



(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)



1-0029306

(51)⁷ A61K 39/155; C07K 14/135

(13) B

(21) 1-2015-04444

(22) 24/04/2014

(86) PCT/EP2014/058353 24/04/2014

(87) WO/2014/174018 30/10/2014

(30) 13165402.2 25/04/2013 NL

(45) 25/08/2021 401

(43) 25/04/2016 337A

(73) Janssen Vaccines & Prevention B.V. (NL)

Archimedesweg 4, NL-2333 CN Leiden, The Netherlands

(72) LANGEDIJK, Johannes Petrus Maria (NL); KRARUP, Anders (NL).

(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) POLYPEPTIT DUNG HỢP CỦA VIRUT HỢP BÀO HÔ HẤP TIỀN DUNG HỢP
TÁI TỔ HỢP, PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC MÃ HÓA POLYPEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp virus hợp bào hô hấp tiền dung hợp tái tổ hợp, phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit này, vector chứa phân tử axit nucleic nêu trên, chế phẩm chứa polypeptit này và phương pháp làm ổn định cấu trúc tiền dung hợp của polypeptit dung hợp virus hợp bào hô hấp này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực dược phẩm. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến polypeptit RSV F tiền dung hợp tái tổ hợp và cách dùng chúng, chẳng hạn, trong các hợp chất sinh miễn dịch.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus hợp bào hô hấp (RSV) là virus ARN sợi-âm có vỏ không phân đoạn trong họ Paramyxoviridae, chi Pneumovirus. Trên toàn thế giới, ước tính 64 triệu ca nhiễm RSV xảy ra hàng năm gây ra 160.000 trường hợp tử vong (WHO Acute Nhiễm trùng hô hấp cập nhật tháng 9 2009). Bệnh nặng nhất xảy ra đặc biệt ở trẻ sinh non, người già và người suy giảm miễn dịch. Ở trẻ nhỏ ít hơn 2 tuổi, RSV là mầm bệnh hệ hô hấp phổ biến nhất, là nguyên nhân của gần 50% ca nhập viện do nhiễm trùng hô hấp, với đỉnh điểm của ca nhập viện xảy ra ở độ tuổi từ 2 tháng đến 4 tháng. Đã có báo cáo rằng hầu hết trẻ nhỏ đã bị nhiễm RSV trước hai tuổi. Sự nhiễm lặp lại trong cả cuộc đời là do miễn dịch tự nhiên không có hiệu quả. Mức độ gánh nặng của bệnh RSV, tỷ lệ tử vong và tỷ suất bệnh ở người già là thứ hai chỉ sau các mức độ được gây ra bởi sự nhiễm bệnh cúm A không phải dịch.

Để nhiễm tế bào vật chủ, RSV, giống các virus có vỏ khác như là virus bệnh cúm và HIV, đòi hỏi sự dung hợp của màng virus với màng tế bào vật chủ. Đối với RSV, protein dung hợp dự trữ (protein RSV F) dung hợp virus và màng tế bào của tế bào vật chủ. Theo các mô hình hiện tại, dựa trên các nghiên cứu về paramyxovirus, protein RSV F gấp ban đầu thành cấu trúc "tiền dung hợp". Trong bước thâm nhập tế bào, cấu trúc tiền dung hợp trải qua bước gấp lại và các thay đổi cấu trúc thành cấu trúc "sau-dung hợp" của nó. Do đó, protein RSV F là protein giả ổn định mà điều khiển dung hợp màng tế bào bằng cách ghép protein không thuận nghịch gấp lại thành vị trí kề màng tế bào bằng cách gấp ban đầu thành

dạng giả ổn định (cấu trạng tiền dung hợp), dạng này tiếp theo, trải qua các thay đổi cấu trạng rời rạc/từng bước thành cấu trạng năng lượng thấp (cấu trạng sau-dung hợp).

Từ kết quả hiển vi điện tử của RSV-F, rõ ràng là tồn tại các khác biệt cấu trúc lớn giữa trimer F tiền dung hợp và sau-dung hợp, mà gần đây đã được xác nhận bởi tinh thể học (McLellan J.S. và cộng sự Science 340(6136):1113-7 (2013) và McLellan J.S. và cộng sự Science 342(6158): 592-8 (2013)). Các quan sát này đề xuất rằng protein RSV F tiền dung hợp và sau-dung hợp là khác biệt về kháng nguyên (Calder, L. J. và cộng sự Virology 271, 122-131 (2000)).

Vacxin chống xâm nhiễm RSV hiện tại chưa sẵn có, nhưng được mong muốn. Các ứng viên vacxin dựa trên protein RSV F đã thất bại do các vấn đề với chẳng hạn, độ ổn định, độ tinh khiết, khả năng tái sản xuất, và hiệu lực. Như được chỉ ra ở trên, các cấu trúc tinh thể đã bộc lộ thay đổi cấu trạng lớn giữa các trạng thái tiền dung hợp và sau-dung hợp. Tầm quan trọng của việc tái sắp xếp đề xuất rằng chỉ một phần của các kháng thể được hướng tới cấu trạng sau-dung hợp của RSV-F sẽ có thể phản ứng chéo với cấu trạng tự nhiên của gai tiền dung hợp trên bề mặt của virut. Theo đó, các nỗ lực để sản xuất vacxin chống RSV đã tập trung vào phát triển vacxin chứa các dạng tiền dung hợp của protein RSV F (xem, chẳng hạn, WO20101149745, WO2010/1149743, WO2009/1079796, WO2012/158613). Tuy nhiên, các nỗ lực này chưa tạo ra polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định mà có thể được sử dụng làm ứng viên để thử nghiệm ở con người.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các polypeptit dung hợp (F) virut hợp bào hô hấp (RSV) tiền dung hợp, tái tổ hợp, ổn định, cụ thể là, Polypeptit RSV F tái tổ hợp được ổn định trong cấu trạng tiền dung hợp. Polypeptit RSV F theo sáng chế bao gồm ít nhất một epitop đặc hiệu đối với protein F cấu trạng tiền dung hợp. Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp là tan được. Theo các phương án nhất định, polypeptit là gắn-màng. Sáng chế cũng đề

xuất các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế và các vector bao gồm các phân tử axit nucleic này.

Sáng chế cũng đề cập đến các hợp chất, tốt hơn là các hợp chất sinh miễn dịch, bao gồm polypeptit RSV F, phân tử axit nucleic và/hoặc vector, và đến cách dùng chúng để cảm sinh phản ứng miễn dịch chống protein RSV F, cụ thể là cách sử dụng chúng làm vaccin. Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp để cảm sinh phản ứng miễn dịch kháng virus hợp bào hô hấp (RSV) ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng hiệu quả của polypeptit RSV F tiền dung hợp, phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F này, và/hoặc vector bao gồm phân tử axit nucleic này. Tốt hơn là, phản ứng miễn dịch được cảm sinh khác biệt bởi các kháng thể trung hòa đối với RSV và/hoặc độ miễn dịch bảo vệ chống RSV. Theo các khía cạnh cụ thể, sáng chế đề cập đến phương pháp để cảm sinh các kháng thể protein F kháng virus hợp bào hô hấp (RSV) trung hòa ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng hiệu quả của hợp chất kháng nguyên bao gồm polypeptit RSV F tiền dung hợp, phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F này, và/hoặc vector bao gồm phân tử axit nucleic này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: là hình vẽ A) Sắc phổ lọc chất quánh Superdex200 của chất rửa giải A2_F24 N67I+S215P từ cột trao đổi-ion. Các mũi tên biểu thị các điểm rửa giải của protein tiêu chuẩn (1-Thyroglobulin 669 kDa, 2-Ferritin 440 kDa và 3-IgG 150 kDa). B) Phân tích SDS-PAGE của protein F tiền dung hợp chứa đỉnh từ sắc phổ SEC trong các điều kiện suy giảm.

Hình 2: là hình vẽ kỹ thuật Western blot của NativePAGE được nạp mẫu chứa 1) dịch nổi từ các tế bào biểu hiện cấu trúc tiền dung hợp có khóa kéo Isoleuxin (S) F43; 2) dịch nổi từ các tế bào biểu hiện protein RSV F sau-dung hợp (dải trên cùng) trime chủ yếu; và 3) A2_F24 N67I tiền dung hợp trime được tinh lọc.

Hình 3: là hình vẽ các mức biểu hiện của các cấu trúc được đột biến điểm tương ứng với A2_F24 không được đột biến.

Hình 4 là hình vẽ thể hiện các kết quả của phương pháp được mô tả trong Ví dụ 6(A), xác định nhiệt độ tại đó 50% gắn kết CR9501 bị tổn hao; (B) thể hiện sự so sánh độ ổn định của F tiền dung hợp (A2_F24 N67I+S215P) và miền ngoại bào không được biến đổi khi được đánh giá bởi 50% tổn hao gắn kết của kháng thể tiền dung hợp-đặc trưng CR9501.

Hình. 5: là hình vẽ các phép đo bộ tám thể hiện tổn hao theo thời gian lưu trữ của gắn kết của kháng thể tiền dung hợp-đặc trưng CR9501 trên các cấu trúc tiền dung hợp; A) A2_F24 (SEQ ID NO: 19), B) A2_F24 K465Q, C) A2_F24 S46G, D) A2_F24 N67I và E) A2_F24 E92D vào ngày 1, 5 và 33.

Hình 6: là hình vẽ các phép đo bộ tám thể hiện tổn hao theo thời gian lưu trữ của gắn kết của kháng thể đơn dòng tiền dung hợp-đặc trưng CR9501 trên các cấu trúc tiền dung hợp; A) A2_F24 K465Q, B) A2_F24 K465Q+N67I, C) A2_F24 S46G, D) A2_F24 S46G+E92D, E) A2_F24 S46G+N67I, F) A2_F24 E92D, G) A2_F24 S46G+E92D, H) A2_F24 N67I+E92D và I) A2_F24 E92D+S215P vào ngày 1, 5 và 33.

Hình 7: là hình vẽ các độ chuẩn VNA của chuột vào tuần 6 sau khi tiêm nhắc lại vào tuần 0 và 4 bởi các kháng nguyên và liều theo Bảng 14.

Hình 8: là hình vẽ các độ chuẩn VNA của chuột bông vào tuần 7 sau khi tiêm nhắc lại vào tuần 0 và 4 bởi các kháng nguyên và liều theo Bảng 15.

Hình 9: là hình vẽ lượng virus phổi và mũi 5 ngày sau khi i.n. Thử nghiệm RSV.

Mô tả chi tiết sáng chế

Protein dung hợp (F) của virus hợp bào hô hấp (RSV) được bao gồm trong sự dung hợp của màng virus với màng tế bào vật chủ, sự xâm nhiễm đòi hỏi sự dung hợp này. RSV F mARN được dịch mã thành 574 protein tiền axit amin được chỉ định F0, mà chứa trình tự peptit tín hiệu ở các đầu cuối N (chẳng hạn, các phần axit amin 1-26 có SEQ ID NO: 1) mà được loại bỏ bởi peptidaza tín hiệu trong mạng lưới nội chất. F0 được tách ra ở hai vị trí (ở

giữa các phần axit amin 109/110 và 136/137) bởi các proteaza tế bào (trong furin cụ thể) trong thể trans-Golgi, loại bỏ ngắn glycosylated intervening trình tự (cũng được dẫn chiếu đến vùng p27, bao gồm các phần axit amin 110 đến 136, và tạo ra hai miền hoặc các tiểu đơn vị được chỉ định F1 và F2. Miền F1 (các phần axit amin 137-574) chứa peptit dung hợp kỵ nước ở các đầu cuối N của nó và các đầu cuối C chứa vùng xuyên màng (TM) (các phần axit amin 530-550) và vùng tế bào chất (các phần axit amin 551-574). Miền F2 (các phần axit amin 27-109) được liên kết cộng hóa trị với F1 bởi hai cầu disulfit. Các dime khác loại F1-F2 được ghép thành trime cùng loại trong hạt virut.

Vacxin chống xâm nhiễm RSV hiện tại không sẵn có, nhưng có nhu cầu. Một giải pháp tiềm năng để sản xuất vacxin là vacxin tiểu đơn vị dựa trên protein RSV F được tinh chế. Tuy nhiên, đối với giải pháp này, điều ưu tiên là protein RSV F được tinh chế ở trong cấu trạng tương đồng cấu trạng của trạng thái trước dung hợp của protein RSV F, mà ổn định theo thời gian, và có thể được sản xuất đủ số lượng. Ngoài ra, đối với vacxin dựa trên tiểu đơn vị, protein RSV F cần được cắt ngắn bằng cách loại bỏ vùng xuyên màng (TM) và vùng tế bào chất để tạo ra protein F được bài tiết tan được (sF). Vì vùng TM chịu trách nhiệm neo màng tế bào và trime hóa, protein F tan được không neo là không bền hơn đáng kể so với protein dài đầy đủ và sẽ sẵn sàng gấp lại thành trạng thái-cuối sau-dung hợp. Để thu được protein F tan được trong cấu trạng tiền dung hợp ổn định mà thể hiện các mức biểu hiện cao và độ ổn định cao, do đó, cấu trạng tiền dung hợp cần được ổn định.

Sự ổn định của protein F paramyxovirut khác trong cấu trạng tiền dung hợp đã được hoàn thành thành công đối với virut á cúm tuýp 5 (PIV5). Yin và cộng sự (Nature 439: 38-44 (2006)) theo đó, ổn định cấu trúc tiền dung hợp của Protein PIV-5 F bởi sự đột biến của vị trí phân tách furin trong F₀ mà chặn quá trình thành F1 và F2. Hơn nữa, miền xuyên màng (TM) và miền tế bào chất được thay thế bởi miền trime hóa xoắn đã biết: GCN4pII. Miền này tạo ra cấu trúc cuộn xoắn trime và là một biến thể của peptit cuộn xoắn dime tự nhiên GCN4 (O'Shea và cộng sự, Science 243: 538-542 (1989)). Peptit GCN4-pII, trong đó trình tự axit

amin của khóa kéo Leuxin GCN4 được thay thế bởi các phân Isoleuxin ở mỗi vị trí *a* và *d* của bộ bảy, được thể hiện để tạo ra cuộn xoắn-alpha song song ba sợi (Harbury và cộng sự, Science 262: 1401-1407 (1993)).

