400
Arg Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Arg Gly Cys Trp Lys Cys Gly Arg		
	405	410 415
Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Asn Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu		
	420	425 430
Gly Lys Ile Trp Pro Ser Ser Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Pro Gln		
	435	440 445
Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Leu Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala		
	450	455 460
Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Gly Phe Gly Glu Glu Ile		
465	470	475 480
Thr Pro Ser Pro Lys Gln Glu Gln Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser		

485					490					495					
Leu	Lys	Ser	Leu	Phe	Gly	Ser	Asp	Pro	Leu	Leu	Gln	Met	Ala	Pro	Ile
			500					505					510		
Ser	Pro	Ile	Asp	Thr	Val	Pro	Val	Thr	Leu	Lys	Pro	Gly	Met	Asp	Gly
		515					520					525			
Pro	Lys	Ile	Lys	Gln	Trp	Pro	Leu	Thr	Glu	Glu	Lys	Ile	Lys	Ala	Leu
	530					535					540				
Thr	Glu	Ile	Cys	Thr	Glu	Met	Glu	Lys	Glu	Gly	Lys	Ile	Ser	Arg	Ile
545					550					555					560
Gly	Pro	Glu	Asn	Pro	Tyr	Asn	Thr	Pro	Val	Phe	Ala	Ile	Lys	Lys	Lys
			565						570					575	
Asn	Ser	Thr	Arg	Trp	Arg	Lys	Leu	Val	Asp	Phe	Arg	Glu	Leu	Asn	Lys
			580					585					590		
Lys	Thr	Gln	Asp	Phe	Trp	Glu	Val	Gln	Leu	Gly	Ile	Pro	His	Pro	Ala
		595					600					605			
Gly	Leu	Lys	Lys	Lys	Arg	Ser	Val	Thr	Val	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Ala
	610					615					620				
Tyr	Phe	Ser	Val	Pro	Leu	Asp	Lys	Asp	Phe	Arg	Lys	Tyr	Thr	Ala	Phe
625					630					635					640
Thr	Ile	Pro	Ser	Val	Asn	Asn	Glu	Thr	Pro	Gly	Val	Arg	Tyr	Gln	Tyr
				645					650					655	
Asn	Val	Leu	Pro	Gln	Gly	Trp	Lys	Gly	Ser	Pro	Ala	Ile	Phe	Gln	Cys
			660					665					670		
Ser	Met	Thr	Lys	Ile	Leu	Glu	Pro	Phe	Arg	Ala	Gln	Asn	Pro	Glu	Ile
		675					680					685			
Val	Ile	Tyr	Gln	Tyr	Val	Ala	Ala	Leu	Tyr	Val	Gly	Ser	Asp	Leu	Glu

690		695		700
Ile Glu Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Ala His Leu Leu				
705		710		715 720
Ser Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Arg Glu Pro Pro				
		725		730 735
Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Arg Trp Thr Val Gln				
		740		745 750
Pro Ile Glu Leu Pro Glu Lys Glu Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln				
		755		760 765
Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile				
		770		775 780
Lys Val Lys Gln Leu Cys Arg Leu Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr				
		785		790 795 800
Glu Val Ile Pro Leu Thr Lys Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn				
		805		810 815
Arg Glu Ile Leu Arg Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser				
		820		825 830
Lys Asp Leu Val Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Asp Gln Trp Thr				
		835		840 845
Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Tyr Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr				
		850		855 860
Ala Arg Lys Arg Ser Ala His Thr Asn Asp Val Arg Gln Leu Thr Glu				
		865		870 875 880
Ala Val Gln Lys Ile Ala Leu Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Ile				
		885		890 895
Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln Arg Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp				

900	905	910
Thr Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Asp Trp Glu Phe Val Asn 915	920	925
Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile 930	935	940
Ala Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ser Asn Arg Glu Thr 945	950	955
Lys Ile Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Lys Gly Arg Gln Lys Val 965	970	975
Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys Ala Ala Leu Gln Ala Ile 980	985	990
Gln Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Pro Glu Val Asn Ile Val Thr Ala 995	1000	1005
Ser Gln Tyr Val Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Arg Ser 1010	1015	1020
Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Glu Leu Ile Lys Lys 1025	1030	1035
Glu Lys Val Tyr Leu Ser Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly 1040	1045	1050
Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys 1055	1060	1065
Ile Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu 1070	1075	1080
Arg Tyr His Ser Asn Trp Arg Thr Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu 1085	1090	1095
Pro Pro Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Asn Cys Asp Lys Cys		

1100		1105		1110
Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met	His Gly Gln Val Asp	Cys Ser Pro		
1115	1120	1125		
Gly Met Trp Gln Leu Ala Cys	Thr His Leu Glu Gly	Lys Ile Ile		
1130	1135	1140		
Ile Val Ala Val His Val Ala	Ser Gly Tyr Met Glu	Ala Glu Val		
1145	1150	1155		
Ile Pro Ala Glu Thr Gly Gln	Glu Thr Ala Tyr Tyr	Ile Leu Lys		
1160	1165	1170		
Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val	Lys Val Val His Thr	Ala Asn Gly		
1175	1180	1185		
Ser Asn Phe Thr Ser Thr Thr	Val Lys Ala Ala Cys	Trp Trp Ala		
1190	1195	1200		
Asn Val Thr Gln Glu Phe Gly	Ile Pro Tyr Asn Pro	Gln Ser Gln		
1205	1210	1215		
Gly Val Ile Ala Ser Met Asn	Lys Glu Leu Lys Lys	Ile Ile Gly		
1220	1225	1230		
Gln Val Arg Glu Gln Ala Glu	His Leu Lys Thr Ala	Val Gln Met		
1235	1240	1245		
Ala Val Leu Ile His Asn Phe	Lys Arg Arg Gly Gly	Ile Gly Gly		
1250	1255	1260		
Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile	Val Asp Ile Ile Ala	Thr Asp Ile		
1265	1270	1275		
Gln Thr Arg Glu Leu Gln Lys	Gln Ile Ile Lys Ile	Gln Asn Phe		
1280	1285	1290		
Arg Val Tyr Phe Arg Asp Ser	Arg Asp Pro Val Trp	Lys Gly Pro		

1295 1300 1305
 Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp
 1310 1315 1320
 Asn Ser Glu Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile
 1325 1330 1335
 Arg Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Gly
 1340 1345 1350
 Arg Gln Asp Glu Asp Gln
 1355

 <210> 27
 <211> 1497
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp (gagpol1 v4 khảm)

 <400> 27

 Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
 1 5 10 15

 Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
 20 25 30

 His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
 35 40 45

 Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
 50 55 60

 Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
 65 70 75 80

 Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
 85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
 100 105 110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val
 115 120 125

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
 130 135 140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
 145 150 155 160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
 165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
 180 185 190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
 195 200 205

Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
 210 215 220

Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
 225 230 235 240

Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile
 245 250 255

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

Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
 275 280 285

Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 295 300

Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
305 310 315 320

Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
325 330 335

Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
340 345 350

Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
355 360 365

Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
370 375 380

Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
385 390 395 400

Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
405 410 415

Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
420 425 430

Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Asn Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
435 440 445

Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
450 455 460

Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
465 470 475 480

Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
485 490 495

Pro Ser Ser Gln Arg Glu Asn Leu Ala Phe Gln Gln Gly Glu Ala Arg
500 505 510

Glu Phe Pro Ser Glu Gln Thr Arg Ala Asn Ser Pro Thr Ser Arg Glu
 515 520 525

Leu Gln Val Arg Gly Asp Asn Pro His Ser Glu Ala Gly Ala Glu Arg
 530 535 540

Gln Gly Thr Leu Asn Phe Pro Gln Ile Thr Leu Trp Gln Arg Pro Leu
 545 550 555 560

Val Ser Ile Lys Val Gly Gly Gln Ile Arg Glu Ala Leu Leu Ala Thr
 565 570 575

Gly Ala Asp Asp Thr Val Leu Glu Asp Ile Asn Leu Pro Gly Lys Trp
 580 585 590

Lys Pro Lys Met Ile Gly Gly Ile Gly Gly Phe Ile Lys Val Gly Gln
 595 600 605

Tyr Asp Gln Ile Leu Ile Glu Ile Cys Gly Lys Lys Ala Ile Gly Thr
 610 615 620

Val Leu Val Gly Pro Thr Pro Val Asn Ile Ile Gly Arg Asn Met Leu
 625 630 635 640

Thr Gln Leu Gly Cys Thr Leu Asn Phe Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr
 645 650 655

Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln
 660 665 670

Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu
 675 680 685

Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro
 690 695 700

Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp
 705 710 715 720

Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe
725 730 735

Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys
740 745 750

Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro
755 760 765

Leu Asp Glu Gly Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr
770 775 780

Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln
785 790 795 800

Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile
805 810 815

Leu Glu Pro Phe Arg Ala Lys Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr
820 825 830

Met Asp His Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg
835 840 845

Ala Lys Ile Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr
850 855 860

Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly
865 870 875 880

Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro
885 890 895

Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys
900 905 910

Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu
915 920 925

Cys Lys Leu Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu
 930 935 940

Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys
 945 950 955 960

Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala
 965 970 975

Glu Ile Gln Lys Gln Gly His Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln
 980 985 990

Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr
 995 1000 1005

Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys
 1010 1015 1020

Ile Ala Met Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe
 1025 1030 1035

Arg Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Asp
 1040 1045 1050

Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr
 1055 1060 1065

Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Asp Pro Ile
 1070 1075 1080

Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu
 1085 1090 1095

Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly Arg Gln
 1100 1105 1110

Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu
 1115 1120 1125

Gln	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ala	Leu	Gln	Asp	Ser	Gly	Ser	Glu	Val	Asn
1130						1135					1140			
Ile	Val	Thr	Asp	Ser	Gln	Tyr	Ala	Leu	Gly	Ile	Ile	Gln	Ala	Gln
1145						1150					1155			
Pro	Asp	Lys	Ser	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Asn	Gln	Ile	Ile	Glu	Gln
1160						1165					1170			
Leu	Ile	Lys	Lys	Glu	Arg	Val	Tyr	Leu	Ser	Trp	Val	Pro	Ala	His
1175						1180					1185			
Lys	Gly	Ile	Gly	Gly	Asn	Glu	Gln	Val	Asp	Lys	Leu	Val	Ser	Ser
1190						1195					1200			
Gly	Ile	Arg	Lys	Val	Leu	Phe	Leu	Asp	Gly	Ile	Asp	Lys	Ala	Gln
1205						1210					1215			
Glu	Glu	His	Glu	Lys	Tyr	His	Ser	Asn	Trp	Arg	Ala	Met	Ala	Ser
1220						1225					1230			
Asp	Phe	Asn	Leu	Pro	Pro	Val	Val	Ala	Lys	Glu	Ile	Val	Ala	Ser
1235						1240					1245			
Cys	Asp	Gln	Cys	Gln	Leu	Lys	Gly	Glu	Ala	Met	His	Gly	Gln	Val
1250						1255					1260			
Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile	Trp	Gln	Leu	Ala	Cys	Thr	His	Leu	Glu
1265						1270					1275			
Gly	Lys	Ile	Ile	Leu	Val	Ala	Val	His	Val	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile
1280						1285					1290			
Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro	Ala	Glu	Thr	Gly	Gln	Glu	Thr	Ala	Tyr
1295						1300					1305			
Phe	Ile	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly	Arg	Trp	Pro	Val	Lys	Val	Ile	His
1310						1315					1320			

Thr Asp Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Ala Val Lys Ala Ala
 1325 1330 1335

Cys Trp Trp Ala Gly Ile Gln Gln Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn
 1340 1345 1350

Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Glu Ser Met Asn Lys Glu Leu Lys
 1355 1360 1365

Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr
 1370 1375 1380

Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly
 1385 1390 1395

Gly Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile Asp Ile Ile
 1400 1405 1410

Ala Thr Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Ile Lys
 1415 1420 1425

Ile Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Ile
 1430 1435 1440

Trp Lys Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val
 1445 1450 1455

Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys
 1460 1465 1470

Val Lys Ile Ile Lys Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Ala Asp
 1475 1480 1485

Cys Val Ala Gly Arg Gln Asp Glu Asp
 1490 1495

<210> 28
 <211> 1492
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (gagpol2 v4 khảm)

<400> 28

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln
100 105 110

Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn
115 120 125

Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile
130 135 140

Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala
145 150 155 160

Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Thr Ala Leu Ser Glu Gly Ala
165 170 175

Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln

180	185	190
Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Asp Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu		
195	200	205
Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Val Ala Pro Gly Gln		
210	215	220
Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Asn Leu		
225	230	235
Gln Glu Gln Ile Ala Trp Met Thr Ser Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly		
	245	250
Asp Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg		
	260	265
Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Lys Gln Gly Pro Lys Glu		
	275	280
Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Thr Leu Arg Ala Glu		
	290	295
Gln Ala Thr Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Asp Thr Leu Leu Val		
305	310	315
Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Arg Ala Leu Gly Pro		
	325	330
Gly Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly		
	340	345
Pro Ser His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln Thr Asn		
	355	360
Ser Thr Ile Leu Met Gln Arg Ser Asn Phe Lys Gly Ser Lys Arg Ile		
	370	375
Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys		