Để ổn định RSV F trong cấu trạng tiền dung hợp, cùng phương pháp đã được thử, như là chẳng hạn, sự đột biến của vị trí phân tách furin, và sự dung hợp của miền ngoại bào RSV-F với miền trime hóa GCN4pII (như được bộc lộ trong, chẳng hạn, WO2010/149743, WO2010/149745, WO2009/079796, WO2012/158613) hoặc với miền trime hóa fibrin (MCLellan và cộng sự, Nature Struct. Biol.17: 2-248-250 (2010)). Miền fibrin này hoặc 'Foldon' thu được từ T4 fibrin và đã được mô tả trước đây như là miền trime hóa tự nhiên nhân tạo (Letarov và cộng sự, Biochemistry Moscow 64: 817-823 (1993); S-Guthe và cộng sự, J. Mol. Biol. 337: 905-915. (2004)). Tuy nhiên, những nỗ lực này không đem lại protein RSV-F tiền dung hợp ổn định. Ngoài ra, những nỗ lực này chưa có kết quả ở các đối tượng phù hợp để thử nghiệm ở người.

Bây giờ, sáng chế đề xuất polypeptit RSV F tiền dung hợp tái tổ hợp ổn định, cụ thể là, polypeptit RSV F được ổn định trong cấu trạng tiền dung hợp. Theo nghiên cứu dẫn đến sáng chế, một số bước cải biến đã được đưa vào và/hoặc kết hợp để thu được polypeptit RSV F tiền dung hợp tan được ổn định này. Polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định theo sáng chế ở cấu trạng tiền dung hợp, cụ thể là, chúng bao gồm (thể hiện) ít nhất một epitop, epitop này là đặc hiệu đối với protein F cấu trạng tiền dung hợp. Epitop đặc hiệu đối với protein F cấu trạng tiền dung hợp là epitop không có mặt trong cấu trạng sau-dung hợp. Không ưu tiên bị giới hạn bởi học thuyết cụ thể bất kỳ, tin rằng cấu trạng tiền dung hợp của protein RSV F có thể chứa các epitop giống với các epitop trên protein RSV F được thể hiện ở các hạt virus RSV tự nhiên, và do đó có thể cung cấp các ưu điểm để khơi dậy các kháng thể trung hòa bảo vệ.

Theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế bao gồm ít nhất một epitop được nhận ra bởi kháng thể đơn dòng đặc hiệu tiền dung hợp, bao gồm vùng CDR1 chuỗi

nặng có SEQ ID NO: 54, vùng CDR2 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 55, vùng CDR3 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 56 và vùng CDR1 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 62, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 63, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64 (sau đây được gọi là CR9501) và/hoặc kháng thể đơn dòng đặc hiệu tiền dung hợp, bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 58, vùng CDR2 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 59, vùng CDR3 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 60 và vùng CDR1 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 66, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 67, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 68 (được gọi là CR9502). CR9501 và CR9502 bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ, và do đó, các đặc trưng gắn kết lần lượt của các kháng thể 58C5 và 30D8, mà đã được thể hiện trước đây để gắn kết một cách cụ thể vào protein RSV F trong cấu trạng tiền dung hợp của nó và không phải vào cấu trạng sau-dung hợp (xem WO2012/006596).

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp tái tổ hợp bao gồm ít nhất một epitop được nhận ra bởi ít nhất một kháng thể đơn dòng đặc hiệu tiền dung hợp như được mô tả ở trên và là trime.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định theo sáng chế bao gồm sự đột biến của phần axit amin ở vị trí 67 và/hoặc sự đột biến của phần axit amin ở vị trí 215.

Theo các phương án nhất định, axit amin ở vị trí 67 được đột biến thành axit amin kỵ nước.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định theo sáng chế bao gồm sự đột biến của phần axit amin N hoặc T ở vị trí 67 và/hoặc sự đột biến của phần axit amin S ở vị trí 215.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định theo sáng chế bao gồm miền F1 và miền F2, và trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 phần axit amin, liên kết miền F1 với miền F2, trong đó polypeptit còn bao gồm sự đột biến của phần axit amin N hoặc T ở vị trí 67 và/hoặc sự đột biến của phần axit amin S ở vị trí 215.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định theo sáng chế bao gồm miền F1 được cắt ngắn và miền F2, và trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 phần axit amin, liên kết miền F1 được cắt ngắn này với miền F2, trong đó polypeptit còn bao gồm sự đột biến của phần axit amin N hoặc T ở vị trí 67 và/hoặc sự đột biến của phần axit amin S ở vị trí 215.

Do đó, polypeptit theo sáng chế bao gồm ít nhất một sự đột biến ổn định trong miền F1 và/hoặc miền F2 khi so với miền RSV F1 và/hoặc miền F2 ở protein RSV F thuần chủng.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp bao gồm sự đột biến của phần axit amin N hoặc T ở vị trí 67 (N/T67I) thành I và/hoặc sự đột biến của phần axit amin S ở vị trí 215 thành P (S215P).

Điều đã biết là RSV tồn tại như là kiểu huyết thanh đơn có hai nhóm phụ kháng nguyên: A và B. Các trình tự axit amin của các protein F được xử lý trưởng thành của hai nhóm là giống nhau khoảng 93%. Như được sử dụng trong toàn bộ đơn, các vị trí axit amin được cho dựa vào trình tự của protein RSV F từ sợi A2 (SEQ ID NO: 1). Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “axit amin ở vị trí “x” của protein RSV F như thế có nghĩa là axit amin tương ứng với axit amin ở vị trí “x” trong protein RSV F của sợi RSV A2 có SEQ ID NO: 1. Lưu ý rằng, trong hệ thống đánh số được sử dụng trong toàn bộ đơn 1 biểu thị axit amin đầu cuối N của protein F0 chưa trưởng thành (SEQ ID NO: 1) khi sợi RSV ngoài sợi A2 được sử dụng, thì các vị trí axit amin của protein F được đánh số có dựa vào cách đánh số của protein F của sợi A2 có SEQ ID NO: 1 bằng cách căn chỉnh các trình tự của sợi RSV khác với protein F có SEQ ID NO: 1 với sự chèn các khoảng trống nếu cần thiết. Các căn chỉnh trình tự có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, chẳng hạn, bởi CLUSTALW, Bioedit hoặc CLC Workbench.

Axit amin theo sáng chế có thể là axit bất kỳ thuộc mười hai axit tìm thấy tự nhiên (hoặc axit amin “chuẩn”) hoặc các biến thể của chúng, chẳng hạn như là, axit D-amin (các đồng phân đối hình-D của các axit amin có tâm bất đối xứng), hoặc các biến thể bất kỳ mà không tìm thấy

tự nhiên trong các protein, chẳng hạn như là, norleuxin. Axit amin chuẩn có thể được chia thành một số nhóm dựa trên các thuộc tính của chúng. Các yếu tố quan trọng là đặc tính tích điện, ưa nước hoặc kỵ nước, các nhóm chức và kích thước. Các đặc tính này là quan trọng đối với cấu trúc protein và tương tác protein–protein. Một số axit amin có các thuộc tính đặc biệt chẳng hạn xystein, mà có thể tạo ra các liên kết disulfit cộng hóa trị (hoặc các cầu disulfit) với các phân tử xystein khác, prolin làm xoay trục chính polypeptit, và glycin linh động hơn các axit amin khác. Bảng 11 thể hiện tên viết tắt và thuộc tính của các axit amin chuẩn.

Sẽ được hiểu đúng bởi chuyên gia trung bình trong lĩnh vực rằng các đột biến có thể được tạo ra cho protein bởi các quy trình sinh học phân tử thông thường. Các đột biến theo sáng chế tốt hơn là làm cho các mức biểu hiện được gia tăng và/hoặc sự ổn định được gia tăng đối với polypeptit RSV F tiền dung hợp khi so với Polypeptit RSV F không bao gồm (các) đột biến này.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp là tan được.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp còn bao gồm miền trime hóa khác loại được liên kết với miền F1 được cắt ngắn. Theo sáng chế, điều được thấy là nhờ liên kết miền trime hóa khác loại với phần axit amin đầu cuối-C của miền F1 được cắt ngắn, được kết hợp một cách tùy ý với trình tự liên kết liên kết miền F1 và miền F2, và ổn định (các) đột biến, polypeptit RSV F được cung cấp thể hiện biểu hiện cao và gắn kết vào các kháng thể tiền dung hợp-đặc trưng, biểu thị rằng polypeptit ở trong cấu trạng tiền dung hợp. Ngoài ra, polypeptit RSV F được ổn định ở cấu trạng tiền dung hợp, cụ thể là, thậm chí sau khi xử lý polypeptit, chúng vẫn gắn kết vào các kháng thể tiền dung hợp-đặc trưng CR9501 và/hoặc CR9502, biểu thị rằng epitop tiền dung hợp-đặc trưng được giữ lại.

Theo các phương án khác, polypeptit RSV F tiền dung hợp bao gồm một hoặc nhiều các đột biến khác (khi so với protein RSV F thuần chủng), được lựa chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của phần axit amin ở vị trí 46;
- (b) đột biến của phần axit amin ở vị trí 77;

- (c) đột biến của phần axit amin ở vị trí 80;
- (d) đột biến của phần axit amin ở vị trí 92;
- (e) đột biến của phần axit amin ở vị trí 175;
- (f) đột biến của phần axit amin ở vị trí 184;
- (g) đột biến của phần axit amin ở vị trí 185;
- (h) đột biến của phần axit amin ở vị trí 201;
- (i) đột biến của phần axit amin ở vị trí 209;
- (j) đột biến của phần axit amin ở vị trí 421;
- (k) đột biến của phần axit amin ở vị trí 426;
- (l) đột biến của phần axit amin ở vị trí 465;
- (m) đột biến của phần axit amin ở vị trí 486;
- (n) đột biến của phần axit amin ở vị trí 487; và
- (o) đột biến của phần axit amin ở vị trí 508.

Theo các phương án ưu tiên, một hoặc nhiều đột biến khác được lựa chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của phần axit amin S ở vị trí 46 thành G (S46G);
- (b) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 77 thành E (K77E);
- (c) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 80 thành E (K80E);
- (d) đột biến của phần axit amin E ở vị trí 92 thành D (E92D);
- (e) đột biến của phần axit amin N ở vị trí 175 thành P (N175P);
- (f) đột biến của phần axit amin G ở vị trí 184 thành N (G184N);
- (g) đột biến của phần axit amin V ở vị trí 185 thành N (V185N);
- (h) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 201 thành Q (K201Q);
- (i) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 209 thành Q (K209Q);
- (j) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 421 thành N (K421N);
- (k) đột biến của phần axit amin N ở vị trí 426 thành S (N426S);

- (l) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 465 thành E hoặc Q (K465Q);
- (m) đột biến của phần axit amin D ở vị trí 486 thành N (D486N);
- (n) đột biến của phần axit amin E ở vị trí 487 thành Q, N hoặc I (E487Q/N/I); và
- (o) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 508 thành E (K508E).

Lại chú ý rằng đối với các vị trí của các phần axit amin, sự dẫn chiếu được thực hiện đối với SEQ ID NO: 1. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực sẽ có thể xác định các phần axit amin tương ứng trong các protein F của các sợi RSV khác.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp bao gồm ít nhất hai đột biến (khi so với protein RV F loại-thuần chủng). Theo các phương án ưu tiên, ít nhất hai đột biến là đột biến của axit amin N hoặc T ở vị trí 67 thành I (N/T67I) và đột biến của axit amin S ở vị trí 215 thành P (S215P).

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp bao gồm ít nhất một đột biến khác, được lựa chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của phần axit amin S ở vị trí 46 thành G;
- (b) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 77 thành E;
- (c) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 80 thành E;
- (d) đột biến của phần axit amin E ở vị trí 92 thành D;
- (e) đột biến của phần axit amin N ở vị trí 175 thành P;
- (f) đột biến của phần axit amin G ở vị trí 184 thành N;
- (g) đột biến của phần axit amin V ở vị trí 185 thành N;
- (h) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 201 thành Q;
- (i) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 209 thành Q;
- (j) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 421 thành N;
- (k) đột biến của phần axit amin N ở vị trí 426 thành S;
- (l) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 465 thành E hoặc Q;
- (m) sự đột biến của phần axit amin D ở vị trí 486 thành N;

(n) đột biến của phần axit amin E ở vị trí 487 thành Q, N hoặc I; và

(o) đột biến của phần axit amin K hoặc R ở vị trí 508 thành E.

Theo các phương án nhất định, polypeptit bao gồm ít nhất ba đột biến.

Theo các phương án nhất định, miền trime hóa khác loại bao gồm trình tự axit amin EKKIEAIEKKIEAIEKKIEA (SEQ ID NO: 3). Theo các phương án nhất định khác, miền trime hóa khác loại bao gồm trình tự axit amin GYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL (SEQ ID NO: 4).

Như được mô tả ở trên, theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế bao gồm miền F1 được cắt ngắn. Như được sử dụng ở đây, miền F1 “được cắt ngắn” biểu thị miền F1 không phải là miền F1 dài đầy đủ, cụ thể là, trong đó một hoặc nhiều các phần axit amin đã bị xóa bỏ ở đầu cuối N hoặc ở đầu cuối C. Theo sáng chế, ít nhất miền xuyên màng và đuôi tế bào chất đã được xóa bỏ để cho phép biểu hiện như là miền ngoại bào tan được.

Theo các phương án nhất định khác, miền F1 được cắt ngắn sau khi phần axit amin 495 của protein RSV F (xem SEQ ID NO: 1), cụ thể là, phần đầu cuối-C của miền F1 bắt đầu từ phần axit amin 496 (xem SEQ ID NO: 1) đã được xóa bỏ. Theo các phương án nhất định khác, miền F1 được cắt ngắn sau phần axit amin 513 của protein RSV F. Theo các phương án nhất định, miền F1 được cắt ngắn sau phần axit amin 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 525 hoặc 525.

Theo các phương án nhất định, miền trime hóa được liên kết với phần axit amin 495 của miền RSV F1. Theo các phương án nhất định, miền trime hóa bao gồm SEQ ID NO: 4 và được liên kết với phần axit amin 495 của miền RSV F1.