385					390					395					400
Arg	Ala	Pro	Arg	Lys 405	Lys	Gly	Cys	Trp	Lys 410	Cys	Gly	Lys	Glu	Gly 415	His
Gln	Met	Lys	Asp 420	Cys	Thr	Glu	Arg	Gln 425	Ala	Asn	Phe	Leu	Gly 430	Lys	Ile
Trp	Pro	Ser 435	His	Lys	Gly	Arg	Pro 440	Gly	Asn	Phe	Leu	Gln 445	Ser	Arg	Pro
Glu	Pro 450	Thr	Ala	Pro	Pro	Ala 455	Glu	Ser	Phe	Arg	Phe 460	Glu	Glu	Thr	Thr
Pro 465	Ala	Pro	Lys	Gln	Glu 470	Pro	Lys	Asp	Arg	Glu 475	Pro	Leu	Thr	Ser	Leu 480
Arg	Ser	Leu	Phe 485	Gly	Ser	Asp	Pro	Leu	Ser 490	Gln	Arg	Glu	Asn	Leu 495	Ala
Phe	Pro	Gln	Gly 500	Lys	Ala	Arg	Glu	Phe 505	Ser	Ser	Glu	Gln	Thr 510	Arg	Ala
Asn	Ser	Pro 515	Thr	Arg	Arg	Glu	Leu 520	Gln	Val	Trp	Gly 525	Arg	Asp	Asn	Asn
Ser	Leu 530	Ser	Glu	Ala	Gly 535	Ala	Asp	Arg	Gln	Gly 540	Thr	Val	Ser	Phe	Ser
Phe 545	Pro	Gln	Ile	Thr	Leu 550	Trp	Gln	Arg	Pro	Leu 555	Val	Thr	Ile	Lys	Ile 560
Gly	Gly	Gln	Leu	Lys 565	Glu	Ala	Leu	Leu	Ala 570	Thr	Gly	Ala	Asp	Asp 575	Thr
Val	Leu	Glu	Glu 580	Met	Asn	Leu	Pro	Gly 585	Arg	Trp	Lys	Pro	Lys 590	Met	Ile
Gly	Gly	Ile	Gly	Gly	Phe	Ile	Lys	Val	Gly	Gln	Tyr	Asp	Gln	Ile	Pro

595		600		605
Ile Glu Ile Cys Gly His Lys Ala Ile Gly Thr Val Leu Val Gly Pro				
610		615		620
Thr Pro Val Asn Ile Ile Gly Arg Asn Leu Leu Thr Gln Ile Gly Cys				
625		630		635 640
Thr Leu Asn Phe Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu				
	645		650	655
Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu				
	660		665	670
Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu				
	675		680	685
Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile				
	690		695	700
Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp				
705		710		715 720
Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu				
	725		730	735
Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val				
	740		745	750
Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe				
	755		760	765
Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro				
	770		775	780
Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser				
785		790		795 800
Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg				

				805					810					815			
Lys	Gln	Asn	Pro	Asp	Ile	Val	Ile	Tyr	Gln	Tyr	Met	Asp	His	Leu	Tyr		
			820					825					830				
Val	Gly	Ser	Asp	Leu	Glu	Ile	Gly	Gln	His	Arg	Thr	Lys	Ile	Glu	Glu		
		835					840					845					
Leu	Arg	Gln	His	Leu	Leu	Arg	Trp	Gly	Phe	Thr	Thr	Pro	Asp	Lys	Lys		
	850					855					860						
His	Gln	Lys	Glu	Pro	Pro	Phe	Leu	Trp	Met	Gly	Tyr	Glu	Leu	His	Pro		
865					870					875					880		
Asp	Lys	Trp	Thr	Val	Gln	Pro	Ile	Val	Leu	Pro	Glu	Lys	Asp	Ser	Trp		
				885					890					895			
Thr	Val	Asn	Asp	Ile	Gln	Lys	Leu	Val	Gly	Lys	Leu	Asn	Trp	Ala	Ser		
		900						905					910				
Gln	Ile	Tyr	Ala	Gly	Ile	Lys	Val	Lys	Gln	Leu	Cys	Lys	Leu	Leu	Arg		
		915					920					925					
Gly	Thr	Lys	Ala	Leu	Thr	Glu	Val	Val	Pro	Leu	Thr	Glu	Glu	Ala	Glu		
	930					935					940						
Leu	Glu	Leu	Ala	Glu	Asn	Arg	Glu	Ile	Leu	Lys	Glu	Pro	Val	His	Gly		
945					950					955					960		
Val	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Ser	Lys	Asp	Leu	Ile	Ala	Glu	Ile	Gln	Lys	Gln		
				965					970					975			
Gly	Gln	Gly	Gln	Trp	Thr	Tyr	Gln	Ile	Tyr	Gln	Glu	Pro	Phe	Lys	Asn		
			980				985						990				
Leu	Lys	Thr	Gly	Lys	Tyr	Ala	Arg	Met	Arg	Gly	Ala	His	Thr	Asn	Asp		
		995					1000					1005					
Val	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Ala	Val	Gln	Lys	Ile	Ala	Thr	Glu	Ser			

1010		1015		1020
Ile Val	Ile Trp Gly Lys	Thr Pro Lys Phe Lys	Leu Pro Ile Gln	
1025		1030	1035	
Lys Glu	Thr Trp Glu Ala	Trp Trp Thr Glu Tyr	Trp Gln Ala Thr	
1040		1045	1050	
Trp Ile	Pro Glu Trp Glu	Phe Val Asn Thr Pro	Pro Leu Val Lys	
1055		1060	1065	
Leu Trp	Tyr Gln Leu Glu	Lys Glu Pro Ile Val	Gly Ala Glu Thr	
1070		1075	1080	
Phe Tyr	Val Asp Gly Ala	Ala Asn Arg Glu Thr	Lys Leu Gly Lys	
1085		1090	1095	
Ala Gly	Tyr Val Thr Asp	Arg Gly Arg Gln Lys	Val Val Ser Leu	
1100		1105	1110	
Thr Asp	Thr Thr Asn Gln	Lys Thr Glu Leu Gln	Ala Ile His Leu	
1115		1120	1125	
Ala Leu	Gln Asp Ser Gly	Leu Glu Val Asn Ile	Val Thr Asp Ser	
1130		1135	1140	
Gln Tyr	Ala Leu Gly Ile	Ile Gln Ala Gln Pro	Asp Lys Ser Glu	
1145		1150	1155	
Ser Glu	Leu Val Ser Gln	Ile Ile Glu Gln Leu	Ile Lys Lys Glu	
1160		1165	1170	
Lys Val	Tyr Leu Ala Trp	Val Pro Ala His Lys	Gly Ile Gly Gly	
1175		1180	1185	
Asn Glu	Gln Val Asp Lys	Leu Val Ser Arg Gly	Ile Arg Lys Val	
1190		1195	1200	
Leu Phe	Leu Asp Gly Ile	Asp Lys Ala Gln Glu	Glu His Glu Lys	

1205		1210		1215
Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Glu Phe Asn Leu Pro				
1220		1225		1230
Pro Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln				
1235		1240		1245
Leu Lys Gly Glu Ala Ile His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly				
1250		1255		1260
Ile Trp Gln Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu				
1265		1270		1275
Val Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile				
1280		1285		1290
Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu				
1295		1300		1305
Ala Gly Arg Trp Pro Val Lys Thr Ile His Thr Asp Asn Gly Ser				
1310		1315		1320
Asn Phe Thr Ser Ala Thr Val Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly				
1325		1330		1335
Ile Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly				
1340		1345		1350
Val Val Glu Ser Ile Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln				
1355		1360		1365
Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala				
1370		1375		1380
Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Glu Tyr				
1385		1390		1395
Ser Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser Asp Ile Gln				

```

1400                               1405                               1410
Thr Lys  Glu Leu Gln Lys Gln  Ile Thr Lys Ile Gln  Asn Phe Arg
1415                               1420                               1425

Val Tyr  Tyr Arg Asp Ser Arg  Asp Pro Leu Trp Lys  Gly Pro Ala
1430                               1435                               1440

Lys Leu  Leu Trp Lys Gly Glu  Gly Ala Val Val Ile  Gln Asp Asn
1445                               1450                               1455

Ser Asp  Ile Lys Val Val Pro  Arg Arg Lys Ala Lys  Ile Ile Arg
1460                               1465                               1470

Asp Tyr  Gly Lys Gln Met Ala  Gly Asp Asp Cys Val  Ala Ser Arg
1475                               1480                               1485

Gln Asp  Glu Asp
1490

<210>  29
<211>  1350
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo

<220>
<223>  Cấu trúc tổng hợp (gagpol1 v5 khản).

<400>  29

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1          5          10          15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
          20          25          30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
          35          40          45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
50          55          60

```

Gln	Pro	Ser	Leu	Gln	Thr	Gly	Ser	Glu	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Tyr	Asn	
65					70					75					80	
Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Tyr	Cys	Val	His	Gln	Arg	Ile	Glu	Ile	Lys	Asp	
				85					90					95		
Thr	Lys	Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Ile	Glu	Glu	Glu	Gln	Asn	Lys	Ser	Lys	
			100					105					110			
Lys	Lys	Ala	Gln	Gln	Ala	Ala	Ala	Asp	Thr	Gly	Asn	Ser	Ser	Gln	Val	
		115						120				125				
Ser	Gln	Asn	Tyr	Pro	Ile	Val	Gln	Asn	Ile	Gln	Gly	Gln	Met	Val	His	
	130					135					140					
Gln	Ala	Ile	Ser	Pro	Arg	Thr	Leu	Asn	Ala	Trp	Val	Lys	Val	Val	Glu	
145					150					155					160	
Glu	Lys	Ala	Phe	Ser	Pro	Glu	Val	Ile	Pro	Met	Phe	Ser	Ala	Leu	Ser	
				165					170					175		
Glu	Gly	Ala	Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Met	Leu	Asn	Thr	Val	Gly	
			180					185					190			
Gly	His	Gln	Ala	Ala	Met	Gln	Met	Leu	Lys	Glu	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu	
		195					200					205				
Ala	Ala	Glu	Trp	Asp	Arg	Val	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Ile	Ala	
	210					215					220					
Pro	Gly	Gln	Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr	
225					230					235					240	
Ser	Thr	Leu	Gln	Glu	Gln	Ile	Gly	Trp	Met	Thr	Asn	Asn	Pro	Pro	Ile	
				245					250					255		
Pro	Val	Gly	Glu	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys	
			260					265					270			

Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
 275 280 285

Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 295 300

Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320

Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
 325 330 335

Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
 340 345 350

Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365

Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
 370 375 380

Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400

Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415

Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430

Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Asn Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445

Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
 450 455 460

Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480

Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
 485 490 495

Pro Ser Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val
 500 505 510

Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro Leu
 515 520 525

Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met Glu
 530 535 540

Lys Glu Gly Lys Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr
 545 550 555 560

Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu
 565 570 575

Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val
 580 585 590

Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val
 595 600 605

Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu
 610 615 620

Gly Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu
 625 630 635 640

Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys
 645 650 655

Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro
 660 665 670

Phe Arg Ala Lys Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Asp His
 675 680 685

Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile
690 695 700

Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp
705 710 715 720

Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu
725 730 735

His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp
740 745 750

Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp
755 760 765

Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu
770 775 780

Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu
785 790 795 800

Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val
805 810 815

His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln
820 825 830

Lys Gln Gly His Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe
835 840 845

Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr
850 855 860

Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met Glu
865 870 875 880

Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln
885 890 895

Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp
 900 905 910

Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp
 915 920 925

Tyr Gln Leu Glu Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val
 930 935 940

Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val
 945 950 955 960

Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn
 965 970 975

Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly
 980 985 990

Ser Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile
 995 1000 1005

Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile
 1010 1015 1020

Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val
 1025 1030 1035

Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu
 1040 1045 1050

Val Ser Ser Gly Ile Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp
 1055 1060 1065

Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala
 1070 1075 1080

Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile
 1085 1090 1095

Val	Ala	Ser	Cys	Asp	Gln	Cys	Gln	Leu	Lys	Gly	Glu	Ala	Met	His
1100						1105					1110			
Gly	Gln	Val	Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile	Trp	Gln	Leu	Ala	Cys	Thr
1115						1120					1125			
His	Leu	Glu	Gly	Lys	Ile	Ile	Leu	Val	Ala	Val	His	Val	Ala	Ser
1130						1135					1140			
Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro	Ala	Glu	Thr	Gly	Gln	Glu
1145						1150					1155			
Thr	Ala	Tyr	Phe	Ile	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly	Arg	Trp	Pro	Val	Lys
1160						1165					1170			
Val	Ile	His	Thr	Asp	Asn	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Ser	Ala	Ala	Val
1175						1180					1185			
Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile	Gln	Gln	Glu	Phe	Gly	Ile
1190						1195					1200			
Pro	Tyr	Asn	Pro	Gln	Ser	Gln	Gly	Val	Val	Glu	Ser	Met	Asn	Lys
1205						1210					1215			
Glu	Leu	Lys	Lys	Ile	Ile	Gly	Gln	Val	Arg	Asp	Gln	Ala	Glu	His
1220						1225					1230			
Leu	Lys	Thr	Ala	Val	Gln	Met	Ala	Val	Phe	Ile	His	Asn	Phe	Lys
1235						1240					1245			
Arg	Lys	Gly	Gly	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ser	Ala	Gly	Glu	Arg	Ile	Ile
1250						1255					1260			
Asp	Ile	Ile	Ala	Thr	Asp	Ile	Gln	Thr	Lys	Glu	Leu	Gln	Lys	Gln
1265						1270					1275			
Ile	Ile	Lys	Ile	Gln	Asn	Phe	Arg	Val	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Arg
1280						1285					1290			

Asp Pro Ile Trp Lys Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu
1295 1300 1305

Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro
1310 1315 1320

Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile Lys Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala
1325 1330 1335

Gly Ala Asp Cys Val Ala Gly Arg Gln Asp Glu Asp
1340 1345 1350

<210> 30

<211> 1341

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp (gagpol2 v5 khảm)

<400> 30

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln

100	105	110
Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn		
115	120	125
Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile		
130	135	140
Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala		
145	150	155 160
Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Thr Ala Leu Ser Glu Gly Ala		
165	170	175
Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln		
180	185	190
Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Asp Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu		
195	200	205
Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Val Ala Pro Gly Gln		
210	215	220
Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Asn Leu		
225	230	235 240
Gln Glu Gln Ile Ala Trp Met Thr Ser Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly		
245	250	255
Asp Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg		
260	265	270
Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Lys Gln Gly Pro Lys Glu		
275	280	285
Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Thr Leu Arg Ala Glu		
290	295	300
Gln Ala Thr Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Asp Thr Leu Leu Val		

305					310					315					320
Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro
				325					330					335	
Gly	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Met	Met	Thr	Ala	Cys	Gln	Gly	Val	Gly	Gly
			340					345					350		
Pro	Ser	His	Lys	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Ser	Gln	Thr	Asn
		355					360					365			
Ser	Thr	Ile	Leu	Met	Gln	Arg	Ser	Asn	Phe	Lys	Gly	Ser	Lys	Arg	Ile
	370					375					380				
Val	Lys	Cys	Phe	Asn	Cys	Gly	Lys	Glu	Gly	His	Ile	Ala	Arg	Asn	Cys
385					390					395					400
Arg	Ala	Pro	Arg	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Lys	Cys	Gly	Lys	Glu	Gly	His
				405					410					415	
Gln	Met	Lys	Asp	Cys	Thr	Glu	Arg	Gln	Ala	Asn	Phe	Leu	Gly	Lys	Ile
			420					425					430		
Trp	Pro	Ser	His	Lys	Gly	Arg	Pro	Gly	Asn	Phe	Leu	Gln	Ser	Arg	Pro
		435					440					445			
Glu	Pro	Thr	Ala	Pro	Pro	Ala	Glu	Ser	Phe	Arg	Phe	Glu	Glu	Thr	Thr
	450					455					460				
Pro	Ala	Pro	Lys	Gln	Glu	Pro	Lys	Asp	Arg	Glu	Pro	Leu	Thr	Ser	Leu
465					470					475					480
Arg	Ser	Leu	Phe	Gly	Ser	Asp	Pro	Leu	Ser	Gln	Met	Ala	Pro	Ile	Ser
				485					490					495	
Pro	Ile	Glu	Thr	Val	Pro	Val	Lys	Leu	Lys	Pro	Gly	Met	Asp	Gly	Pro
			500					505					510		
Lys	Val	Lys	Gln	Trp	Pro	Leu	Thr	Glu	Glu	Lys	Ile	Lys	Ala	Leu	Val

515		520		525
Glu Ile Cys Thr Glu Met	Glu Lys Glu Gly Lys	Ile Ser Lys Ile Gly		
530	535	540		
Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr	Pro Ile Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp			
545	550	555		560
Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val	Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg			
	565	570		575
Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile	Pro His Pro Ala Gly			
	580	585		590
Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr				
	595	600		605
Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr				
	610	615		620
Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn				
625	630	635		640
Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser				
	645	650		655
Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val				
	660	665		670
Ile Tyr Gln Tyr Met Asp His Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile				
	675	680		685
Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg				
	690	695		700
Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe				
705	710	715		720
Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro				

[illegible]

930		935		940
Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Val Val				
945		950	955	960
Ser Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile His				
	965		970	975
Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser				
	980		985	990
Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser				
	995		1000	1005
Glu Leu Val Ser Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys				
	1010		1015	1020
Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn				
	1025		1030	1035
Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Arg Gly Ile Arg Lys Val Leu				
	1040		1045	1050
Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr				
	1055		1060	1065
His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Glu Phe Asn Leu Pro Pro				
	1070		1075	1080
Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln Leu				
	1085		1090	1095
Lys Gly Glu Ala Ile His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile				
	1100		1105	1110
Trp Gln Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val				
	1115		1120	1125
Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro				

1130		1135		1140
Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr	Ala Tyr Phe Leu Leu	Lys Leu Ala		
1145	1150	1155		
Gly Arg Trp Pro Val Lys Thr	Ile His Thr Asp Asn	Gly Ser Asn		
1160	1165	1170		
Phe Thr Ser Ala Thr Val Lys	Ala Ala Cys Trp Trp	Ala Gly Ile		
1175	1180	1185		
Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro	Tyr Asn Pro Gln Ser	Gln Gly Val		
1190	1195	1200		
Val Glu Ser Ile Asn Lys Glu	Leu Lys Lys Ile Ile	Gly Gln Val		
1205	1210	1215		
Arg Asp Gln Ala Glu His Leu	Lys Thr Ala Val Gln	Met Ala Val		
1220	1225	1230		
Phe Ile His Asn Phe Lys Arg	Lys Gly Gly Ile Gly	Glu Tyr Ser		
1235	1240	1245		
Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp	Ile Ile Ala Ser Asp	Ile Gln Thr		
1250	1255	1260		
Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile	Thr Lys Ile Gln Asn	Phe Arg Val		
1265	1270	1275		
Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp	Pro Leu Trp Lys Gly	Pro Ala Lys		
1280	1285	1290		
Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly	Ala Val Val Ile Gln	Asp Asn Ser		
1295	1300	1305		
Asp Ile Lys Val Val Pro Arg	Arg Lys Ala Lys Ile	Ile Arg Asp		
1310	1315	1320		
Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly	Asp Asp Cys Val Ala	Ser Arg Gln		

1325

1330

1335

Asp Glu Asp
1340

<210> 31
<211> 1556
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp (gagpolnef1 khảm)

<400> 31

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
100 105 110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val
115 120 125

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
130 135 140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
145 150 155 160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
180 185 190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
195 200 205

Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
210 215 220

Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
225 230 235 240

Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile
245 250 255

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

Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
275 280 285

Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
290 295 300

Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
305 310 315 320

Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
325 330 335

Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
340 345 350

Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365

Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
 370 375 380

Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400

Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415

Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430

Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Asn Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445

Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
 450 455 460

Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480

Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
 485 490 495

Pro Ser Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val
 500 505 510

Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro Leu
 515 520 525

Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met Glu
 530 535 540

Lys Glu Gly Lys Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr
 545 550 555 560

Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu
565 570 575

Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val
580 585 590

Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val
595 600 605

Thr Val Leu Ala Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu
610 615 620

Gly Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu
625 630 635 640

Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys
645 650 655

Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro
660 665 670

Phe Arg Ala Lys Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala
675 680 685

Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile
690 695 700

Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp
705 710 715 720

Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu
725 730 735

His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp
740 745 750

Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp
755 760 765

Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu
 770 775 780

Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu
 785 790 795 800

Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val
 805 810 815

His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln
 820 825 830

Lys Gln Gly His Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe
 835 840 845

Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr
 850 855 860

Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met Glu
 865 870 875 880

Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln
 885 890 895

Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp
 900 905 910

Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp
 915 920 925

Tyr Gln Leu Glu Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val
 930 935 940

Ala Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val
 945 950 955 960

Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn
 965 970 975

Gln Lys Thr Ala Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly
 980 985 990

Ser Glu Val Asn Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile
 995 1000 1005

Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile
 1010 1015 1020

Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val
 1025 1030 1035

Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu
 1040 1045 1050

Val Ser Ser Gly Ile Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp
 1055 1060 1065

Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala
 1070 1075 1080

Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile
 1085 1090 1095

Val Ala Ser Cys Asp Gln Cys Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His
 1100 1105 1110

Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln Leu Ala Cys Thr
 1115 1120 1125

His Leu Glu Gly Lys Ile Ile Leu Val Ala Val His Val Ala Ser
 1130 1135 1140

Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu
 1145 1150 1155

Thr Ala Tyr Phe Ile Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val Lys
 1160 1165 1170

Val	Ile	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Ser	Ala	Ala	Val
1175						1180					1185			
Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile	Gln	Gln	Glu	Phe	Gly	Ile
1190						1195					1200			
Pro	Tyr	Asn	Pro	Gln	Ser	Gln	Gly	Val	Val	Ala	Ser	Met	Asn	Lys
1205						1210					1215			
Glu	Leu	Lys	Lys	Ile	Ile	Gly	Gln	Val	Arg	Asp	Gln	Ala	Glu	His
1220						1225					1230			
Leu	Lys	Thr	Ala	Val	Gln	Met	Ala	Val	Phe	Ile	His	Asn	Phe	Lys
1235						1240					1245			
Arg	Lys	Gly	Gly	Ile	Gly	Gly	Tyr	Ser	Ala	Gly	Glu	Arg	Ile	Ile
1250						1255					1260			
Asp	Ile	Ile	Ala	Thr	Asp	Ile	Gln	Thr	Lys	Glu	Leu	Gln	Lys	Gln
1265						1270					1275			
Ile	Ile	Lys	Ile	Gln	Asn	Phe	Arg	Val	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Arg
1280						1285					1290			
Asp	Pro	Ile	Trp	Lys	Gly	Pro	Ala	Lys	Leu	Leu	Trp	Lys	Gly	Glu
1295						1300					1305			
Gly	Ala	Val	Val	Ile	Gln	Asp	Asn	Ser	Asp	Ile	Lys	Val	Val	Pro
1310						1315					1320			
Arg	Arg	Lys	Val	Lys	Ile	Ile	Lys	Asp	Tyr	Gly	Lys	Gln	Met	Ala
1325						1330					1335			
Gly	Ala	Asp	Cys	Val	Ala	Gly	Arg	Gln	Asp	Glu	Asp	Met	Ala	Gly
1340						1345					1350			
Lys	Trp	Ser	Lys	Ser	Ser	Val	Val	Gly	Trp	Pro	Ala	Ile	Arg	Glu
1355						1360					1365			

Arg	Met	Arg	Arg	Ala	Glu	Pro	Ala	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Ala	Val
	1370					1375					1380			
Ser	Arg	Asp	Leu	Glu	Lys	His	Gly	Ala	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Thr
	1385					1390					1395			
Ala	Ala	Asn	Asn	Ala	Asp	Cys	Ala	Trp	Leu	Glu	Ala	Gln	Glu	Glu
	1400					1405					1410			
Glu	Glu	Val	Gly	Phe	Pro	Val	Arg	Pro	Gln	Val	Pro	Leu	Arg	Pro
	1415					1420					1425			
Met	Thr	Tyr	Lys	Gly	Ala	Leu	Asp	Leu	Ser	His	Phe	Leu	Lys	Glu
	1430					1435					1440			
Lys	Gly	Gly	Leu	Glu	Gly	Leu	Ile	Tyr	Ser	Gln	Lys	Arg	Gln	Asp
	1445					1450					1455			
Ile	Leu	Asp	Leu	Trp	Val	Tyr	His	Thr	Gln	Gly	Tyr	Phe	Pro	Asp
	1460					1465					1470			
Trp	Gln	Asn	Tyr	Thr	Pro	Gly	Pro	Gly	Ile	Arg	Tyr	Pro	Leu	Thr
	1475					1480					1485			
Phe	Gly	Trp	Cys	Phe	Lys	Leu	Val	Pro	Val	Glu	Pro	Glu	Lys	Ile
	1490					1495					1500			
Glu	Glu	Ala	Asn	Glu	Gly	Glu	Asn	Asn	Ser	Leu	Leu	His	Pro	Met
	1505					1510					1515			
Ser	Gln	His	Gly	Met	Asp	Asp	Pro	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Met	Trp
	1520					1525					1530			
Lys	Phe	Asp	Ser	Arg	Leu	Ala	Phe	His	His	Met	Ala	Arg	Glu	Leu
	1535					1540					1545			
His	Pro	Glu	Tyr	Tyr	Lys	Asp	Cys							
	1550					1555								