Theo các phương án nhất định khác, miền trime hóa được liên kết với phần axit amin 513 của miền RSV F1. Theo các phương án nhất định, miền trime hóa bao gồm SEQ ID NO: 3 và được liên kết với phần axit amin 513 của miền RSV F1.

Theo các phương án nhất định, miền F1, mà được cắt ngắn một cách tùy ý, và miền F2 được liên kết bởi trình tự liên kết, liên kết axit amin đầu cuối-C của miền F2 với axit amin đầu cuối N của miền F1 (được cắt ngắn một cách tùy ý). Theo các phương án nhất định, trình tự liên kết (hoặc mạch liên kết) bao gồm từ 1 đến 10 phần axit amin, tốt hơn là từ 2 đến 9 phần axit amin, tốt hơn là từ 3 đến 8 phần axit amin, tốt hơn là từ 4 đến 7 phần axit amin, tốt hơn nữa là mạch liên kết bao gồm 5 hoặc 6 phần axit amin. Nhiều mạch liên kết tự nhiên về mặt cấu trúc là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật có thể được sử dụng theo sáng chế mà không phá vỡ cấu trúc của polypeptit RVS F tiền dung hợp. Theo các phương án ưu tiên, mạch liên kết bao gồm trình tự axit amin GSGSG (SEQ ID NO: 5).

Theo các phương án nhất định, miền F1 và/hoặc miền F2 là từ sợi RSV A. Theo các phương án nhất định miền F1 và/hoặc miền F2 là từ sợi RSV A2 có SEQ ID NO: 1.

Theo các phương án nhất định, miền F1 và/hoặc miền F2 là từ sợi RSV A là từ sợi RSV A có SEQ ID NO: 69.

Theo các phương án nhất định, miền F1 và/hoặc miền F là từ sợi RSV B. Theo các phương án nhất định miền F1 và/hoặc miền F2 là từ sợi RSV B có SEQ ID NO: 2.

Theo các phương án nhất định, miền F1 và miền F2 là từ cùng sợi RSV. Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp là polypeptit lai, cụ thể là, bao gồm các miền F1 và miền F2 từ các sợi RSV khác nhau.

Theo các phương án nhất định, mức biểu hiện của polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế được gia tăng, khi so với miền ngoại bào polypeptit RSV F loại-thuần chủng (cụ thể là, không có vùng xuyên màng và tế bào chất) không có (các) đột biến. Theo các phương án nhất định mức biểu hiện được gia tăng ít nhất 5 lần, tốt hơn là lên đến 10 lần. Theo các phương án nhất định, mức biểu hiện được gia tăng hơn 10 lần.

Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế là ổn định, cụ thể là, không sẵn sàng thay đổi thành cấu trúc sau-dung hợp do xử lý polypeptit, chẳng hạn như là, tinh lọc, các chu trình kết đông-xả đông, và/hoặc lưu trữ v.v..

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế có độ ổn định được gia tăng do lưu trữ ở 4°C khi so với polypeptit RSV F không có (các) đột biến. Theo các phương án nhất định, polypeptit là ổn định khi lưu trữ ở 4°C trong ít nhất 30 ngày, tốt hơn là ít nhất 60 ngày, tốt hơn là ít nhất 6 tháng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 1 năm. Đối với thuật ngữ “ổn định khi lưu trữ”, nó có nghĩa là polypeptit vẫn thể hiện ít nhất một epitop đặc trưng cho kháng thể đặc trưng tiền dung hợp (chẳng hạn, CR9501) khi lưu trữ polypeptit trong dung dịch (chẳng hạn, môi trường nuôi cấy) tại 4°C trong ít nhất 30 ngày, chẳng hạn, như được xác định bằng cách sử dụng phương pháp như được mô tả trong Ví dụ 7 hoặc 9. Theo các phương án nhất định, polypeptit thể hiện ít nhất một epitop tiền dung hợp-đặc trưng trong ít nhất 6 tháng, tốt hơn là trong ít nhất 1 năm khi lưu trữ polypeptit RSV F tiền dung hợp ở 4°C.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế có độ ổn định được gia tăng khi chịu nhiệt, khi so với Polypeptit RSV F không có (các) đột biến này. Theo các phương án nhất định, polypeptit REV F tiền dung hợp là ổn định nhiệt trong ít nhất 30 phút tại nhiệt độ là 55°C, tốt hơn là tại 58°C, tốt hơn nữa là tại 60°C. Đối với thuật ngữ “ổn định nhiệt”, nó có nghĩa là polypeptit vẫn thể hiện ít nhất một epitop tiền dung hợp-đặc trưng sau khi đã được chịu nhiệt độ tăng trong ít nhất 30 phút (cụ thể là, nhiệt độ là 55°C hoặc hơn), chẳng hạn, như được xác định bằng cách sử dụng phương pháp như được mô tả trong Ví dụ 6.

Theo các phương án nhất định, polypeptit thể hiện ít nhất một epitop tiền dung hợp-đặc trưng sau khi trải qua từ 1 đến 6 chu trình kết đông-xả đông trong chất đệm lập công thức phù hợp.

Theo các phương án ưu tiên nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin được lựa chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 21-52 và 71-89. Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin được lựa chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 21-52 và 71-89.

Như được sử dụng trong toàn bộ đơn, các trình tự nucleotit đơn được cung cấp từ hướng 5' đến 3', và các trình tự axit amin từ các đầu cuối N đến các đầu cuối C, như thông lệ trong lĩnh vực kỹ thuật.

Theo các phương án nhất định, polypeptit được mã hóa theo sáng chế còn bao gồm trình tự chính, cũng được gọi là trình tự tín hiệu hoặc peptit tín hiệu, tương ứng với các axit amin 1-26 có SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 hoặc SEQ ID NO: 69. Đây là peptit ngắn (thông thường dài từ 5 đến 30 axit amin) thể hiện ở các đầu cuối N của phần lớn các protein mới được tổng hợp, các protein này được dành hướng theo đường kích thích bài tiết. Theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế không bao gồm trình tự chính.

Theo các phương án nhất định, polypeptit bao gồm thẻ-HIS. Thẻ-HIS hoặc thẻ-polyhistidin là đoạn lặp axit amin trong các protein bao gồm ít nhất năm phần histidin (H), thường ở các đầu cuối N hoặc C của protein, mà thường được sử dụng cho các mục đích tinh lọc.

Theo các phương án nhất định, polypeptit không bao gồm thẻ-HIS. Theo sáng chế, điều ngạc nhiên được thể hiện là khi thẻ-HIS được xóa bỏ, thì mức biểu hiện và độ ổn định được gia tăng khi so với polypeptit có thẻ-HIS.

Sáng chế còn đề xuất các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F theo sáng chế.

Theo các phương án ưu tiên, các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế được tối ưu hóa-codon để biểu hiện trong các tế bào động vật có vú, tốt hơn là các tế bào người. Các phương pháp tối ưu hóa-codon là đã biết và đã được mô tả trước đây (chẳng hạn, WO 96/09378). Trình tự được cân nhắc tối ưu hóa-codon nếu ít nhất một codon không ưu tiên khi so với trình tự loại thuần chủng được thay thế bởi codon được ưu tiên hơn. ở đây, codon không ưu tiên là codon được sử dụng ít thường xuyên trong cơ quan hơn codon khác mã hóa cho cùng axit amin, và codon được ưu tiên hơn là codon được sử dụng thường xuyên trong cơ quan hơn codon không ưu tiên. Tần xuất sử dụng codon đối với cơ quan đặc trưng có thể

được tìm thấy trong các bảng tần xuất codon, như là trong <http://www.kazusa.or.jp/codon>. Tốt hơn là nhiều hơn một codon không ưu tiên, tốt hơn là hầu hết hoặc tất cả codon không ưu tiên, được thay thế bởi codon được ưu tiên hơn. Tốt hơn là các codon được sử dụng thường xuyên nhất trong cơ quan được sử dụng trong trình tự được tối ưu hóa-codon. Sự thay thế bởi các codon ưu tiên thường dẫn đến biểu hiện cao hơn.

Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng nhiều polynucleotit và phân tử axit nucleic khác nhau có thể mã hóa cùng polypeptit là kết quả của sự thoái giáng của mã gen. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực cũng hiểu rằng có thể, bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường, làm cho sự thay thế nucleotit không ảnh hưởng trình tự polypeptit được mã hóa bởi các phân tử axit nucleic để cho thấy sự sử dụng codon của cơ quan vật chủ cụ thể bất kỳ trong đó polypeptit sẽ được thể hiện. Do đó, trừ khi được chỉ ra khác, "trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin" bao gồm mọi trình tự nucleotit mà không phải là các phiên bản thoái giáng của nhau và mã hóa cùng trình tự axit amin. Các trình tự nucleotit mã hóa các protein và ARN có thể hoặc có thể không bao gồm các intron.

Các trình tự axit nucleic có thể được tách dòng bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử thông thường, hoặc được tạo ra mới hoàn toàn bằng cách tổng hợp ADN, mà có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các quy trình thông thường bởi các công ty dịch vụ có kinh doanh trong lĩnh vực tổng hợp ADN và/hoặc tách dòng phân tử (chẳng hạn, GeneArt, GenScripts, Invitrogen, Eurofins).

Sáng chế cũng đề xuất các vector bao gồm phân tử axit nucleic như được mô tả ở trên. Theo các phương án nhất định, phân tử axit nucleic theo sáng chế như vậy là một phần của vector. Các vector này có thể dễ dàng được thao tác bởi các phương pháp đã biết đối với chuyên gia trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, và có thể, ví dụ, được thiết kế có khả năng sao chép trong các tế bào nhân sơ và/hoặc nhân thật. Ngoài ra, nhiều vector có thể được sử dụng để biến nạp các tế bào nhân thật và sẽ hợp nhất toàn phần hoặc một phần thành hệ gen của các tế bào này, dẫn đến các tế bào vật chủ ổn định bao gồm axit nucleic được mong muốn trong

hệ gen của chúng. Vector được sử dụng có thể là vector bất kỳ mà thích hợp để tách dòng ADN và có thể được sử dụng để phiên mã axit nucleic quan tâm. Các vector phù hợp theo sáng chế là, chẳng hạn, adenocác vector, chẳng hạn như là, Ad26 hoặc Ad35, alphavirut, paramyxovirut, vaccinia virut, herpes virut, retrovirut các vector v.v.. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có khả năng lựa chọn các vector biểu hiện phù hợp, và chèn các trình tự axit nucleic theo sáng chế theo cách thức functional manner.

Các tế bào vật chủ bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F tiền dung hợp cũng tạo ra một phần của sáng chế. Polypeptit RSV F tiền dung hợp có thể được tạo ra thông qua công nghệ ADN tái tổ hợp bao gồm biểu hiện của các phân tử trong các tế bào vật chủ, chẳng hạn, các tế bào buồng trứng chuột lang Trung Quốc (Chinese hamster ovary - CHO), các dòng tế bào u, các tế bào BHK, các dòng tế bào người như là các tế bào HEK293, các tế bào PER.C6, hoặc men, nấm, các tế bào côn trùng, và các tế bào tương tự, hoặc động vật hoặc thực vật gen chuyển. Theo các phương án nhất định, các tế bào này là từ cơ quan đa bào, theo các phương án nhất định chúng thuộc nguồn gốc động vật có xương sống hoặc động vật không có xương sống. Theo các phương án nhất định, các tế bào này là các tế bào động vật có vú. Theo các phương án nhất định, các tế bào này là các tế bào người. Nói chung, việc tạo ra các protein tái tổ hợp, như polypeptit RSV F tiền dung hợp theo sáng chế, trong tế bào vật chủ bao gồm việc đưa phân tử axit nucleic khác loại mã hóa polypeptit theo định dạng biểu hiện được vào tế bào vật chủ, nuôi cấy các tế bào này trong các điều kiện truyền dẫn đối với biểu hiện của phân tử axit nucleic và cho phép biểu hiện của polypeptit trong tế bào này. Phân tử axit nucleic mã hóa protein ở định dạng biểu hiện được có thể ở dạng catxet biểu hiện, và thường yêu cầu các trình tự có khả năng lộ ra biểu hiện của axit nucleic, như là (các) trình tự tăng cường, trình tự khởi đầu phiên mã, tín hiệu polyadenyl hóa, và trình tự tương tự. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật nhận thức rằng các trình tự khởi đầu phiên mã khác nhau có thể được sử dụng để thu được biểu hiện của gen trong các tế bào vật chủ. Các trình tự khởi đầu phiên mã có thể là cơ bản hoặc được điều hòa, và có thể thu được từ nhiều

nguồn khác nhau, bao gồm virus, các nguồn nhân sơ, hoặc nhân thật, hoặc được thiết kế nhân tạo.

Môi trường nuôi cấy tế bào là sẵn có từ nhiều nhà cung cấp khác nhau, và môi trường phù hợp có thể được chọn theo thông lệ cho tế bào vật chủ để biểu hiện protein quan tâm, ở đây là polypeptit RSV F tiền dung hợp. Môi trường thích hợp có thể hoặc có thể không chứa huyết thanh.

“Phân tử axit nucleic khác loại” (cũng được dẫn chiếu đến ở đây như là ‘gen chuyển’) là phân tử axit nucleic không tự nhiên có mặt trong tế bào vật chủ. Nó được đưa vào, ví dụ, vector bởi các kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn. Gen chuyển thường được liên kết hoạt động được với các trình tự điều khiển biểu hiện. Điều này có thể, ví dụ, được thực hiện bằng cách đặt axit nucleic mã hóa (các) gen chuyển dưới sự điều khiển của trình tự khởi đầu phiên mã. Các trình tự điều hòa khác có thể được bổ sung. Nhiều trình tự khởi đầu phiên mã có thể được sử dụng cho sự biểu hiện của (các) gen chuyển, và là đã biết đối với chuyên gia trung bình trong lĩnh vực, chẳng hạn, các trình tự này có thể bao gồm các trình tự khởi đầu phiên mã virus, động vật có vú, nhân tạo, và trình tự tương tự. Ví dụ không để giới hạn của trình tự khởi đầu phiên mã phù hợp để thu được biểu hiện trong các tế bào nhân thật là trình tự khởi đầu phiên mã-CMV (US 5,385,839), chẳng hạn, trình tự khởi đầu phiên mã sớm tức thì CMV, ví dụ bao gồm nt. -735 đến +95 từ trình tự tăng cường gen/trình tự khởi đầu phiên mã sớm tức thì CMV. Tín hiệu polyadenyl hóa, ví dụ, tín hiệu polyA hormone sinh trưởng của bò (US 5,122,458), có thể có mặt sau (các) gen chuyển. Theo cách khác, một số các vector được sử dụng rộng rãi biểu hiện là sẵn có trong lĩnh vực kỹ thuật và từ các nguồn thương mại, chẳng hạn, chuỗi vector pcADN và pEF của Invitrogen, pMSCV và pTK-Hyg từ BD Sciences, pCMV-Script từ Stratagene, v.v., các vector này có thể được sử dụng để biểu hiện tái tổ hợp protein quan tâm, hoặc để thu được các trình tự khởi đầu phiên mã và/hoặc các trình tự kết thúc phiên mã, các trình tự polyA phù hợp, và trình tự tương tự.