<210> 32
 <211> 1547
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp (gagpolnef2 khám)

<400> 32

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp
 1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys
 20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
 35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu
 50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn
 65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
 85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln
 100 105 110

Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn
 115 120 125

Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile
 130 135 140

Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Thr Ala Leu Ser Glu Gly Ala

				165						170						175
Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Met	Leu	Asn	Thr	Val	Gly	Gly	His	Gln	
			180					185					190			
Ala	Ala	Met	Gln	Met	Leu	Lys	Asp	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu	Ala	Ala	Glu	
		195					200					205				
Trp	Asp	Arg	Leu	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	
	210						215					220				
Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr	Ser	Asn	Leu	
225					230					235					240	
Gln	Glu	Gln	Ile	Ala	Trp	Met	Thr	Ser	Asn	Pro	Pro	Ile	Pro	Val	Gly	
				245					250					255		
Asp	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys	Ile	Val	Arg	
			260					265					270			
Met	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Lys	Gln	Gly	Pro	Lys	Glu	
		275					280					285				
Pro	Phe	Arg	Asp	Tyr	Val	Asp	Arg	Phe	Phe	Lys	Thr	Leu	Arg	Ala	Glu	
	290					295					300					
Gln	Ala	Thr	Gln	Asp	Val	Lys	Asn	Trp	Met	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Val	
305					310					315					320	
Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	
				325					330					335		
Gly	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Met	Met	Thr	Ala	Cys	Gln	Gly	Val	Gly	Gly	
			340					345					350			
Pro	Ser	His	Lys	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Ser	Gln	Thr	Asn	
		355					360					365				
Ser	Thr	Ile	Leu	Met	Gln	Arg	Ser	Asn	Phe	Lys	Gly	Ser	Lys	Arg	Ile	

370		375		380
Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys				
385		390		400
Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His				
	405		410	415
Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile				
	420		425	430
Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro				
	435		440	445
Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe Glu Glu Thr Thr				
	450		455	460
Pro Ala Pro Lys Gln Glu Pro Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser Leu				
465		470		475
Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp Pro Leu Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser				
	485		490	495
Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro				
	500		505	510
Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val				
	515		520	525
Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly				
	530		535	540
Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp				
545		550		555
Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg				
	565		570	575
Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly				

580	585	590
Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala Val Gly Asp Ala Tyr		
595	600	605
Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr		
610	615	620
Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn		
625	630	635
Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser		
	645	650
Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val		
	660	665
Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile		
	675	680
Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg		
	690	700
Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe		
705	710	715
Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro		
	725	730
Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys		
	740	745
Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys		
	755	760
Val Lys Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu		
	770	775
Val Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg		

785						790						795						800
Glu	Ile	Leu	Lys	Glu	Pro	Val	His	Gly	Val	Tyr	Tyr	Asp	Pro	Ser	Lys			
				805					810					815				
Asp	Leu	Ile	Ala	Glu	Ile	Gln	Lys	Gln	Gly	Gln	Gly	Gln	Trp	Thr	Tyr			
			820					825					830					
Gln	Ile	Tyr	Gln	Glu	Pro	Phe	Lys	Asn	Leu	Lys	Thr	Gly	Lys	Tyr	Ala			
		835					840					845						
Arg	Met	Arg	Gly	Ala	His	Thr	Asn	Asp	Val	Lys	Gln	Leu	Thr	Glu	Ala			
	850					855					860							
Val	Gln	Lys	Ile	Ala	Thr	Glu	Ser	Ile	Val	Ile	Trp	Gly	Lys	Thr	Pro			
865					870					875					880			
Lys	Phe	Lys	Leu	Pro	Ile	Gln	Lys	Glu	Thr	Trp	Glu	Ala	Trp	Trp	Thr			
				885					890					895				
Glu	Tyr	Trp	Gln	Ala	Thr	Trp	Ile	Pro	Glu	Trp	Glu	Phe	Val	Asn	Thr			
			900					905					910					
Pro	Pro	Leu	Val	Lys	Leu	Trp	Tyr	Gln	Leu	Glu	Lys	Glu	Pro	Ile	Val			
		915					920					925						
Gly	Ala	Glu	Thr	Phe	Tyr	Val	Ala	Gly	Ala	Ala	Asn	Arg	Glu	Thr	Lys			
	930					935					940							
Leu	Gly	Lys	Ala	Gly	Tyr	Val	Thr	Asp	Arg	Gly	Arg	Gln	Lys	Val	Val			
945					950					955					960			
Ser	Leu	Thr	Asp	Thr	Thr	Asn	Gln	Lys	Thr	Ala	Leu	Gln	Ala	Ile	His			
				965					970					975				
Leu	Ala	Leu	Gln	Asp	Ser	Gly	Leu	Glu	Val	Asn	Ile	Val	Thr	Ala	Ser			
			980					985					990					
Gln	Tyr	Ala	Leu	Gly	Ile	Ile	Gln	Ala	Gln	Pro	Asp	Lys	Ser	Glu	Ser			

995					1000					1005				
Glu	Leu	Val	Ser	Gln	Ile	Ile	Glu	Gln	Leu	Ile	Lys	Lys	Glu	Lys
1010					1015					1020				
Val	Tyr	Leu	Ala	Trp	Val	Pro	Ala	His	Lys	Gly	Ile	Gly	Gly	Asn
1025					1030					1035				
Glu	Gln	Val	Asp	Lys	Leu	Val	Ser	Arg	Gly	Ile	Arg	Lys	Val	Leu
1040					1045					1050				
Phe	Leu	Asp	Gly	Ile	Asp	Lys	Ala	Gln	Glu	Glu	His	Glu	Lys	Tyr
1055					1060					1065				
His	Ser	Asn	Trp	Arg	Ala	Met	Ala	Ser	Glu	Phe	Asn	Leu	Pro	Pro
1070					1075					1080				
Ile	Val	Ala	Lys	Glu	Ile	Val	Ala	Ser	Cys	Asp	Lys	Cys	Gln	Leu
1085					1090					1095				
Lys	Gly	Glu	Ala	Ile	His	Gly	Gln	Val	Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile
1100					1105					1110				
Trp	Gln	Leu	Ala	Cys	Thr	His	Leu	Glu	Gly	Lys	Val	Ile	Leu	Val
1115					1120					1125				
Ala	Val	His	Val	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro
1130					1135					1140				
Ala	Glu	Thr	Gly	Gln	Glu	Thr	Ala	Tyr	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala
1145					1150					1155				
Gly	Arg	Trp	Pro	Val	Lys	Thr	Ile	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Ser	Asn
1160					1165					1170				
Phe	Thr	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile
1175					1180					1185				
Lys	Gln	Glu	Phe	Gly	Ile	Pro	Tyr	Asn	Pro	Gln	Ser	Gln	Gly	Val

1190		1195		1200
Val Ala Ser Ile Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val				
1205		1210		1215
Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val				
1220		1225		1230
Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Glu Tyr Ser				
1235		1240		1245
Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser Asp Ile Gln Thr				
1250		1255		1260
Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val				
1265		1270		1275
Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro Ala Lys				
1280		1285		1290
Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser				
1295		1300		1305
Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp				
1310		1315		1320
Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln				
1325		1330		1335
Asp Glu Asp Met Ala Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Ile Val Gly				
1340		1345		1350
Trp Pro Ala Val Arg Glu Arg Ile Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala				
1355		1360		1365
Glu Gly Val Gly Ala Ala Ser Gln Asp Leu Asp Lys Tyr Gly Ala				
1370		1375		1380
Leu Thr Ser Ser Asn Thr Ala Ala Thr Asn Ala Asp Cys Ala Trp				

1385		1390		1395
Leu Glu Ala Gln Glu Asp Glu Glu Val Gly Phe Pro Val Lys Pro				
1400		1405		1410
Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala Ala Phe Asp Leu				
1415		1420		1425
Ser Phe Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Asp Gly Leu Ile Tyr				
1430		1435		1440
Ser Lys Lys Arg Gln Glu Ile Leu Asp Leu Trp Val Tyr Asn Thr				
1445		1450		1455
Gln Gly Phe Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly				
1460		1465		1470
Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe Lys Leu Val Pro				
1475		1480		1485
Val Asp Pro Arg Glu Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu Asn Asn				
1490		1495		1500
Cys Leu Leu His Pro Met Asn Leu His Gly Met Asp Asp Pro Glu				
1505		1510		1515
Arg Glu Val Leu Val Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His				
1520		1525		1530
His Met Ala Arg Glu Lys His Pro Glu Tyr Tyr Lys Asn Cys				
1535		1540		1545

Fig.1A

Phiên bản 1 Env1 gp140 khảm (mEnv) (SEQ ID NO:1)

MRVTGIRKNYQHLWRWGTMLLGILMICSAAGKLWVTVYYGVPV
 WKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNWATHACVPTDPNPQEVVLE
 NVTENFNMWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLN
 CTDDVRNVTNNATNTNSSWGEPMEKGEIKNCSEFNITTSIRNKV
 OKQYALFYKLDVVPIDNDSNNTNYRLISCNTSVITQACPKVSF
 EPIPIHYCAPAGFAILKCNDKKFNGTGPCTNVSTVQCTHGIRP
 VVSTQLLNGSLAEEEVVIRSENFNTNNAKTIMVQLNVSVEINC
 TRPNNNTRKSIHIGPGRAFYTAGDIIGDIRQAHCNISRANWNN
 TLRQIVEKLGKQFGNNKTIVFNHSSGGDPEIVMHSFNCGGEFF
 YCNSTKLFNSTWTWNNSTWNNTKRSNDTEEHITLPCRIKQIIN
 MWQEVGKAMYAPPPIRGQIRCSSNITGLLLTRDGGNDTSGTEIF
 RPPGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPLGVAPTKAKRRVVQSEKS
 AVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASMTLTVQARLLLSGIVQQQNN
 LLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLKDQQLLGIWG
 CSGKLICTTTVPWNASWSNKSLDKIWNNMTWMEWEREINNYTS
 LIYTLLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFDISNWLWGYI
PEAPRDGQAYVRKDGEVLLSTFL

Đóng hộp:	trình tự tín hiệu/trình tự dẫn đầu
Gạch dưới:	gp120
Đơn giản:	gp 41 miền ngoài
=:	miền trime hoá "foldon" T4-fibritin

Fig.1B

Phiên bản 2 Env1 gp140 khảm (mEnv+) (SEQ ID NO:2)

MRVRGIQRNCOHLWRWGTLILGMLMICSAAAGKLWVTVYYGVVPV
 WKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNWATHACVPTDPNPQEVVLE
 NVTENFNMWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLN
 CTDDVRNVTNNATNTNSSWGEPMKGEIKNCSFNITTSIRNKV
 QKQYALFYKLDVVPIDNDSNNTNYRLISCNTSVITQACPKVSF
 EPIPIHYCAPAGFAILKCNDKKFNGTGPCNTVSTVQCTHGIRP
 VVSTQLLLLNGSLAEEEVVIRSENFTNNAKTIMVQLNVSVEINC
 TRPNNNTRKSIHIGPGRAFYTAGDIIGDIRQAHCNISRANWNN
 TLRQIVEKLGKQFGNNKTIVFNHSSGGDPEIVMHSFNCGGEFF
 YCNSTKLENSTWTWNNSTWNNNTKRSNDTEEHITLPCRIKQIIN
 MWQEVGKAMYAPPPIRGQIRCSSNITGLLLLTRDGGNDTSGTEIF
 RPPGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPLGVAPTKAKKERVVQREER
 AVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASMTLTVQARLLLSGIVQQQNN
 LLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLKDQQLLGIWG
 CSGKLICTTTVPWNASWSNKS LDKIWNNMTWMEWEREINNYTS
 LIYTLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFDISNWLWYIK
 SRIEGRGSGGYIPEAPRDGOAYVRKDG EWVLLSTFL

Đóng hộp:	trình tự tín hiệu/trình tự dẫn đầu
Gạch dưới:	gp120
Đóng vòng tròn:	đột biến vị trí tách
Đơn giản:	gp 41 miền ngoài
—:	vị trí nhân tố Xa
≡:	miền trime hoá "foldon" T4-fibritin

Fig.1C

Env nhánh C (cEnv) (SEQ ID NO:3)