Nuôi cấy tế bào có thể là dạng nuôi cấy tế bào bất kỳ, bao gồm nuôi cấy tế bào dính, ví dụ tế bào dính vào bề mặt của bình nuôi cấy hoặc vi chất mang, cũng như nuôi cấy huyền phù. Nuôi cấy huyền phù phạm vi lớn nhất được thực hiện là các quy trình mẻ hoặc mẻ cho ăn bởi vì chúng dễ thực hiện và mở rộng phạm vi nhất. Ngày nay, các quy trình liên tục dựa trên các nguyên lý tưới đang trở nên phổ biến và cũng phù hợp hơn. Môi trường nuôi cấy phù hợp cũng là đã biết đối với chuyên gia trung bình trong lĩnh vực và thông thường có thể thu được từ các nguồn thương mại với số lượng lớn, hoặc tự-tạo theo các trình thức tiêu chuẩn. Nuôi cấy có thể được thực hiện, ví dụ, trong các đĩa, các chai lắc hoặc trong các buồng phản ứng sinh học, sử dụng hệ thống mẻ, mẻ cho ăn, hệ thống liên tục và tương tự. Các điều kiện thích hợp để nuôi cấy tế bào là đã biết (xem, ví dụ, Tissue Culture, Academic Press, Kruse và Paterson, các nhà biên soạn (1973), và R.I. Freshney, Culture of animal cells: A manual of basic technique, fourth edition (Wiley-Liss Inc., 2000, ISBN 0-471-34889-9)).

Sáng chế còn đề xuất các hợp chất bao gồm polypeptit RSV F tiền dung hợp và/hoặc phân tử axit nucleic, và/hoặc vector, như được mô tả ở trên. Như vậy, sáng chế đề xuất các hợp chất bao gồm polypeptit RSV F tiền dung hợp mà thể hiện epitop có mặt trong cấu trạng tiền dung hợp của protein RSV F nhưng không có mặt trong cấu trạng sau-dung hợp. Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất bao gồm phân tử axit nucleic và/hoặc vector, mã hóa polypeptit RSV F tiền dung hợp này. Sáng chế còn đề xuất các hợp chất sinh miễn dịch bao gồm polypeptit RSV F tiền dung hợp, và/hoặc phân tử axit nucleic, và/hoặc vector, như được mô tả ở trên. Sáng chế cũng đề xuất cách sử dụng polypeptit RSV F tiền dung hợp được ổn định, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector, theo sáng chế, để cảm sinh phản ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng. Còn được đề xuất là các phương pháp để cảm sinh phản ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng, bao gồm dùng polypeptit RSV F tiền dung hợp, và/hoặc phân tử axit nucleic, và/hoặc vector, theo sáng chế cho đối tượng. Cũng được đề xuất là polypeptit RSV F tiền dung hợp, các phân tử axit nucleic, và/hoặc các vector, theo sáng chế để dùng trong cảm sinh phản ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng. Còn được đề

xuất là cách sử dụng polypeptit RSV F tiền dung hợp, và/hoặc các phân tử axit nucleic, và/hoặc các vectơ theo sáng chế để sản xuất được phẩm để sử dụng trong cảm sinh phản ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng.

Polypeptit RSV F tiền dung hợp, các phân tử axit nucleic, hoặc các vectơ theo sáng chế có thể được sử dụng để ngăn chặn (phòng ngừa) và/hoặc điều trị xâm nhiễm RSV. Theo các phương án nhất định, việc ngăn chặn và/hoặc điều trị có thể nhắm vào các nhóm bệnh nhân dễ bị xâm nhiễm RSV. Các nhóm bệnh nhân này bao gồm, nhưng không giới hạn trong chẳng hạn, người già (chẳng hạn, ≥ 50 tuổi, ≥ 60 tuổi, và tốt hơn là ≥ 65 tuổi), trẻ nhỏ (chẳng hạn, ≤ 5 tuổi, ≤ 1 tuổi), các bệnh nhân nhập viện và các bệnh nhân đã được điều trị bởi hợp chất kháng virus nhưng có thể hiện phản ứng kháng virus không thích hợp.

Polypeptit RSV F tiền dung hợp, các phân tử axit nucleic và/hoặc các vectơ theo sáng chế có thể được sử dụng chẳng hạn, trong việc điều trị và/hoặc phòng ngừa độc lập bệnh hoặc tình trạng được gây ra bởi RSV, hoặc kết hợp với các điều trị phòng ngừa và/hoặc chữa trị, như là các vaccin, chất kháng virus và/hoặc kháng thể đơn dòng (đã có hoặc sẽ có).

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp để ngăn chặn và/hoặc điều trị sự xâm nhiễm RSV ở đối tượng utilizing polypeptit RSV F tiền dung hợp, các phân tử axit nucleic và/hoặc các vectơ theo sáng chế. Trong phương án đặc trưng, phương pháp để ngăn chặn và/hoặc điều trị xâm nhiễm RSV ở đối tượng bao gồm dùng cho đối tượng khi cần của chúng lượng hiệu quả polypeptit RSV F tiền dung hợp, phân tử axit nucleic và/hoặc vectơ, như được mô tả ở trên. Lượng chữa trị hiệu quả biểu thị lượng polypeptit, phân tử axit nucleic hoặc vectơ, hiệu quả để ngăn chặn, cải thiện và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng do xâm nhiễm RSV. Sự ngăn chặn bao gồm ức chế hoặc làm giảm sự lây lan của RSV hoặc ức chế hoặc làm giảm sự tấn công, phát triển hoặc tiến triển của một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến sự xâm nhiễm bởi RSV. Sự cải thiện như được sử dụng ở đây có thể đề cập đến sự suy giảm của các triệu chứng bệnh thấy được hoặc cảm nhận được, virus-huyết, hoặc biểu hiện đo được khác bất kỳ của sự nhiễm bệnh cúm.

Để dùng cho các đối tượng, như là con người, sáng chế có thể sử dụng được phẩm bao gồm polypeptit RSV F tiền dung hợp, phân tử axit nucleic và/hoặc vector như được mô tả ở đây, và chất mang hoặc tá dược được dụng. Theo nội dung sáng chế, thuật ngữ "dược dụng" có nghĩa là chất mang hoặc tá dược, ở các liều lượng và nồng độ được sử dụng, sẽ không gây ra các tác dụng có hại hoặc không mong muốn ở các đối tượng mà chúng được sử dụng. Các chất mang và tá dược được dụng này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (xem Remington's Pharmaceutical Sciences, tái bản lần thứ 18, A. R. Gennaro, Ed., Mack Publishing Company [1990]; Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins, S. Frokjaer và L. Hovgaard, Eds., Taylor & Francis [2000]; và Handbook of Pharmaceutical Excipients, tái bản lần thứ ba, A. Kibbe, Ed., Pharmaceutical Press [2000]). Polypeptit RSV F, hoặc các phân tử axit nucleic, tốt hơn là được lập công thức và được dùng như là dung dịch vô trùng mặc dù nó cũng có thể cũng dùng các chế phẩm được làm khô lạnh. Các dung dịch vô trùng được điều chế bởi lọc vô trùng hoặc bởi các phương pháp khác đã biết bản chất trong lĩnh vực kỹ thuật. Các dung dịch sau đó được làm khô lạnh hoặc đổ đầy vào các vật chứa liều lượng được. Độ pH của dung dịch thường nằm trong khoảng pH từ 3,0 đến 9,5, chẳng hạn, pH từ 5,0 đến 7,5. Polypeptit RSV F thường ở trong dung dịch có chất đệm được dụng phù hợp, và hợp chất này có thể cũng chứa muối. Chất làm ổn định tùy ý có thể có mặt, như albumin. Theo các phương án nhất định, chất tẩy được bổ sung. Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F có thể được lập công thức thành chế phẩm tiêm được.

Theo các phương án nhất định, hợp chất theo sáng chế còn bao gồm một hoặc nhiều tá dược. Các tá dược được biết trong lĩnh vực kỹ thuật là còn gia tăng phản ứng miễn dịch cho chất quyết định kháng nguyên được sử dụng. Các thuật ngữ "tá dược" và "chất kích thích miễn dịch" được sử dụng thay thế được cho nhau ở đây, và được định nghĩa là một hoặc nhiều chất gây ra sự kích thích của hệ miễn dịch. Theo nội dung này, tá dược được sử dụng để nâng cao phản ứng miễn dịch cho polypeptit RSV F theo sáng chế. Các ví dụ của các tá dược phù hợp bao gồm các muối nhôm như là nhôm hydroxit và/hoặc nhôm phosphat; các hợp chất nhũ

trung-dầu (hoặc các hợp chất dầu trong nước), bao gồm các nhũ tương squalen-nước, như là MF59 (xem ví dụ, WO 90/14837); chất lập công thức saponin, như là ví dụ QS21 và Immunostimulating Complexes (ISCOMS) (xem chẳng hạn, US 5,057,540; WO 90/03184, WO 96/11711, WO 2004/004762, WO 2005/002620); các dẫn xuất vi khuẩn hoặc vi trùng, các ví dụ của chúng là monophosphoryl lipid A (MPL), 3-O-deacylated MPL (3dMPL), môtip-CpG chứa cá oligonucleotit, các độc tố vi khuẩn ribosylat hóa-ADP hoặc các đột biến của chúng, như là *E. coli* độc tố ruột không bền nhiệt LT, độc tố tả CT, và các chất tương tự; các protein nhân thật (chẳng hạn, các kháng thể hoặc các đoạn của chúng (chẳng hạn, nhằm chống bản thân kháng nguyên hoặc CD1a, CD3, CD7, CD80) và các phối tử đến các thụ thể (chẳng hạn, CD40L, GMCSF, GCSF, v.v.), mà kích thích phản ứng miễn dịch dựa trên sự tương tác với các tế bào thụ nhận. Theo các phương án nhất định, các hợp chất theo sáng chế bao gồm tá dược nhôm, chẳng hạn, dưới dạng nhôm hydroxit, nhôm phosphat, nhôm kali phosphat, hoặc các kết hợp của chúng, ở nồng độ từ 0,05 đến 5mg, chẳng hạn, từ 0,075-1,0 mg, hàm lượng nhôm mỗi liều.

Polypeptit RSV F tiền dung hợp có thể cũng được dùng kết hợp với hoặc được tiếp hợp với các hạt nano, chẳng hạn như là, polyme, liposom, virosom, các hạt giống virut. Polypeptit F tiền dung hợp có thể được kết hợp với, được bọc trong hoặc được tiếp hợp với các hạt nano có hoặc không có tá dược. Sự bao bọc bên trong các liposom được mô tả, chẳng hạn, trong US 4,235,877. Sự tiếp hợp với các đại phân tử được bộc lộ, ví dụ trong US 4,372,945 hoặc US 4,474,757.

Theo các phương án khác, các hợp chất không bao gồm các tá dược.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất các phương pháp để tạo ra vaccin chống virut hợp bào hô hấp (RSV), bao gồm bước tạo ra hợp chất theo sáng chế và lập công thức chất này thành hợp chất dược dụng. Thuật ngữ "vaccin" biểu thị chất hoặc hợp chất chứa thành phần hoạt tính có hiệu quả cảm sinh mức độ miễn dịch nhất định ở đối tượng chống lại mầm bệnh hoặc bệnh nhất định, mà sẽ có kết quả ít nhất là làm giảm (đến vắng mặt hoàn

toàn) độ nặng, thời gian hoặc biểu hiện khác của các triệu chứng liên quan đến sự xâm nhiễm bởi mầm bệnh hoặc bệnh. Theo sáng chế, vaccin bao gồm lượng hiệu quả polypeptit RSV F tiền dung hợp và/hoặc phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F tiền dung hợp, và/hoặc vector bao gồm phân tử axit nucleic này, mà dẫn đến phản ứng miễn dịch chống protein F của RSV. Sáng chế đề xuất phương pháp ngăn chặn bệnh hệ hô hấp suy giảm nghiêm trọng dẫn đến nhập viện và sự giảm tần xuất của các biến chứng như là viêm phổi và viêm phế quản do xâm nhiễm RSV và sinh sôi ở đối tượng. Thuật ngữ “vaccin” theo sáng chế nghĩa là dược phẩm, và do đó chủ yếu bao gồm chất pha loãng dược dụng, chất mang hoặc tá dược. Nó có thể hoặc không bao gồm các thành phần hoạt tính khác. Theo các phương án nhất định nó có thể là vaccin tổ hợp, vaccin này còn bao gồm các thành phần khác cảm sinh phản ứng miễn dịch, chẳng hạn, chống các protein khác của RSV và/hoặc chống các tác nhân xâm nhiễm khác. Việc dùng các thành phần hoạt tính khác có thể, ví dụ, được thực hiện bằng cách dùng tách biệt hoặc bằng cách dùng các sản phẩm kết hợp của vaccin theo sáng chế và các thành phần hoạt tính khác.