MRVRGIQRNCQHLWRWGTLILGMLMICSAAENLWVGNMWVTVY
YGVFVWTDAKTTLFCASDTKAYDREVHNVWATHACVPTDPNPQ
EIVLENV TENFNMWKNDMVDQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPL
CVTLHCTNATFKNNVTNDMNKEIRNCSFNTTTEIRDKKQQGYA
LFYRPDIVLLKENRNNNSNNSEYILINCNASTITQACPKVNFDP
IPIHYCAPAGYAILKCNKTFSGKGPCNNVSTVQCTHGIKPVV
STQLLNGSLAEKEIIRSENLTDNVKTIIIVHLNKSVEIVCTR
PNNNTRKSMRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAYCNISGSKWNETL
KRVKEKLQENYNNNKTIKFAPSSGGDLEITTHSFNCRGEFFYC
NTTRLFNNNATEDETITLPCRKQIINMWQGVGRAMYAPPIAG
NITCKSNITGLLLVRDGGEDNKTEEIFRPGGGNMKDNWRSELY
KYKVIELKPLGIAPTGAKE⁺RVVERE⁺RAVGIGAVFLGFLGAAG
STMGAASLTTLTVQARQLLSSIVQQQSNLLRAIEAQQHMLQLTV
WGIKQLQTRVLAIERYLKDQQLLGIWGCSGKLICTTNVPWNSS
WSNKSQTDIWNMTWMEWDREISNYTDTIYRLLEDSTQEQEKN
EKDLLALDSWKNLWSWFDISNWLWYIKSRIEGRGSGGYIPEAP
RDGQAYVRKDGWVLLSTFL

Đóng hộp:	trình tự tín hiệu/trình tự dẫn đầu
Gạch dưới:	gp120
Đóng vòng tròn:	đột biến vị trí tách
Đơn giản:	gp 41 miền ngoài
—:	vị trí nhân tố Xa
≡:	miền trime hoá "foldon" T4-fibritin

Fig.2

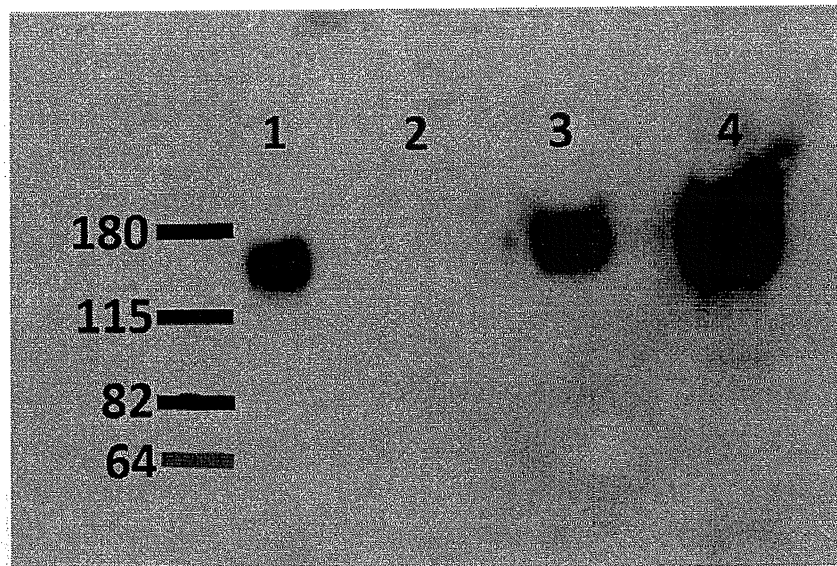


Fig.3

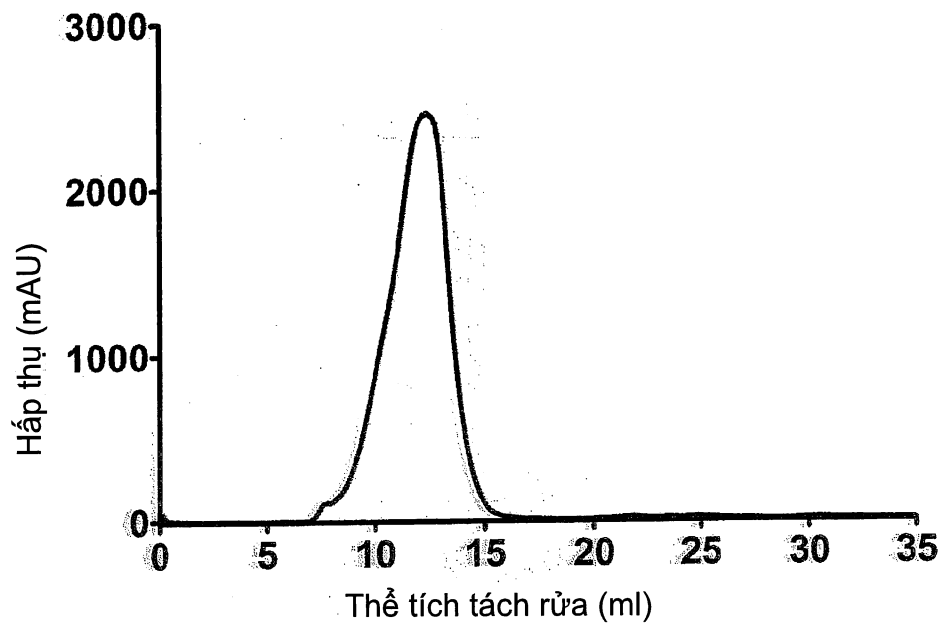
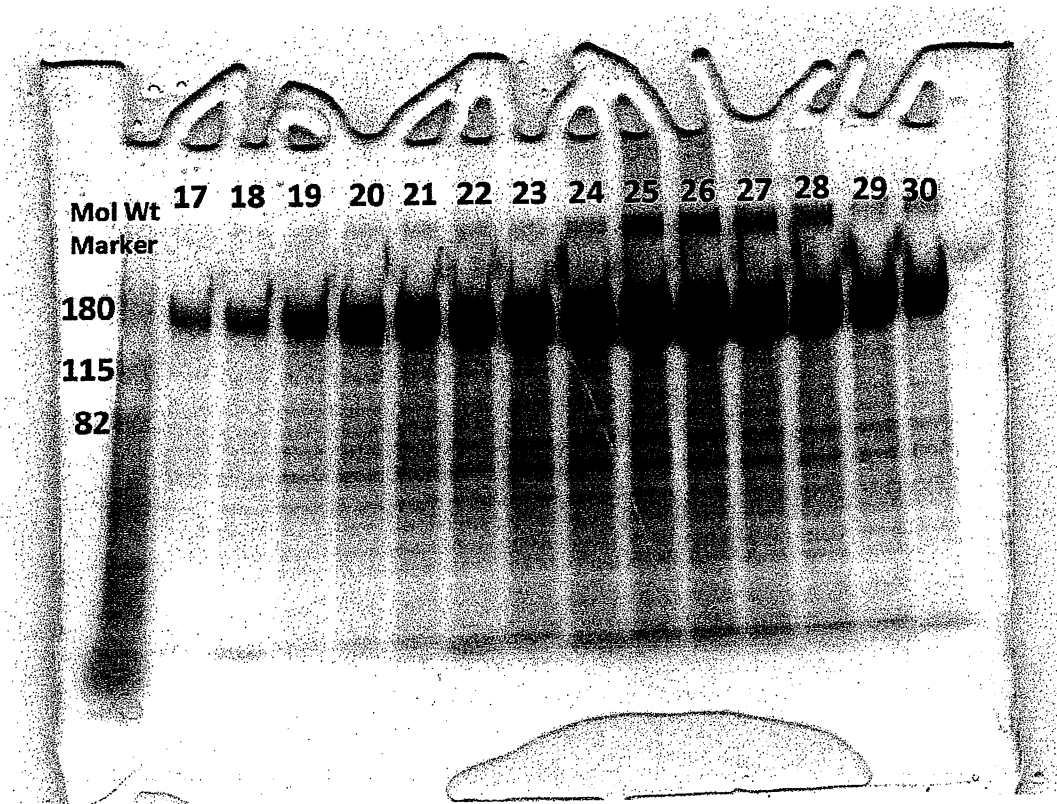