Các hợp chất có thể được dùng cho đối tượng, chẳng hạn, đối tượng con người. Liều tổng của polypeptit RSV F trong hợp chất cho một lần dùng có thể ví dụ, khoảng 0,01 µg đến khoảng 10 mg, chẳng hạn, 1 µg – 1 mg, chẳng hạn, 10 µg – 100 µg. Việc xác định liều được khuyến cáo sẽ được thực hiện bởi thí nghiệm và là thông thường đối với các chuyên gia có kỹ thuật trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Việc dùng các hợp chất theo sáng chế có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các đường dùng tiêu chuẩn. Các phương án không làm giới hạn bao gồm dùng ngoài ruột, như là dùng trong da, trong cơ, dưới da, xuyên qua da, hoặc qua màng nhầy, chẳng hạn, qua mũi, miệng, và các đường tương tự. Theo một phương án, hợp chất được dùng bằng cách tiêm trong cơ. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực biết các khả năng khác nhau để dùng hợp chất, chẳng hạn, vaccin để cảm sinh phản ứng miễn dịch đối với (các) kháng nguyên trong vaccin.

Đối tượng như được sử dụng ở đây tốt hơn là động vật có vú, ví dụ loài gặm nhấm, chẳng hạn, chuột, chuột bông, hoặc động vật linh trưởng không phải người, hoặc người. Tốt hơn là, đối tượng này là đối tượng người.

Polypeptit, các phân tử axit nucleic, các vectơ, và/hoặc các hợp chất có thể cũng được dùng, làm chất tạo môi, hoặc chất gia cường, trong chế độ tạo môi-gia cường cùng loại hoặc khác loại. Nếu sự chủng ngừa gia cường được thực hiện, thường, sự chủng ngừa gia cường này sẽ được dùng cho cùng đối tượng tại thời điểm giữa một tuần và một năm, tốt hơn là giữa hai tuần và bốn tháng, sau khi dùng hợp chất cho đối tượng lần đầu tiên (mà trong các trường hợp này được gọi là ‘sự chủng ngừa tạo môi’). Theo các phương án nhất định, việc dùng bao gồm dùng tạo môi và ít nhất một lần dùng gia cường.

Ngoài ra, polypeptit theo sáng chế có thể được sử dụng làm công cụ chuẩn đoán, ví dụ để kiểm tra tình trạng miễn dịch của cá thể bằng cách chứng minh có các kháng thể trong huyết thanh của cá thể này có khả năng gắn kết với polypeptit theo sáng chế hay không. Do đó, sáng chế cũng đề cập đến phương pháp chuẩn đoán trong ống nghiệm để phát hiện sự có mặt của xâm nhiễm RSV ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm các bước a) cho tiếp xúc mẫu sinh học thu được từ bệnh nhân này với polypeptit theo sáng chế; và b) dò sự có mặt của phức chất kháng thể-polypeptit.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp để ổn định cấu trạng tiền dung hợp của Polypeptit RSV F, bao gồm đưa một hoặc nhiều đột biến vào miền RSV F1 và/hoặc miền F2, khi so với miền RSV F1 và/hoặc miền F2 loại-thuần chủng, trong đó một hoặc nhiều đột biến được lựa chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến ổn định khóa miền HRA khỏi nối trong vùng liền kề với cầu disulfit 69-212 dự trữ, vùng này bao gồm các phần axit amin 66-68 và 214-216,
- (b) đột biến ở chuỗi xoắn (ở các đầu cuối C của miền F2) bao gồm các phần axit amin 76-98 ở các đầu cuối C của miền F2;

(c) đột biến làm giảm lực đẩy tích điện âm ở giữa đỉnh của vùng gốc HRB (đầu cuối-N của HRB) bao gồm các axit amin 486, 487 và 489; và

(d) đột biến ổn định trong vùng HRA.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong vùng bản lề HRA ở vị trí 67.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong vùng bản lề HRA ở vị trí 215.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong vùng bản lề HRA ở vị trí 66 hoặc 68, và/hoặc ở vị trí 214 hoặc 216.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong chuỗi xoắn ở vị trí 77.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong chuỗi xoắn ở vị trí 80.

Theo các phương án nhất định, phần axit amin ở vị trí 77 và/hoặc 80 được thay đổi thành axit amin tích điện âm.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến ở vị trí 92.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến làm giảm lực đẩy tích điện âm ở giữa đỉnh của vùng gốc HRB bao gồm các axit amin 486, 487, 489.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến ở vị trí 489.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến ở vị trí 486.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến ổn định các cuộn vòng-beta ở giữa các phần axit amin 175-193.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến đang ổn định cuộn vòng ở vị trí 175.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến đang ổn định cuộn vòng ở vị trí 184 -185.

Polypeptit RSV F tiền dung hợp được ổn định có thể thu được và/hoặc thu được bởi phương pháp này cũng tạo thành một phần theo sáng chế, cũng như cách sử dụng chúng như được mô tả ở trên.

Sáng chế còn được diễn giải trong các ví dụ sau. Các ví dụ không giới hạn sáng chế theo bất kỳ cách nào. Chúng chỉ dùng để làm rõ sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế**VÍ DỤ 1**

Điều chế các mạch liên kết-polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định và trime hóa các miền

Theo nghiên cứu dẫn đến sáng chế, các biến thể được ổn định của protein F tiền dung hợp tan được (sF) được thiết kế bằng cách ổn định hai vùng chính khởi đầu gấp nếp. Phương pháp thứ nhất để hoãn sự dung hợp peptit ở vị trí của nó và ngăn chặn nó không giải phóng khỏi phần đầu bằng cách cố định và liên kết các miền F1 - F2 bởi vòng ngắn. Sự giải phóng peptit dung hợp có thể được ngăn chặn bằng cách tái thiết lập liên kết cộng hóa trị của các đầu cuối N của F1 với các đầu cuối C của F2. Như được thể hiện trong ví dụ này, một số mạch liên kết khác nhau đã được thử. Việc chèn 5 vòng axit amin ở giữa F1 và F2, cụ thể là bao gồm trình tự axit amin GSGSG (SEQ ID NO: 5), là thành công nhất. Mạch liên kết này được thiết kế dựa trên các khoảng cách đo được trong mô hình tương đồng 3D mà được tạo ra cho RSV-F tuýp A2 dựa trên việc căn chỉnh trình tự với F trình tự của virus cúm tuýp 5, cấu trúc 3D đã được công bố cho virus này (Yin và cộng sự, 2006).

```

AAA47881PIV5 -----MGTIIQFLVVSCLLAGAGSLDPAALMQIGVIPTNVRQLMYYTEASSA
FUS_HRSV1B -----MELLIHRSSAIFLTLAVNALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYT
ACO83301HRSVA2ref -----MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYT

.:* *.. : ... : * ... : . :

AAA47881PIV5 FIVVKLMPTIDSPISGCNI--TSISSYNATVTKLLQPIGENLETIRNQLIP--TRRRRR-
FUS_HRSV1B SVITIELSNIKET--KCNGTDTKVKLKIQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRAREAP
ACO83301HRSVA2ref SVITIELSNIKN--KCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELP

:.. :..*.. ** :... : : * :.. : * :.. . **.

AAA47881PIV5 -----FAGVVIGLAALGVATAAQVTAVALVKANENAAAAILNLKNAIQ
FUS_HRSV1B QYMNNTINTTKNLNVSISKRRRRLGFLLGVSAGIASGIAVSKVLHLEGEVNKIKNALL
ACO83301HRSVA2ref RFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRRRFLGFLLGVSAGIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALL

: : :...: :...*: * . . : :*:*:

```

AAA47881PIV5 KTNAADVAVVQATQSLGTAVQAVQDHINSVVSPAITAANCKAQDAIIGSILNLYLTELTT
 FUS_HRSV1B STNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYINNRLLPVNNQSCRISNIETVIEFQQMNSRLLE
 ACO83301HRSVA2ref STNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLPVNNKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLE
 .** **..: :... * : * ::::*: . : * .. .* .. : : ..*

AAA47881PIV5 IFHNQITNP-ALSPITIQALRILLGSTLPTVVEKSFNTQISAAELLSSGLLTGQIVGLDL
 FUS_HRSV1B ITREFSVNAGVTTPSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSII
 ACO83301HRSVA2ref ITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSII
 * : : .* . . :*: * :* . : : : : . . . : :

AAA47881PIV5 TYMQMVIKIELPTLTVQPATQIIDLATISAFI--NNQEVMAQL--PTRVMVTG--SLIQA
 FUS_HRSV1B KEEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFF
 ACO83301HRSVA2ref KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRDRGWYCDNAGSVSFF
 . . . :** * .. : : . : : . . . *:

AAA47881PIV5 YPASQCTITPNTVYCRYNDAQVLSDDTMACLOGN--LTRCTFSPVVGSLTRFVLFDGI
 FUS_HRSV1B PQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLG-
 ACO83301HRSVA2ref PQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLNVDFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLG-
 * . *: .* *: * : : .*... * . *: . . . : : *

AAA47881PIV5 VYANCRS-MLCKCMQPAAVILQPSSEPVTVIDMYKCVSLQLDNLRFITITQLANVTYNSTI
 FUS_HRSV1B AIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFNNGCDYVSNKGVDTVSGNTLYYVKNLEGKNLYVKG
 ACO83301HRSVA2ref AIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFNNGCDYVSNKGVDTVSGNTLYYVKNQEGKSLYVKG
 . ..* . *.. : *:. *. .. :...* : : : . . .

AAA47881PIV5 KLESS--QILSIDPLDISQNLA AVNKSLS DALQHLAQSDTYLSAITSATTTT--VLSIIA
 FUS_HRSV1B EPIINYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLHNVNTGKSTTNIMITTII
 ACO83301HRSVA2ref EPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTII
 : . : * : . : : . : : **::: :* . : ** * : : . : * : : *

AAA47881PIV5 ICLGSLGLILIIILSVVWVWKLITIVVANRNRMENFVYHK-----
 FUS_HRSV1B IVIIVVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTLSKDQLSGINNIASF--
 ACO83301HRSVA2ref IVIIVVLLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIASFN-----
 * : : * ** : : : * . *: : . : :

Việc căn chỉnh giữa trình tự F của HRSV tuýp A và B với PIV5 (trình tự trên cùng) mà được sử dụng để xây dựng mô hình tương đồng của RSV-F trước dung hợp

Vùng không ổn định là vùng lặp bộ bảy thứ hai (HRB) mà tạo ra vùng gốc xoắn trime trong protein F tiền dung hợp. Việc xóa bỏ miền xuyên màng (TM) trong protein F tan được còn làm mất ổn định vùng này, mà được bù bởi sự bổ sung của các miền trime hóa khác loại khác nhau. Miền ngoại bào RSV-F trưởng thành được xử lý hoàn toàn được dung hợp ở đầu cuối C với các miền trime hóa khác và ở các vị trí khác nhau (cụ thể là, miền F1 được cắt ngắn ở các phần axit amin khác nhau).

Một số cấu trúc được thực hiện dựa trên các sợi RSV A2 hoặc B1. Các miền trime hóa khác nhau được liên kết với miền RSV F1, miền này được cắt ngắn ở các vị trí khác nhau. Các miền trime hóa được kiểm tra bao gồm motif Fibritin (bao gồm trình tự axit amin: GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (SEQ ID NO: 4), và motif “Fibritin dài”, là miền fibritin được mở rộng đầu cuối-N dài hơn, bao gồm các vùng xoắn tự nhiên của nó (bao gồm trình tự axit amin: SSLQGDVQALQEAGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (SEQ ID NO: 6), mà được bổ sung vào miền RSV F1 trong khung (trong máy ghi) với sự lặp bộ bảy được dựa đoán của vùng HRB.

Các cấu trúc khác được tạo ra bao gồm các cuộn xoắn trime xoắn lý tưởng bộ bảy, hoặc các miền khóa kéo Isoleuxin (IZ) (Suzuki và cộng sự, Protein Engineering 11: 1051-1055 (1998)), bao gồm trình tự axit amin: IEAIEKK (SEQ ID NO: 7). Theo sáng chế các miền IZ khác nhau được sử dụng, được gọi là khóa kéo Isoleuxin (L), bao gồm trình tự axit amin: (I)EKKIEAIEKKIEAIEKKIEAIEAIEKKIEA (SEQ ID NO: 8) và khóa kéo Isoleuxin (S), bao gồm trình tự axit amin EKKIEAIEKKIEAIEKKIEA (SEQ ID NO: 3).

Các miền IZ này có thể so sánh được về cấu trúc với GCN4, tuy nhiên, các miền IZ này không phải là các trình tự tự nhiên mà được thiết kế là các miền trime hóa tối ưu và do đó ổn định hơn.

Các cấu trúc khác được thực hiện với các miền trime hóa đã biết khác:

GCN4II

EDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGEA (SEQ ID NO: 9)

GCN4II được tối ưu hóa

EDKVEELLSKIYHIENRIARIEKLVGEA (SEQ ID NO: 10)

Matrilin -1 (bản dài)

EEDPCECKSIVKFQTKVEELINTLQQKLEAVAKRIEALenkII (SEQ ID NO: 11)

Matrillin- 1 bản ngắn chỉ chứa miền khóa kéo:

EELINTLQQKLEAVAKRIEALenkII (SEQ ID NO: 12)

Các cấu trúc sau được tạo ra:

Cấu trúc F18 bao gồm miền trime hóa fibritin (SEQ ID NO: 4) được liên kết với phần axit amin 513 của miền F1.

Cấu trúc F19 bao gồm miền trime hóa fibritin (SEQ ID NO: 4) được liên kết với phần axit amin 499 của miền F1.

Cấu trúc F20 bao gồm khóa kéo Isoleuxin (L) miền (SEQ ID NO: 8) được liên kết với phần axit amin 516 của miền F1 và bao gồm các biến đổi bổ sung trong HRB để tối ưu hóa bản chất kỵ nước của các vị trí bộ bảy và tạo thuận lợi cho sự dung hợp trong khung với miền IZ.

Cấu trúc F21 cũng bao gồm miền khóa kéo Isoleuxin (L) (SEQ ID NO: 8), nhưng được liên kết với phần axit amin 501 của miền F1 và không có các biến đổi bổ sung trong vùng HRB.

Cấu trúc F22 bao gồm miền khóa kéo Isoleuxin (L) (SEQ ID NO: 8) được liên kết với phần axit amin 495 của miền F1 và bao gồm các biến đổi bổ sung trong HRB.

Cấu trúc F23 bao gồm miền khóa kéo Isoleuxin (S) (SEQ ID NO: 3) được liên kết với phần axit amin 495.