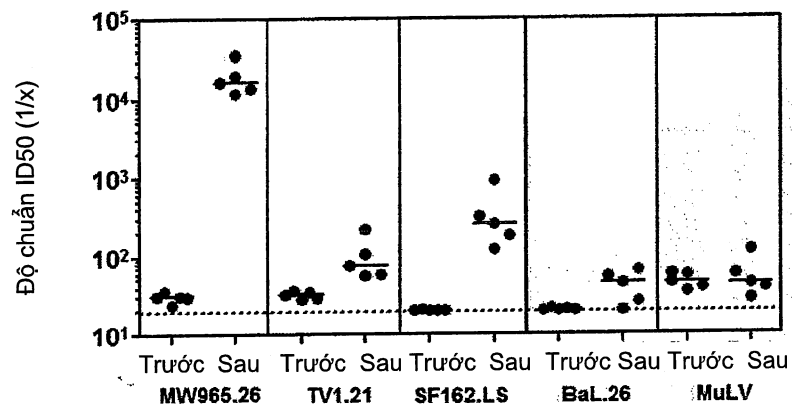
Fig.4



Từ Fig.5A đến Fig.5C

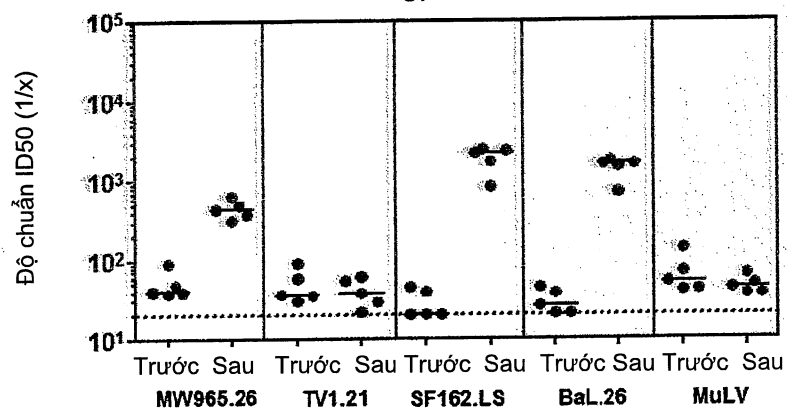
Trime gp140 nhánh C

5A



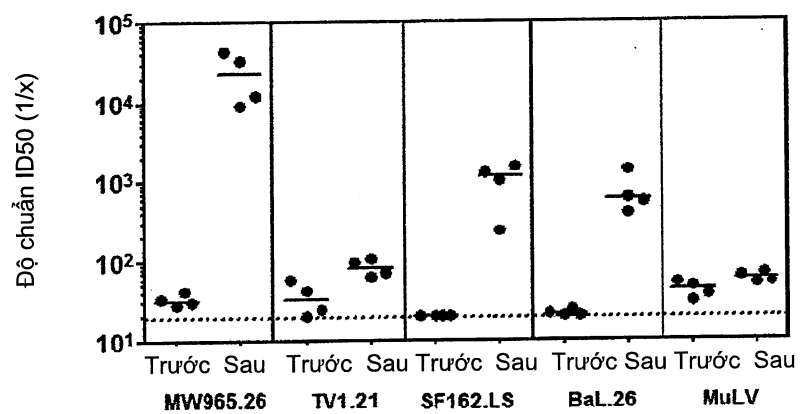
Trime gp140 khảm

5B



Trime nhánh C+gp140 khảm

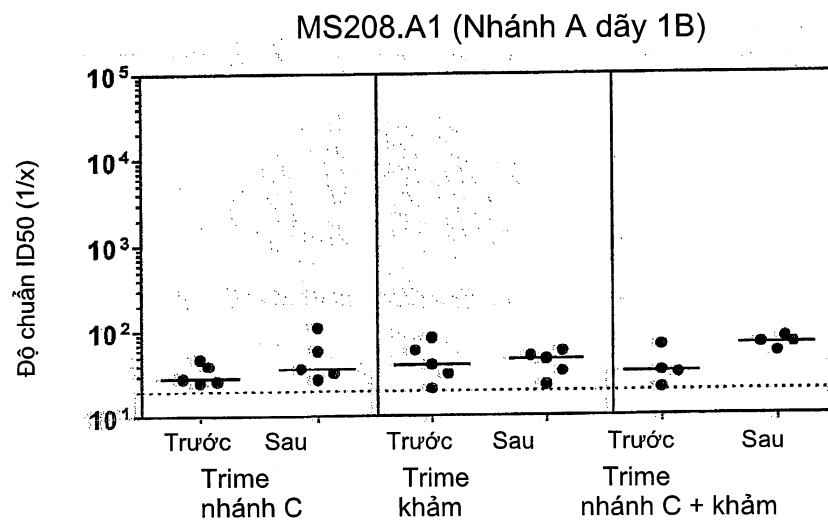
5C



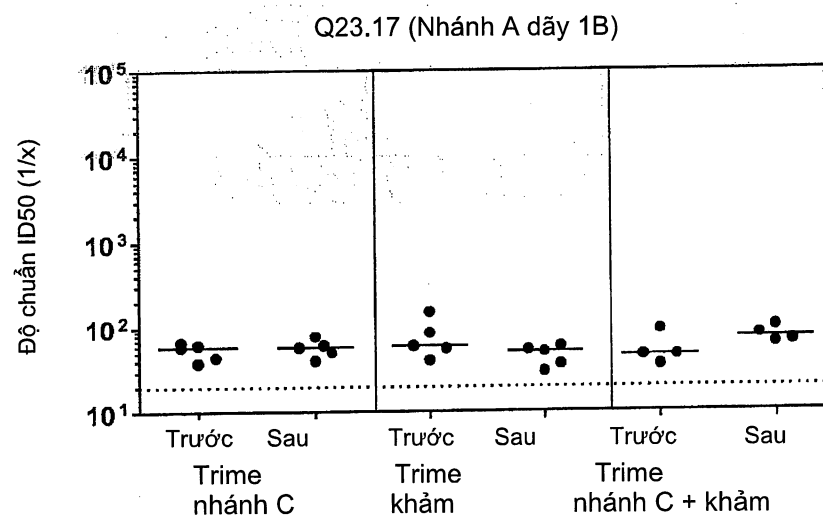
Từ Fig.6A đến Fig.6B

Nhánh A

6A

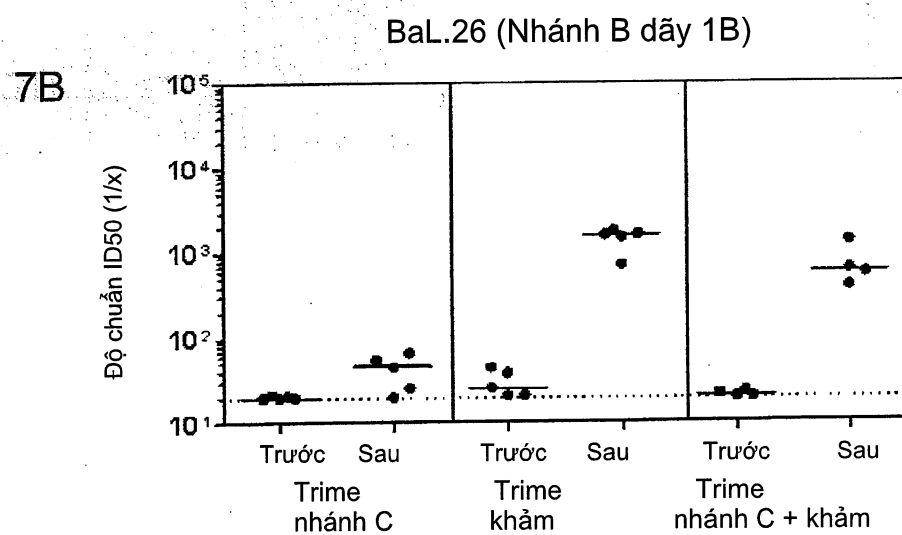
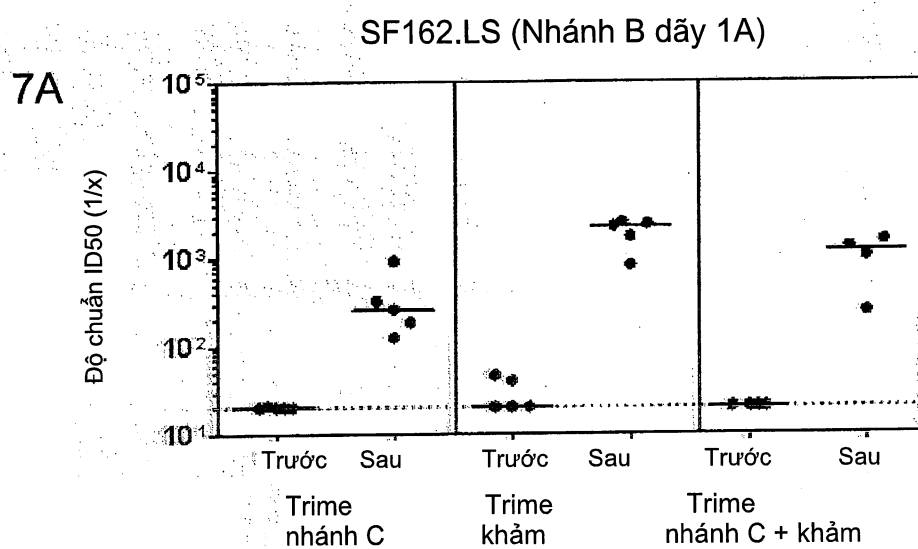


6B



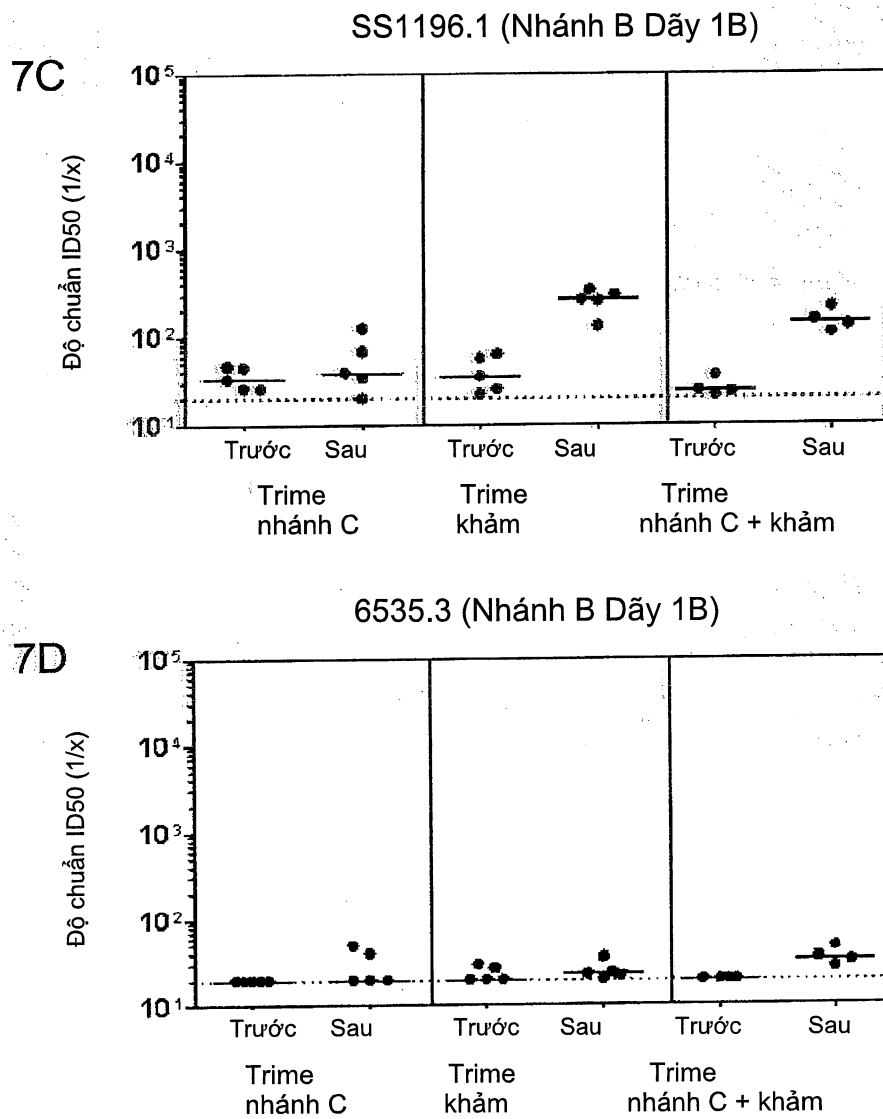
Từ Fig.7A đến Fig.7B

Nhánh B



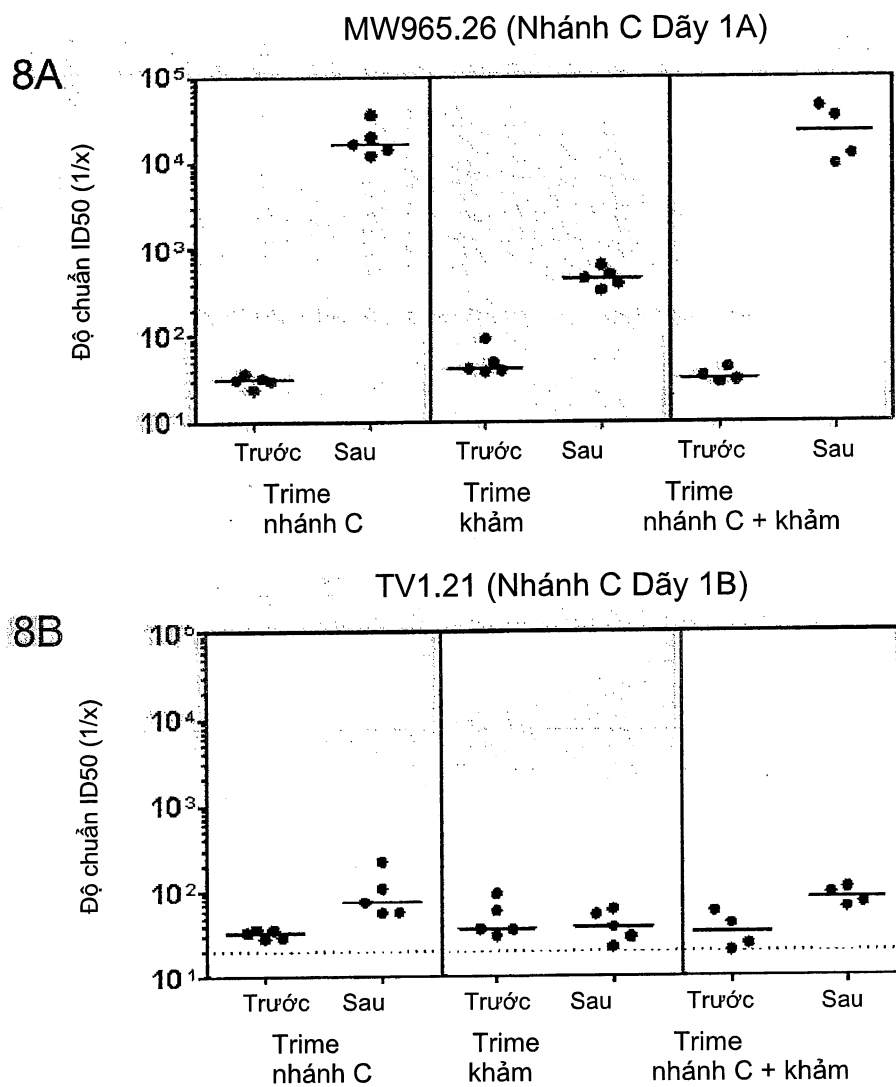
Từ Fig.7C đến Fig.7D

Nhánh B



Từ Fig.8A đến Fig.8B

Nhánh C



Từ Fig.8C đến Fig.8D

Nhánh C

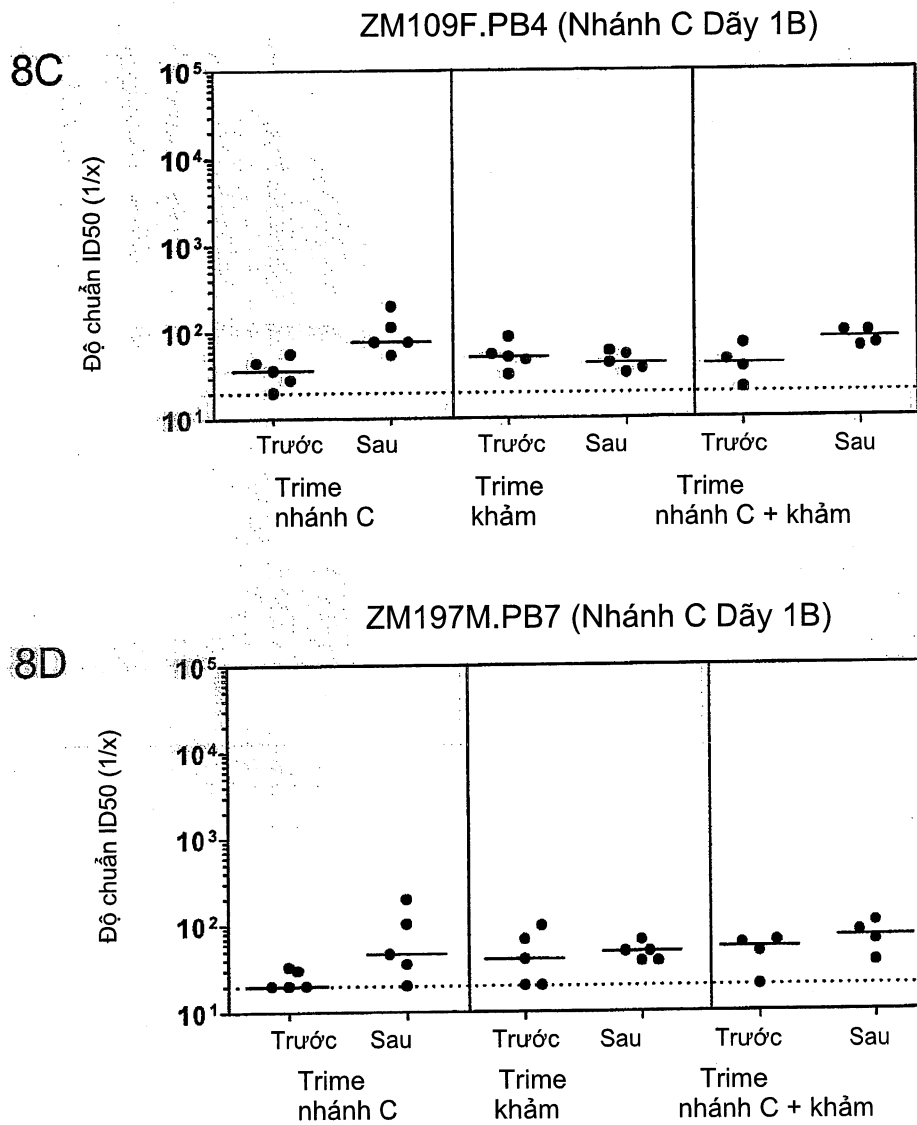


Fig.9

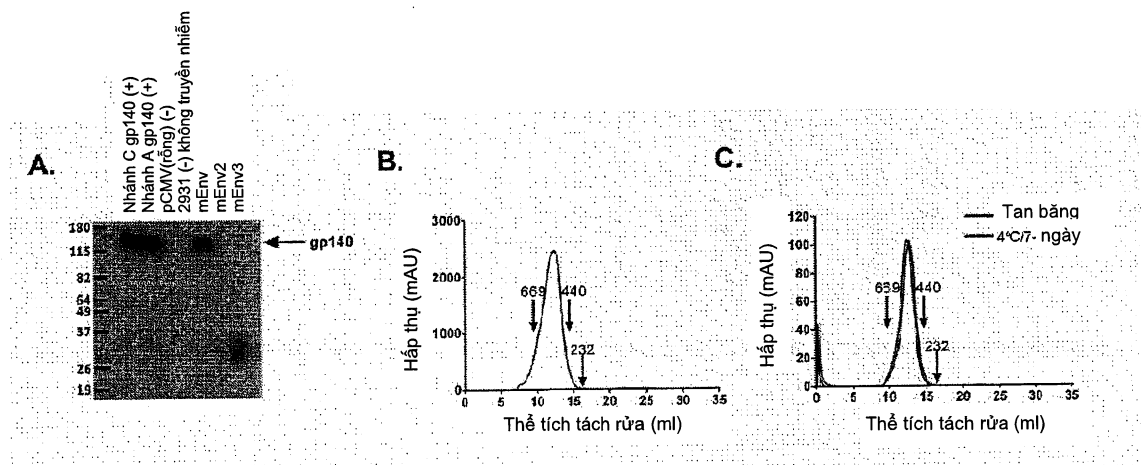


Fig.10

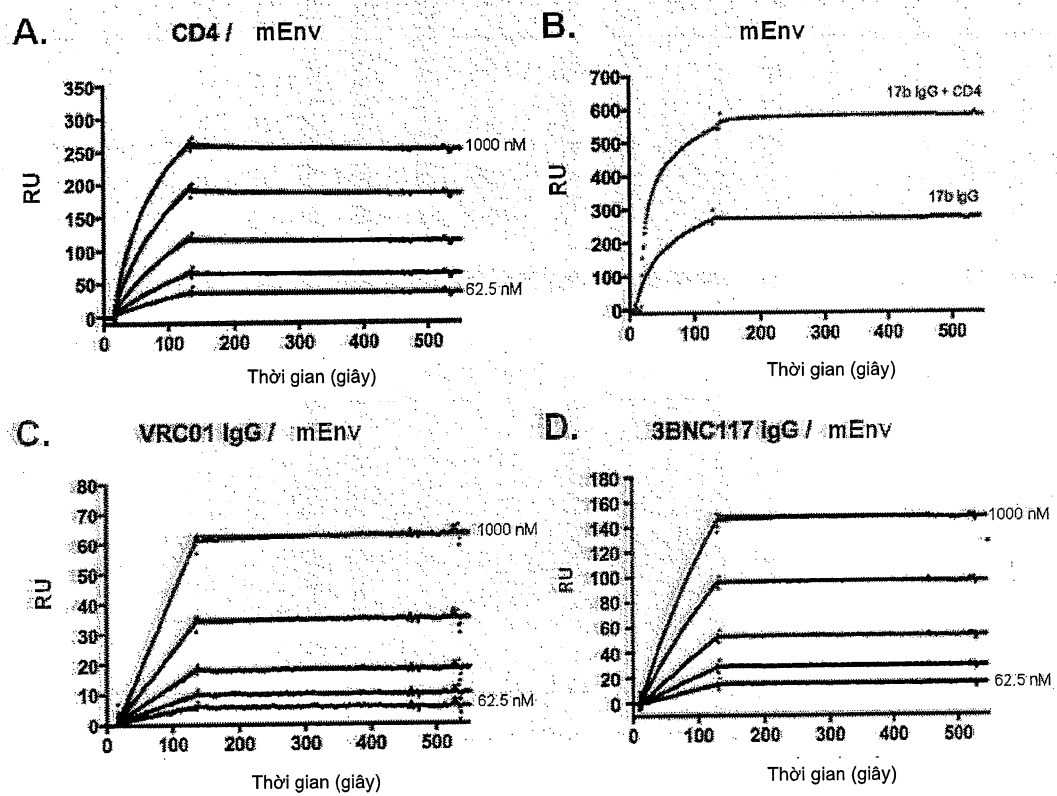


Fig.11