Cấu trúc F46 cũng bao gồm miền khóa kéo Isoleuxin (S) (SEQ ID NO: 3) nhưng được liên kết với miền ngoại bào RSV-F dài hơn, cụ thể là, miền F1 được cắt ngắn sau phần axit amin 513.

Mọi cấu trúc bao gồm thẻ-HIS.

Các cấu trúc được kiểm tra về các mức biểu hiện, độ ổn định lưu trữ và kháng thể gắn kết với kháng thể CR9501. Trình tự các axit amin của các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ, và của các CDR chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể này được cho dưới đây. CR9501 bao gồm các vùng gắn kết của các kháng thể được gọi là 58C5 trong WO2012/006596.

Các cấu trúc được tổng hợp và được tối ưu hóa-codon tại Gene Art (Life Technologies, Carlsbad, CA). Các cấu trúc được tách dòng thành pCADN2004 hoặc được tạo ra bởi các phương pháp tiêu chuẩn đã biết rộng rãi trong lĩnh vực bao gồm gây đột biến điểm định hướng và PCR và xếp trình tự. Nền biểu hiện được sử dụng là các tế bào 293Freestyle (Life Technologies). Các tế bào này được chuyển nạp tạm thời bằng cách sử dụng 293Fectin (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và được nuôi cấy trong 5 ngày tại 37°C và 10% CO₂. Phần nổi nuôi cấy được thu hoạch và quay trong 5 phút tại 300g để loại bỏ các tế bào và mảnh tế bào. Phần nổi đã được quay được lọc vô trùng liên tục bằng cách sử dụng máy lọc chân không 0,22 um và được lưu trữ tại 4°C cho đến khi sử dụng.

Các dịch nổi từ ngày 5 được đánh giá về biểu hiện protein F bởi thí nghiệm western blot bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng CR9503, mà bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể RSV F Motavizumab (được gọi là CR9503). Các mức biểu hiện thích hợp của các cấu trúc protein RSV F tiền dung hợp được đánh giá bằng cách sử dụng CR9503, là kháng thể thứ cấp được tiếp hợp nhuộm-hồng ngoại kháng-người (Li-Cor, Lincoln, NE) hoặc IgG chuột kháng người được tiếp hợp HRP (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA). Các số lượng Protein sau đó được ước lượng bằng cách sử dụng chuỗi pha loãng của protein tiêu chuẩn RSV được tinh lọc, bằng mắt hoặc bằng cách sử dụng hệ thống tạo ảnh chiếu hồng ngoại Odyssey CLx. Theo cách khác, Bộ tám định lượng (Giao thoa màng

sinh học) được sử dụng để đo nồng độ protein trong Các dịch nổi. Để đánh giá độ ổn định cấu trúc và để nhận dạng các tác động ổn định dương tính hoặc tiêu cực của các motif trimer hóa được đưa vào, các cấu trúc có khả năng gắn kết CR9501 được xử lý tại khoảng nhiệt độ từ 45 đến 65 °C trong 30 phút để kiểm tra độ ổn định của epitop CR9501. Quy trình này được mô tả chi tiết trong Ví dụ 8. Các kết quả được tổng hợp trong Bảng 1.

Bảng 1. Biểu hiện và độ ổn định của các cấu trúc RSV F có các motif trimer hóa khác nhau

Protein RSV	Mô tả				Độ ổn định*
	Motif trimer hóa	Các biến đổi	Điểm cuối	Biểu hiện (ug/ml)	
F18	Fibritin	Không có	513	2	không ổn định
F19	Fibritin	Không có	499	0	ND
F20	khóa kéo Isoleuxin (L)	502 509 516 Ile	516	0	ND
F21	khóa kéo Isoleuxin (L)	Không có	501	0	ND
F22	khóa kéo Isoleuxin (L)	K483E + E488K	495	0	ND
F23	khóa kéo Isoleuxin (S)	Không có	495	0,3 ¹	ổn định
F46	khóa kéo Isoleuxin (S)	Không có	513	Không biểu hiện	ND
*Độ ổn định được xác định như được mô tả trong Ví dụ 7; ND: Không được xác định.					
¹ Mức biểu hiện được xác định bởi Western Blot như được mô tả trong Ví dụ 1.					

Như có thể thấy trong Bảng 1, chỉ các cấu trúc được thể hiện là biến thể Fibritin (F18) và F23. Mặc dù F18 là biểu hiện trimer và được thể hiện, nhưng nó không ổn định khi lưu trữ tại 4°C. ngược lại, F23 ổn định tại 4°C, gắn kết với các kháng thể tiền dung hợp–đặc trưng,

nhưng là monome. Do đó, cả hai biến thể F18 và F23 được sử dụng để tối ưu hóa cả độ ổn định và sự trime hóa.

Tiếp theo, một số các cấu trúc được tạo ra trong đó peptit dung hợp ở các đầu cuối N của F1 được cố định nhờ sự dung hợp vào các đầu cuối C của miền F2. Mọi cấu trúc bao gồm thể-His.

Một số các cấu trúc được tạo ra bao gồm các cấu trúc trong đó cả hai furin phân tách vị trí được đột biến dẫn đến protein F tan được, protein này vẫn chứa peptit p27 (cụ thể là, F12, F15.1, và F17). Trong các cấu trúc khác, vùng phần 27 (vòng P27) được tách ra từ tiền chất F0 được thay thế bởi trình tự liên kết hoặc vòng đóng khác: bằng cách thay thế vùng của RSV-F bởi vùng ‘cùng loại’ của PIV-5 F, protein F trước dung hợp đã được tạo ra và tinh thể hóa thành công (F25), hoặc bằng cách thay thế vùng này bởi vòng (GS)_n tối thiểu mà nối cầu các đầu cuối của F2 và F1 (F24), hoặc bằng cách thay thế vùng này bởi vùng dự trữ trung tâm của RSV-G (F26). Lập mô hình tương đồng của RSV-F dựa trên PIV-5 và các phép đo *trên máy tính* dẫn đến sự lựa chọn vòng tối thiểu của 5 phân axit amin ở giữa các phần 108 và 136. Đối với mạch liên kết, các phần Gly (G) và Ser (S) được chọn, các phần này linh hoạt và phân cực và có khả năng cao được điều chỉnh phù hợp (F24). Ngoài ra, F137 được đột biến thành S vì các biến đổi tại chỗ được gây ra bởi vòng có thể dịch vị F kỵ nước và gây ra các bất ổn. Điều này được thể hiện dưới đây. Ngoài ra R106 được đột biến thành các phần Q và 27 (109-135) được thay thế bởi GSGSG.

PAANN**RARREAPQYMNYTINTTKNLNVSISKKRKR**₁₃₆**FLGFLLGVG**

PAANN**QAR GSGSGR**₁₃₆**SLGFLLGVG**

Như được thể hiện trong Bảng 2, mọi biến thể thể hiện không có hoặc biểu hiện rất thấp ngoại trừ biến thể với vòng GSGSG ngắn (F24), vòng này thể hiện biểu hiện cao hơn nhiều (44 µg/ml) so với cấu trúc RSV F loại thuần chủng, cụ thể là, cấu trúc tương tự, không có mạch liên kết nói trên (F11). F24 là trime, tuy nhiên, không ổn định khi lưu trữ giống như mọi biến thể khác có motif trime hóa Fibritin đầu cuối-C. Mọi biến thể chứa thể-HIS.

Bảng 2. Biểu hiện và độ ổn định của các cấu trúc RSV F với các mạch liên kết F1-F2 khác nhau

Protein RSV	Biến thể	Mô tả					Độ ổn định*
		Mô típ trime hóa	Mạch liên kết F1, F2	Các biến đổi	Điểm cuối	Biểu hiện (ug/ml)	
F11	B1	Không có	Không có	Không có	513	2,5	ổn định
F18	B1	Fibritin	Không có	Không có	513	2	không ổn định
F12	B1	Fibritin	p27	Vị trí Furin KO	513	0,1	không ổn định
F15,1	B1	Không có	p27	Vị trí Furin KO	525	0,5	ND
F17	A2	Fibritin	p27	Vị trí Furin KO	513	0	ND
F24	B1	Fibritin	Q_GSGSG_S	Không có	513	44	không ổn định
F25	B1	Fibritin	PIV	Không có	513	0	ND
F26	B1	Fibritin	G CR	Không có	513	0	ND

*Độ ổn định được xác định như được mô tả trong Ví dụ 7. Mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1.

Tiếp theo, các biến đổi có lợi nhất được kết hợp để tìm ra polypeptit F tiền dung hợp tối ưu. Các kết hợp được tạo ra từ các biến thể có vòng GSGSG, cắt ngắn đầu cuối-C của F1, và bổ sung fibritin (SEQ ID NO: 4) hoặc mô típ Khóa kéo Isoleuxin (S) (SEQ ID NO: 3)(xem Bảng 3).

Bảng 3. Biểu hiện và độ ổn định của các cấu trúc RSV F có các kết hợp của các tối ưu hóa theo Bảng 1 và 2.

Protein RSV	Biến thể	Cuối điểm	Mô tả			Độ ổn định của Epitop CR9501)	
			Môtip trime hóa	Mạch liên kết F1, F2	(ug/ml)	Gia nhiệt (°C)	Lưu trữ
F11	B1	513	Không có	Không có	2,5	48	ổn định
F23	B1	495	Khóa kéo Isoleuxin (S)	Không có	0,3	ND	ổn định
F24	B1	513	Fibritin	Q__GSGSG_S	44	51	Không ổn định
F45	B1	495	Fibritin	Không có	0	ND	ND
F44	B1	495	Fibritin	Q__GSGSG_S	0	ND	ND
F49	B1	495	Không có	Không có	2	ND	ổn định
F50	A2	495	Không có	Không có	2	ND	ổn định
F43	B1	495	khóa kéo Isoleuxin (S)	Q__GSGSG_S	0,4	53	ổn định
F47	A2	495	khóa kéo Isoleuxin (S)	Q__GSGSG_S	5	52	ổn định
F56	B1	513	khóa kéo Isoleuxin (S)	Q__GSGSG_S	0,4	ND	ổn định
F46	B1	513	khóa kéo Isoleuxin (S)	Không có	0	ND	không ổn định
F42	B1	513	Không có	Q__GSGSG_S	20	54	ổn định
F57	A2	513	Không có	Q__GSGSG_S	2-10	54	ổn định

ND không được xác định

*Độ ổn định lưu trữ như được xác định trong Ví dụ 7. *Độ ổn định gia nhiệt như được xác định trong Ví dụ 8. Mức biểu hiện như được xác định bởi Western blotting (được mô tả trong Ví dụ 1)

Sự bổ sung vòng GSGSG luôn gia tăng biểu hiện của các cấu trúc chức năng cũng như độ ổn định gia nhiệt của protein. Sự kết hợp vòng GSGSG với F được cắt ngắn và môtip khóa kéo Isoleuxin (S) (F43, F47) thể hiện biểu hiện tốt, độ ổn định gia nhiệt và độ ổn định khi lưu trữ tại 4 °C tốt. Tuy nhiên, các biến thể này vẫn là monome. Môtip khóa kéo Isoleuxin (S) trime hóa thể hiện biểu hiện cao hơn với biến thể F ở F được cắt ngắn đầu cuối C ở vị trí 495 (so sánh F43 với F56 và F23 với F46). ngược lại, đối với các biến thể có miền trime hóa fibritin, thì sự cắt ngắn ở vị trí 513 thể hiện biểu hiện cao so với cắt ngắn ở vị trí 495 mà không thể hiện biểu hiện (so sánh F24 với F44).

Vì thẻ-HIS có thể cản trở việc gấp tự nhiên của các trime, nên các biến thể được tạo ra không có thẻ-HIS đối với Fibritin và biến thể khóa kéo Isoleuxin (S) (Bảng 4).

Bảng 4. Biểu hiện và độ ổn định của các cấu trúc RSV F có và không có thẻ-HIS

Protein RSV	Biến thể	Môtip trime hóa	Mạch liên kết F1, F2	Điểm cuối	Biểu hiện ug/ml	Sự trime hóa %	Gia nhiệt (°C)	Lưu trữ	Các thẻ
F24	B1	Fibritin	Q_GSGSG_S	513	44	Trime (SEC)	51	không ổn định	Thẻ-His
F24-	B1	Fibritin	Q_GSGSG_S	513	55	100% (Native)	ND	không ổn định	Không có
F47	A2	Khóa kéo Isoleuxin (S)	Q_GSGSG_S	495	5	0% (Odyssey)	52	ổn định	Thẻ-His
F47-	A2	Khóa kéo Isoleuxin (S)	Q_GSGSG_S	495	10	2-5% (Odyssey)	53	ổn định	Không có
A2_F24	A2	Fibritin	Q_GSGSG_S	513	5,3	Trime (Native)	48,75	không ổn định	Không có

*Độ ổn định lưu trữ được xác định như được mô tả trong Ví dụ 7; Độ ổn định gia nhiệt được

xác định như được mô tả trong Ví dụ 8; ND: không được xác định. ;

Đáng chú ý là, việc xóa bỏ thẻ-HIS gia tăng biểu hiện trong F47. Ngoài ra, đối với F47, nó gia tăng nhẹ hàm lượng trime và đối với F24 nó chỉ gia tăng mức biểu hiện vừa phải.

Tiếp theo, một số miền trime hóa và cách cắt ngắn khác được thử nghiệm có kết hợp với biến thể F được ổn định vòng GSGSG (F47) (xem Bảng 5). Mọi biến thể có vòng GSGSG và chứa thẻ-HIS.

Bảng 5. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể RSV F có các miền trime hóa khác

Protein RSV	Biến thể	Mô tả				Sự trime hóa %	Kháng thể gắn kết	
		Mô típ trime hóa	Các biến đổi	Điểm cuối	Biểu hiện (ug/ml)		CR9501	CR9503
F47	A2	khóa kéo Isoleuxin (S)	Không có	495	5	0%	+	+
P1	B1	khóa kéo Isoleuxin (S)	S502T	502	3,5	0%	+	+
Mat1	A2	Matrillin dài	Không có	520	12	Trime và hexame	-	+
Mat2	A2	Matrillin ngắn	Không có	516	0	ND	-	-
Mat3	A2	Matrillin ngắn	Không có	495	1,5	ND	-	-
GCN tối ưu hóa	A2	GCN4II được tối ưu hóa	Không có	516	0	ND	-	-
GCN tối ưu hóa+L512K	A2	GCN4II được tối ưu hóa	L512K	516	1	ND	+	-

Gắn kết kháng thể được xác định là gắn kết vào ngày thu hoạch (như được mô tả trong Ví dụ

7;

+ biểu thị gắn kết; - biểu thị không gắn kết.

Mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1. ND: không được xác định

Chỉ miền matrillin 1 (Dames-SA và cộng sự, Nat. Struc. Biol., 5(8), 1998) chứa cả hai miền khóa kéo đầu cuối-N và phần đầu cuối-C có các phần xystein mà có thể có khả năng tạo ra các cầu disulfit trime trong được nhận thấy là cho phép các mức biểu hiện cao hơn F47 (Bảng 5, Matrillin dài). Ngoài ra, biến thể có mô típ trime hóa Matrillin dài thể hiện các protein F trime. Tuy nhiên, sản phẩm này không gắn kết vào Mab CR9501 tiền dung hợp đặc trưng và cũng thể hiện các hình thái hexame mà làm cho miền trime hóa Matrillin 1 không phù hợp để sản xuất protein F trime tự nhiên. Không mô típ nào trong các mô típ khóa kéo gốc matrillin hoặc gốc GCN4II thể hiện biểu hiện hoặc độ ổn định được gia tăng so với F47 (Bảng 5, Matrillin ngắn, GCN4II được tối ưu hóa). Lỡ nữa, sự cắt ngắn ở 495 dẫn đến các mức biểu hiện cao hơn. Sự bổ sung mô típ GCN4 chứa trình tự khởi động được tối ưu hóa không thể hiện biểu hiện.

GCN4 II là miền trime hóa được sử dụng thành công để ổn định trime tiền dung hợp của virus cúm tuýp 5 (Yin và cộng sự, Loại 439:38-44, 2006) và cũng đã được thử nghiệm bởi các chuyên gia khác để ổn định RSV F tiền dung hợp (như được bộc lộ trong chẳng hạn, WO2010/149743, WO2010/14975, WO2009/079796, WO2010/158613). Miền trime hóa GCN4II được đánh giá và so sánh với các cấu trúc chứa miền khóa kéo Isoleuxin (S) (SEQ ID NO: 3) hoặc Fibrin (SEQ ID NO: 4) miền (các kết quả được thể hiện trong Bảng 6). Các biến thể này cũng được so sánh với các biến đổi khác, cụ thể là, mạch liên kết ngắn dựa trên Lysine đơn và sự đột biến L512K. Mọi biến thể chứa thẻ-HIS.

Bảng 6. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể RSV F có GCN4II, L512K và thay thế p27 (mạch liên kết axit amin đơn (K) giữa F1 và F2)

Protein RSV	Biến thể	Mô tả					Độ ổn định	
		Mô típ trime hóa	Mạch liên kết F1, F2	Các biến đổi	Điểm cuối	Biểu hiện (ug/ml)	Gia nhiệt (°C)	Lưu trữ*
F18	B1	Fibrin	Không có	Không có	513	2	ND	không ổn định
F24	B1	Fibrin	Q_GSGSG_S	Không có	513	44	51	không ổn định
F43	B1	khóa kéo Isoleuxin (S)	Q_GSGSG_S	Không có	495	0,4	53	ổn định
P1	B1	khóa kéo Isoleuxin (S)	Q_GSGSG_S	S502T	502	3,5	54	ND
F42	B1	Không có	Q_GSGSG_S	Không có	513	16,1	54	ổn định
P2	B1	None	K	Không có	513	14,3	54	ổn định
P3	B1	GCN4II	Không có	L512K	516	0	ND	ND
P4	B1	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND
P5	B1	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND
P6	A2 †	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND
P7	A2	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND

Độ ổn định lưu trữ được xác định như được mô tả trong Ví dụ 7; Các mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1; Độ ổn định gia nhiệt được xác định như được mô tả trong Ví dụ 8; ND: không được xác định.

Mối liên kết ngắn giữa F1 và F2 cho thấy có thể so sánh được với Vòng GSGSG. Việc bổ sung mô típ GCN4II không dẫn đến biểu hiện protein F bất kỳ trong cấu trúc bất kỳ trong các cấu trúc được thử nghiệm (cụ thể là, trình tự RSV A2 F được mô tả trong

WO2010/149743 hoặc WO2010/149745, trình tự RSV A2 F được sử dụng theo sáng chế, không phải trình tự RSV B1 F).

Điều được thể hiện theo sáng chế là sự đưa vào hai loại này của các biến đổi, cụ thể là, sự đưa vào trình tự liên kết và miền trime hóa khác loại, không đủ để cho phép biểu hiện của protein F tiền dung hợp trime ổn định. Ngoài hai vùng chính bất ổn mà được ổn định, cụ thể là, HRB và peptit dung hợp, như được mô tả ở trên, các vùng khác trong protein F tiền dung hợp cũng góp phần và/hoặc điều chỉnh phù hợp sự gấp lại đáng kể với F sau-dung hợp, và nhiều vị trí hơn trong trình tự có thể được tối ưu hóa để ngăn protein F tiền dung hợp không gấp lại. Do đó, các phần axit amin khác nhau trong miền HRA và HRB và trong mọi miền tiếp xúc các vùng này trong F tiền dung hợp được đột biến để gia tăng độ ổn định cấu trúc tiền dung hợp, như được mô tả trong các Ví dụ sau.

VÍ DỤ 2

Điều chế polypeptit RSV F tiền dung hợp ổn định – ổn định các đột biến

Vì hàm lượng trime (cho cấu trúc F47) và độ ổn định lưu trữ (cho cấu trúc F24) không là tối ưu, các biến thể khác được tạo ra chứa các đột biến điểm để gia tăng các mức biểu hiện, độ ổn định và cấu trúc trime tự nhiên. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 7 và 8.

Bảng 7. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể-F47

Protein RSV	Biểu hiện (ug/ml)	Sự trime hóa %	Gia nhiệt (°C)
F47-	10	2-5%	53
F47- + K465E	6	2,4%	ND
F47- + D479K	5	29%	50,77
F47- + K176M	13	5%	ND
F47- + K209Q	9	3%	52,9
F47- + S46G	38	11%	59,38
F47- + S215P	8	1-2%	57,21
F47- + N67I	15	2%	59,84
F47- + K465Q	18	2%	54,3
F47- S46G+N67I	31	6%	>60
F47- S46G+S215P	38	6%	>60
F47- K465Q+K209Q	12	1%	53,3
F47- K465Q+S46G	28	7%	57,7
F47- K465Q+N67I	17	2%	59
F47- K209Q+N67I	15	4%	>60
F47- K209Q+S215P	15	2%	56,7

ND: không được xác định; Mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1. Độ ổn định gia nhiệt được xác định như được mô tả trong Ví dụ 8.

Danh pháp của các đột biến dựa trên trình tự wt (SEQ ID NO: 1).

Mọi cấu trúc là các biến thể của F47- : tuýp A2, motif khóa kéo Isoleuxin (S) (SEQ ID NO: 3), GSGSG mạch liên kết; điểm cuối 495, không có thể-HIS (SEQ ID NO: 16). Như được thể hiện trong Bảng 7, nhiều đột biến gia tăng biểu hiện của F47-, nhưng chỉ biến thể F47_S46G cũng thể hiện mức độ cao hơn của các trime bên cạnh biểu hiện cao.

Bảng 8 thể hiện các kết quả của biểu hiện và độ ổn định của biến thể F24. Mọi biến thể thuộc RSV tuýp A2, có motif Fibrin, mạch liên kết GSGSG; điểm cuối 513, không có thẻ-HIS.

Bảng 8. Biểu hiện và độ ổn định của A2_F24- (SEQ ID NO: 19) các biến thể

Protein RSV	Biểu hiện (ug/ml)	Lưu trữ	
		Điểm kết thúc	Pha liên kết
A2_F24	5,3	69	ND
A2_F24 K508E	5,3	64	ND
A2_F24 K498E	1,7	ND	ND
A2_F24 E487I	25,0	10	ND
A2_F24 E487K	7,1	ND	ND
A2_F24 E487N	42,4	22	ND
A2_F24 E487P	12,8	46	ND
A2_F24 E487Q*	14,8	50	ND
A2_F24 E487R	8,7	59	ND
A2_F24 E487S	6,7	46	ND
A2_F24 E487Y	10,5	36	ND
A2_F24 D486N	31,2	19	ND
A2_F24 D479N	5,2	ND	ND
A2_F24 D479K	1,5	62	ND
A2_F24 E472Q	1,9	ND	ND
A2_F24 E472K	0,9	ND	ND
A2_F24 K465E	14,8	76	ND
A2_F24 K465Q*	13,6	92	Không ổn định
A2_F24 E463K	3,1	ND	ND
A2_F24 E463Q	6,0	ND	ND
A2_F24 G430S	4,8	ND	ND

A2_F24 N428R	5,2	35	ND
A2_F24 N426S	18,6	71	ND
A2_F24 K421N	9,2	75	ND
A2_F24 E328K	9,5	21	ND
A2_F24 T311S	3,5	70	ND
A2_F24 I309V	11,3	69	ND
A2_F24 D269V	0,0	ND	ND
A2_F24 S215P*	18,7	99	ổn định
A2_F24 K209Q	31,4	63	ND
A2_F24 V207P	3,3	79	ND
A2_F24 I206P	5,4	55	ND
A2_F24 L204P	5,9	ND	ND
A2_F24 L203P	0,8	ND	ND
A2_F24 Q202P	4,4	ND	ND
A2_F24 K201Q	21,3	62	ND
A2_F24 D194P	1,9	ND	ND
A2_F24 L193P	6,5	42	ND
A2_F24 V192P	0,6	32	ND
A2_F24 V185N	50,2	38	ND
A2_F24 GV184EG	3,5	ND	ND
A2_F24 G184N	59,8	37	ND
A2_F24 V178P	14,8	23	ND
A2_F24 A177P	2,0	ND	ND
A2_F24 K176M	14,7	58	ND
A2_F24 K176E	0,7	ND	ND
A2_F24 N175P	34,3	55	ND
A2_F24 S169P	0,5	ND	ND
A2_F24 K168P	0,1	ND	ND
A2_F24 K166P	12,3	45	ND

A2_F24 V157P	0,2	ND	ND
A2_F24 E92D	47,4	94	Không ổn định
A2_F24 K85E	1,1	ND	ND
A2_F24 K80E	51,9	60	ND
A2_F24 K77E	22,4	ND	ND
A2_F24 N67I*	89,8	101	ổn định
A2_F24 I57V		ND	ND
A2_F24 VI56IV	16,5	54	ND
A2_F24 S46G*	40,7	96	Không ổn định

các cấu trúc được đánh dấu * được thử nghiệm đối với sự trime hóa và tất cả được nhận thấy là trime

Mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1. Độ ổn định điểm kết thúc được thể hiện ở đây là phần trăm của sự gắn kết kháng thể tiền dung hợp (CR9501) sau 5 ngày lưu trữ ở 4°C so với ngày 1; Độ ổn định pha liên kết được xác định như được mô tả trong Ví dụ 9.

Nhiều đột biến gia tăng biểu hiện của A2_F24-. Đối với hầu hết các đột biến, có sự tương quan rõ ràng giữa biểu hiện được cải thiện ở nền-F47 (Bảng 7) và nền-A2_F24 (Bảng 8). N67I có tác động dương tính hơn lên biểu hiện F ở nền-A2_F24. Sự gia tăng đáng kể nhất trong biểu hiện được thu được với các đột biến điểm đơn: S46G, S215P, N67I, K80E, E92D, D486N, G184N, V185N, E487N, N175P, K209Q, E487I, E487Q, K77E, K201Q, N426S và K465Q. Trong bước sàng lọc ban đầu có sử dụng xét nghiệm độ ổn định điểm kết thúc (Ví dụ 7), các biến thể có biểu hiện cao nhất cũng thể hiện độ ổn định khi lưu trữ tốt nhất (E92D, K465Q, K465E, N426S, S46G, S215P và N67I). Để đánh giá các đột biến này thực sự đang ổn định cấu trạng tiền dung hợp, các dịch nuôi cấy được pha loãng đến 5 và 10 µg/ml dựa trên các kết quả phân tích western định lượng và các phần này được lưu trữ lên đến 33 ngày tại 4°C. Đối với các đột biến điểm đơn, chỉ N67I và S215P hoàn toàn ổn định theo thời gian (xem Ví dụ 9).

Tiếp theo, một số các đột biến thể hiện biểu hiện cao và độ ổn định tốt của cấu trúc tiền dung hợp được kết hợp để đánh giá các sự ổn định là cộng gộp vào hay có hiệu ứng hiệp trợ có thể (Bảng 9).

Bảng 9. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể của A2_F24 có hai đột biến bổ sung.

Protein RSV	Biểu hiện (ug/ml)	độ ổn định*
A2_F24 K465Q + S46G	21,8	Không ổn định
A2_F24 K465Q + N67I	122,3	ổn định
A2_F24 K465Q + E92D	10,5	ổn định
A2_F24 K465Q + S215P	59,8	ổn định
A2_F24 S46G + N67I	115,5	ổn định
A2_F24 S46G + E92D	14,3	Không ổn định
A2_F24 N67I + E92D	134,2	ổn định
A2_F24 N67I + S215P	152,1	ổn định
A2_F24 E92D + S215P	49,1	ổn định
A2_F24 K465Q+S215P	53,3	ổn định
A2_F24 S46G+S215P	43,8	ổn định

Độ ổn định lưu trữ biểu thị phân tích pha liên kết được thể hiện trong ví dụ 9.

Mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1.

Mọi biến thể là các biến thể của F24-: tuýp A2, motif Fibrin, GSGSG mạch liên kết; điểm cuối 513, gắn kết với mọi Mabs, không có thẻ-HIS (SEQ ID NO: 19).