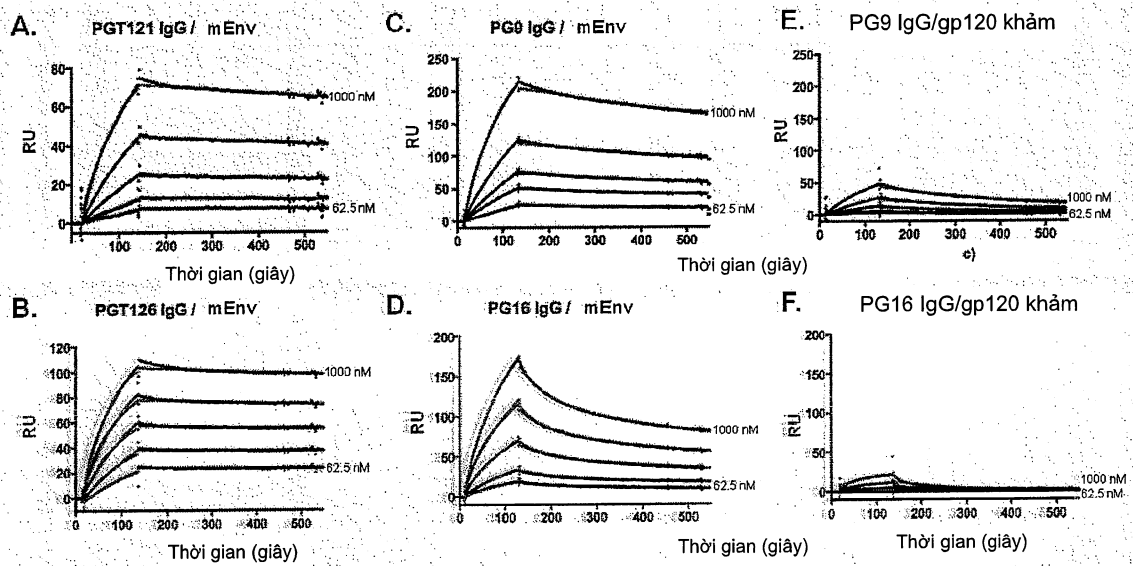


Fig.12

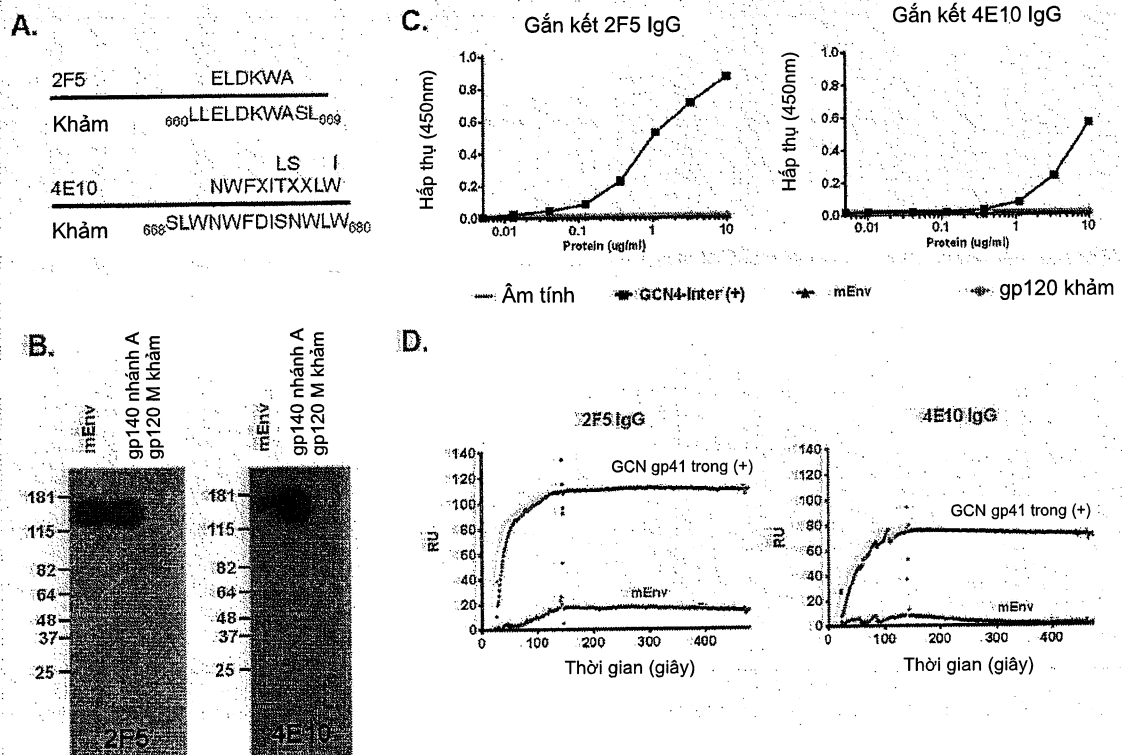


Fig.13

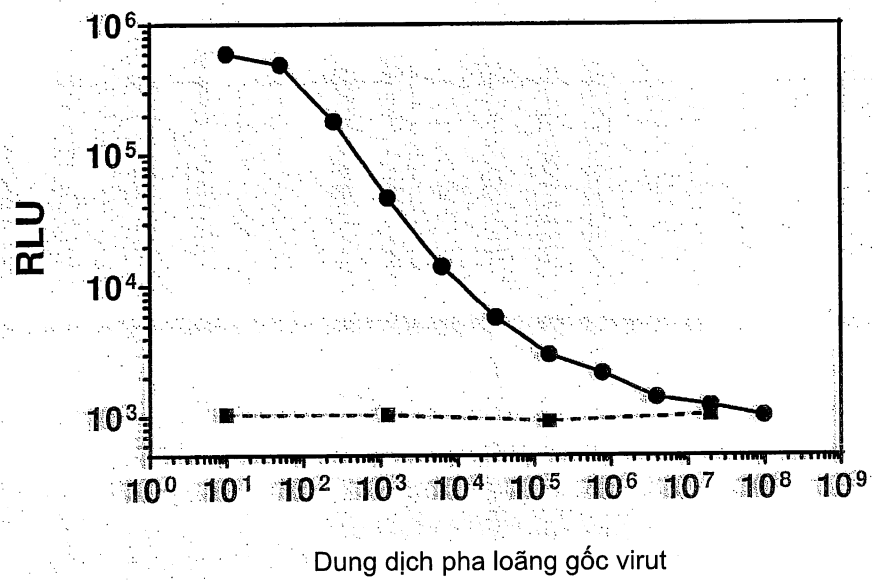


Fig.14

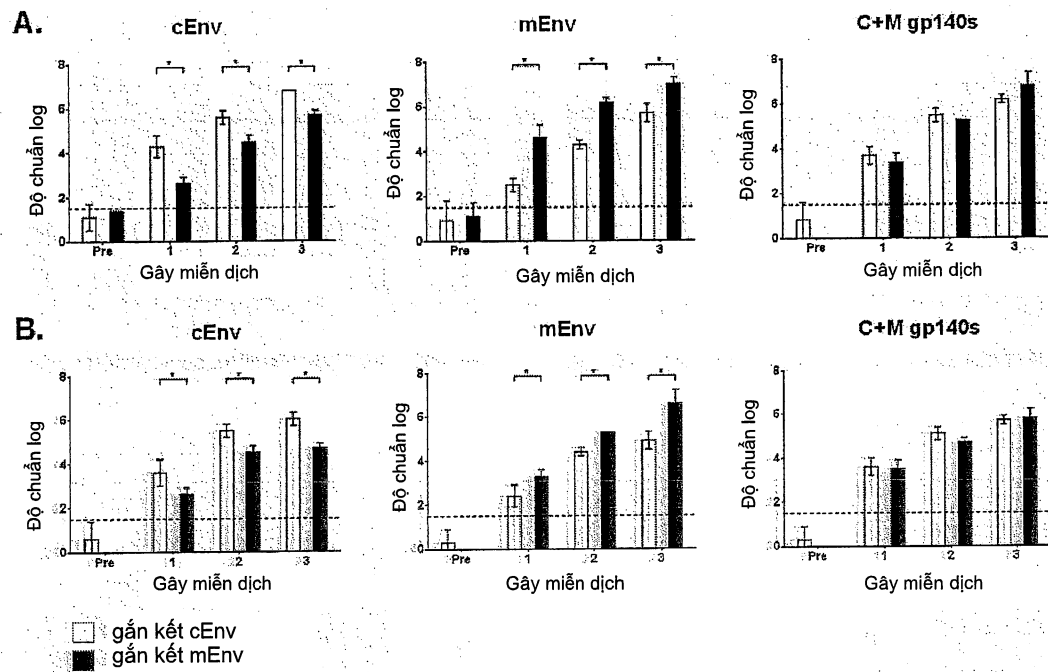


Fig.15

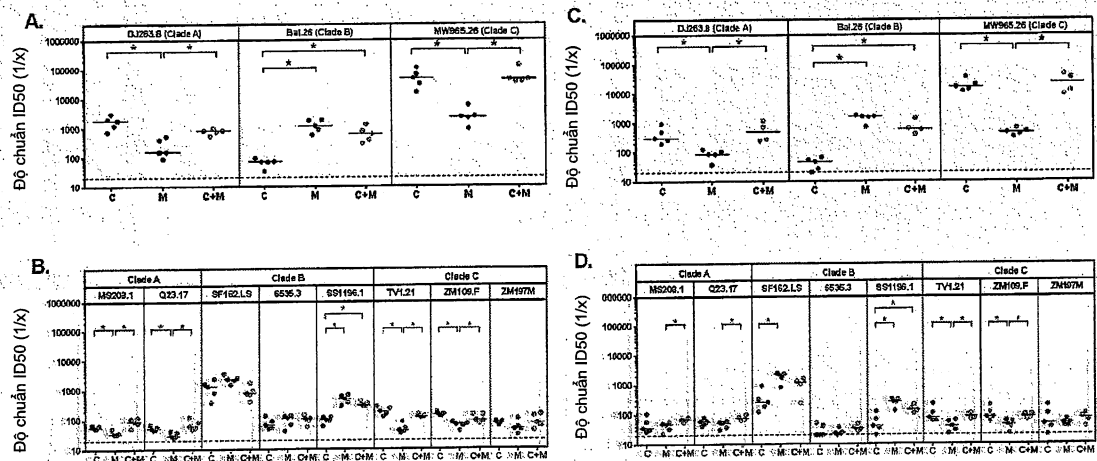


Fig.16

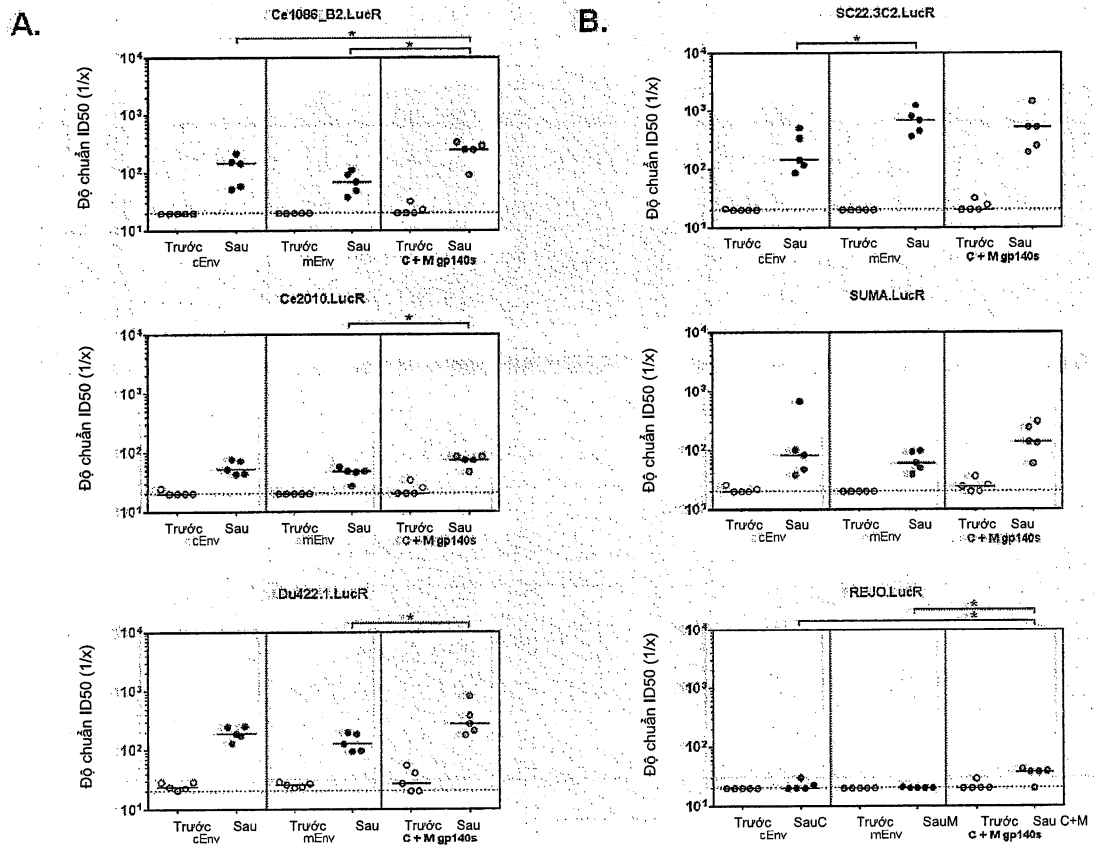


Fig.17

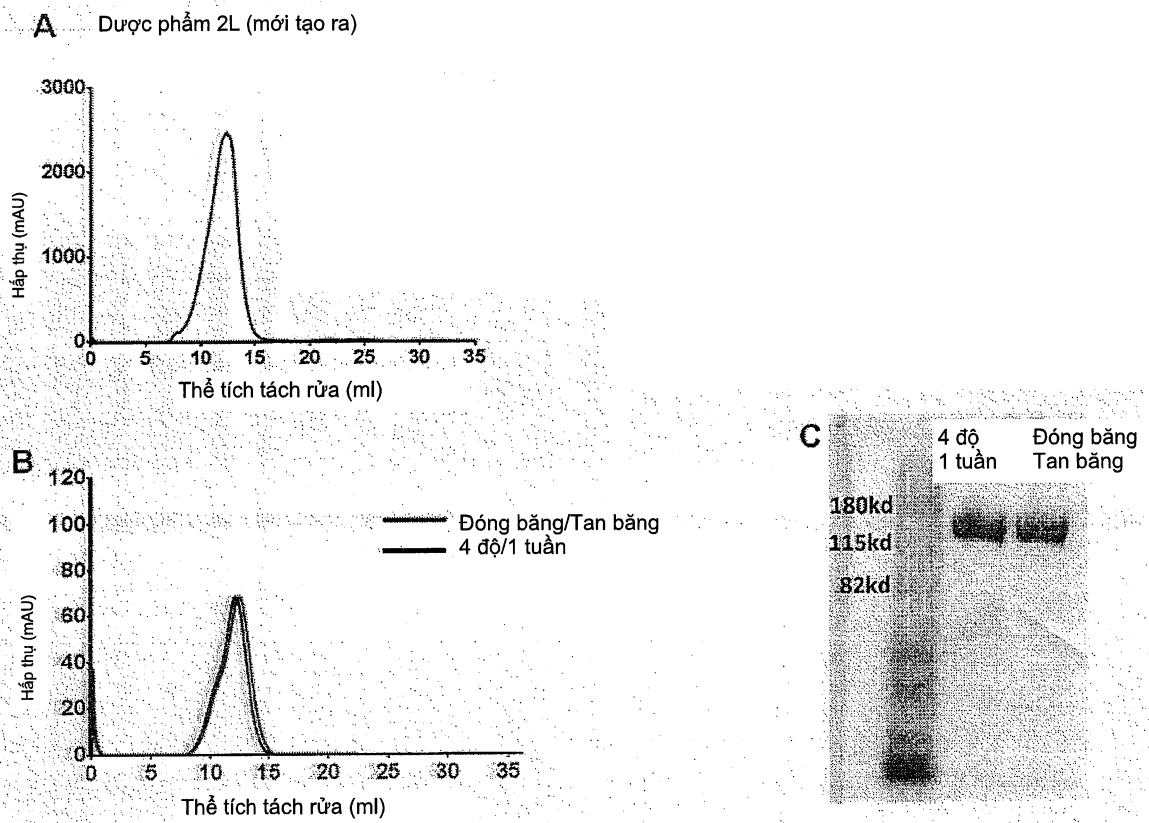


Fig.18

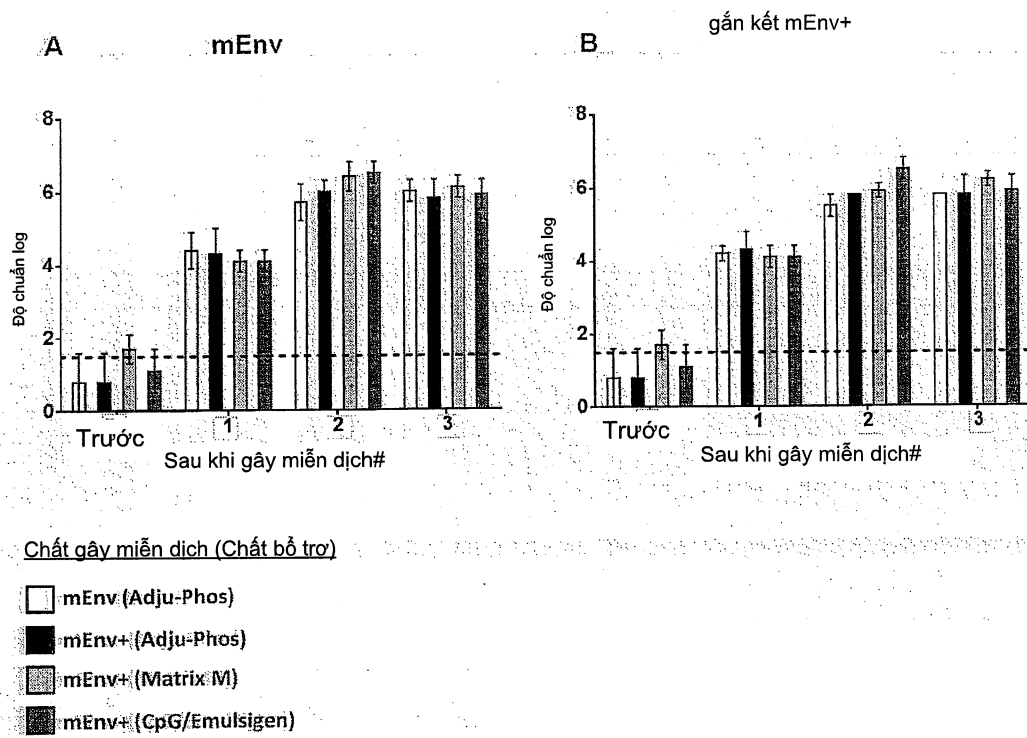


Fig.19