Khi các đột biến điểm được nhận dạng trước đó được kết hợp, thì very các hiệu ứng hiệp trợ rất thú vị có thể quan sát được, đặc biệt về mặt mức biểu hiện có sự kết hợp bao gồm N67I là có hiệu lực nhất. Mọi đột biến kép được tạo ra trong đó N67I hoặc S215P được bao gồm là ổn định sau hơn 30 ngày lưu trữ tại 4 °C (Ví dụ 9). Đáng chú ý là, sự đột biến N67I được nhận thấy có hiệu quả mạnh nhất lên các mức biểu hiện của F tiền dung hợp khi được

bao gồm trong các đột biến kép. Tiếp theo, các kết hợp với các đột biến S215P dẫn đến biểu hiện hợp lý. Việc kết hợp N67I với S215P được lựa chọn do nó dẫn đến mức biểu hiện rất cao, và vì cả hai đột biến điểm là ổn định khi lưu trữ. Ngoài ra quan sát được rằng cả hai N67I và S215P có khả năng ổn định một số đột biến, mà là các đột biến đơn, là không ổn định, biểu thị rằng vùng, ở đó hai đột biến này được tìm thấy, là trung tâm cho các thay đổi cấu trúc, protein trải qua trong quá trình chuyển tiếp sang cấu trúc sau-dung hợp.

Theo sáng chế, như vậy điều được thể hiện là ít nhất một số đột biến dẫn đến các mức biểu hiện được gia tăng và sự ổn định được gia tăng của protein RSV tiền dung hợp. Điều được mong đợi là các hiện tượng này có liên hệ. Các đột biến được mô tả trong Ví dụ này đều dẫn đến sự sản sinh gia tăng của polypeptit F tiền dung hợp. Chỉ một sự lựa chọn các polypeptit này duy trì ổn định khi lưu trữ lâu (xem Ví dụ 9). Xét nghiệm độ ổn định được sử dụng được dựa trên sự thất thoát của epitop CR9501 tiền dung hợp đặc trưng ở đỉnh của protein F tiền dung hợp trong xét nghiệm gắn kết và nó có thể không đủ nhạy để đo mọi đóng góp vào độ ổn định của toàn bộ protein. Sự đột biến, mà chỉ biểu hiện được gia tăng được quan sát, do đó (gần như ổn định) là các đột biến tiềm ẩn mà có thể được kết hợp với các đột biến ổn định khác để thu được cấu trúc F tiền dung hợp có độ ổn định cao và các mức biểu hiện cao.

Tiếp theo, điều được xác minh là có hay không việc đột biến kép N67I - S215P, giống các đột biến đơn, có thể ổn định các đột biến điểm, mà là các đột biến đơn, được coi là không ổn định dựa trên các tiêu chuẩn được sử dụng. Các đột biến thêm được lựa chọn dựa trên các mức biểu hiện và độ ổn định có lợi theo Bảng 8. Các biến thể RSV-F đột biến bộ ba được tạo cấu trúc và được thử nghiệm đối với các mức biểu hiện và độ ổn định (Bảng 10).

Bảng 10. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể của F24_N67I +S215P có một đột biến bổ sung.

Protein RSV	Biểu hiện (ug/ml)	độ ổn định*
A2_F24 N67I + S215P+K507E	344,6	++

A2_F24 N67I + S215P+E487I	239,4	+++
A2_F24 N67I + S215P+E487N	285,2	+++
A2_F24 N67I + S215P+E487Q	360,7	+++
A2_F24 N67I + S215P+E487R	130,9	+++
A2_F24 N67I + S215P+D486N	292,6	+++
A2_F24 N67I + S215P+D479N	97,1	+++
A2_F24 N67I + S215P+K465Q	283,3	+++
A2_F24 N67I + S215P+N426S	316,3	+++
A2_F24 N67I + S215P+K421N	288,4	+++
A2_F24 N67I + S215P+K209Q	245,0	+++
A2_F24 N67I + S215P+K201Q	231,9	+++
A2_F24 N67I + S215P+V185N	445,1	+++
A2_F24 N67I + S215P+G184N	326,7	+++
A2_F24 N67I + S215P+E92D	308,8	+
A2_F24 N67I + S215P+K80E	210,6	+
A2_F24 N67I + S215P+S46G	199,4	+++

Mọi biến thể là các biến thể của A2_F24_N67I +S215P tuýp A2, mô típ Fibrin, GSGSG mạch liên kết; điểm cuối 513, gắn kết với mọi Mabs, không có thể-HIS (SEQ ID NO: 21).

* độ ổn định biểu thị phân tích pha liên kết được thể hiện trong ví dụ 9.

+ có nghĩa là <10% tổn hao của gắn kết CR9501 sau 5 ngày; ++ có nghĩa là <5% tổn hao của gắn kết CR9501 sau 5 ngày; +++ có nghĩa là 0% tổn hao của gắn kết CR9501 sau 5 ngày.

Lần nữa, hiệu quả cộng gộp trên các mức biểu hiện được quan sát thấy. Như mong đợi, các đột biến bộ ba D479N và E487R biểu hiện ở các mức hơi thấp hơn vì các đột biến đơn cũng nằm trong các đột biến thấp nhất trong các đột biến được lựa chọn (Bảng 8). Vì hiệu quả ổn định của đột biến N67I+S215P, các đột biến bổ sung, mà không ổn định như các đột biến đơn, dẫn đến các biến thể F tiền dung hợp ổn định khi chúng được bổ sung vào nền A2_F24 N67I+S215P. Một số Ví dụ minh họa rõ là các đột biến bộ ba có V185N, G184N hoặc E487N bổ sung mà thể hiện biểu hiện cao nhưng độ ổn định thấp như các đột biến đơn (Bảng 8) nhưng thể hiện thậm chí biểu hiện cao hơn và ổn định cao khi được bổ sung vào nền A2_F24 N67I+S215P.

Sự ổn định các đột biến cũng ổn định Protein RSV-F từ các sợi khác và cũng như trong biến thể F được xử lý.

Một số các đột biến thể hiện biểu hiện cao và độ ổn định tốt của cấu trúc tiền dung hợp được áp dụng cho các protein RSV F của các sợi khác (SEQ ID NOs 69 và 70) và được áp dụng cho biến thể RSV A2 F không có các đột biến vị trí phân tách furin (F18: SEQ ID NO 71) để đánh giá các biến đổi là giải pháp chung để ổn định F trước dung hợp RSV hay không.(Bảng 11)

Bảng 11. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể của A2_F18 có các đột biến bổ sung và F từ sợi B1 (SEQ ID NO: 2) và tuýp A CL57-v224 (SEQ ID NO: 69).

Protein RSV	Seq ID	Biểu hiện tương đối* (CR9503)	Độ ổn định** sau ngày 5, %
A2_F18	71	0,018	0,0
A2_F18 N67I		0,449	73,2
A2_F18 S215P		0,129	9,1
A2_F18 E487Q		0,006	NA
A2_F18 N67I, S215P	72	0,484	103,4
A2_F18 N67I, E487Q		0,340	92,1
A2_F18 N67I, S215P, E487Q	76	0,355	92,7
A2_F18 N67I, S215P, E92D	78	0,318	96,0
A2_F18 N67I, S215P, D486N	79	0,522	101,3
A2_F18 N67I, S215P, K201N	77	0,643	102,7
A2_F18 N67I, S215P, K66E		0,800	103,0
A2_F18 N67I, S215P, S46G, K66E		0,820	103,5
A2_F18 N67I, S215P, E487Q, K66E		0,704	99,5
A2_F18 N67I, S215P, E92D, K66E		0,905	98,8
A2_F18 N67I, S215P, D486N, K66E		0,863	96,6
A2_F18 N67I, S215P, K201N, K66E		1,021	105,5
A2_F18 N67I, S215P, D486N, K66E, I76V		0,594	95,0
B1_N67I, S215P	73	0,434	90,9
Vòng B1_N67I, S215P	22	0,552	108,2
CL57v224_N67I, S215P	74	0,698	94,9
Vòng CL57v224_N67I, S215P	75	0,615	98,4

Biểu hiện protein (nồng độ trong dịch nổi của các tế bào được chuyển nạp tạm thời) được đo bởi phương pháp Bộ tám định lượng.

Biểu hiện tương đối được bình thường hóa thành biểu hiện của A2_F24_N67I, S215P, E487Q (seq ID #33)*

*** Độ ổn định – được biểu hiện là % nồng độ protein đo được sau khi lưu trữ tại 4oC trong 5 ngày, so với ngày thu hoạch. Nồng độ đo được bởi Phương pháp Bộ tám định lượng bằng cách sử dụng kháng thể CR9501. Dữ liệu-NA không sẵn dùng: không có gắn kết CR9501 được dò thấy.*

Khi các đột biến điểm được nhận dạng trước đó được đưa vào trong A2_F18 (SEQ ID No. 71), thì độ ổn định và các mức biểu hiện là rất tương tự khi so sánh với biến thể chuỗi đơn F24 (SEQ ID No. 21) mà chứa vòng ngắn ở giữa F1 và F2. Lần nữa, hiện tượng hiệp trợ được quan sát thấy thể hiện biểu hiện và độ ổn định cao hơn khi các đột biến được bổ sung vào các biến thể chứa N67I hoặc đột biến kép N67I, S215P. Đột biến điểm kép N67I, S215P không chỉ ổn định F tiền dung hợp của sợi A2 mà còn sự tiền dung hợp của B1 và sợi CL57-v224 (Bảng 11).

Ổn định hóa các đột biến cũng ổn định protein RSV-F dài đầy đủ.

Một số các đột biến thể hiện biểu hiện cao và độ ổn định tốt của cấu trúc tiền dung hợp trong phiên bản tan được của RSV-F tương ứng với miền ngoại bào, được áp dụng cho protein RSV-F dài đầy đủ. Các đột biến được đưa vào trong RSV-F dài đầy đủ có hoặc không có các đột biến vị trí phân tách furin. Không có miền trimer hóa nào được dung hợp với các biến thể này (Bảng 12)

Bảng 12. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể của các phiên bản dài đầy đủ của A2_F18 và A2_F24 có các đột biến bổ sung.

Các thay thế axit amin	Biến thể protein RSV F *		Các thuộc tính	
	SEQ ID No	Mạch liên kết F1, F2	Biểu hiện, gia tăng gấp**	Độ ổn định-gia nhiệt***
Không có (F A2 loại thuần chủng, dài đầy đủ)	1	không có	1	-
N67I		không có	1,4	N.D.
S215P		không có	1,4	N.D.
E92D		không có	1,4	N.D.
N67I, K465Q		không có	1,4	N.D.
N67I, S46G		không có	0,2	N.D.
N67I, E92D		không có	1,4	N.D.
N67I, K80E		không có	2,3	N.D.
N67I, G184N		không có	1,5	N.D.
N67I, V185N		không có	1,4	N.D.
N67I, E487Q		không có	2,5	N.D.
N67I, S215P, V185N		không có	2,7	N.D.
N67I, S215P, K508E		không có	3,0	N.D.
N67I, S215P, K80E		không có	3,1	N.D.

N67I, S215P, K465Q		không có	2,9	N.D.
N67I, S215P	80	không có	2,4	++
N67I, S215P, G184N		không có	7,6	++
N67I, S215P, E92D	82	không có	6,8	N.D.
N67I, S215P, S46G	88	không có	6,8	+
N67I, S215P, D486N	86	không có	5,9	+++
N67I, S215P, E487Q	84	không có	6,2	N.D.
N67I, S215P, S46G, K66E		không có	12,1	+++
N67I, S215P, D486N, K66E		không có	9,2	+++
N67I, S215P, S46G, E92D, K66E		không có	11,8	+++
N67I, S215P, S46G, E487Q, K66E		không có	11,0	+++
N67I, S215P, S46G, D486N, K66E		không có	10,5	+++
N67I, S215P, D486N, K66E, I76V		không có	7,2	+++
N67I, S215P, S46G, K66E, I76V		không có	9,7	+++
N67I, S215P, S46G, K80E		không có	4,5	N.D.
N67I+S215P+G184N+K80E+E92D+E487Q+S46G		không có	9,1	N.D.
Không có		Q_GSGSG_S	3,8	-
N67I, S215P	81	Q_GSGSG_S	6,2	N.D.
N67I, S215P, G184N		Q_GSGSG_S	7,2	++
N67I, S215P, E92D	83	Q_GSGSG_S	5,9	N.D.
N67I, S215P, S46G	89	Q_GSGSG_S	5,3	++
N67I, S215P, D486N	87	Q_GSGSG_S	5,2	+++
N67I, S215P, E487Q	85	Q_GSGSG_S	4,6	N.D.
N67I, S215P, S46G, K66E		Q_GSGSG_S	11,7	+++
N67I, S215P, D486N, K66E		Q_GSGSG_S	13,8	+++
N67I, S215P, D486N, K66E, I76V		Q_GSGSG_S	6,8	+++
N67I+S215P+G184N+K80E+E92D+E487Q+S46G		Q_GSGSG_S	3,6	N.D.

Mức biểu hiện được xác định bằng cách sử dụng FACS. N.D. – không được xác định. *mọi biến thể được dựa trên trình tự protein RSV A2 F. ** so sánh với protein loại thuần chủng, gia tăng gấp của MFI trên 9503.

Độ ổn định được đánh giá bằng cách xử lý gia nhiệt các tế bào HEK293T trong 5 - 10 phút tại 46, 55.3, 60 °C.

*** chú giải cho chỉ báo độ ổn định

- suy giảm gắn kết đến trước dung hợp – gắn kết CR9501 Mab đặc trưng sau 46 °C (chẳng hạn, loại thuần chủng)

+ suy giảm nhẹ gắn kết CR9501 sau 46 °C nhưng không đến cùng mức độ mạnh như loại thuần chủng

++ không có thay đổi trong gắn kết CR9501 lên đến 60 °C, tại 60 °C một số suy giảm trong gắn kết CR9501

+++ không có thay đổi trong gắn kết CR9501 tại 60 °C

Các đột biến điểm ổn định được nhận dạng trước đó cũng ổn định trong protein F dài đầy đủ. Sự gia tăng mức biểu hiện được thể hiện ít hơn nhưng cho thấy cùng xu hướng. Điều

này có thể được gây ra bởi nền khác nhau, mà các đột biến được đưa vào trong nền này, nhưng có thể cũng được gây ra bởi phương pháp định lượng khác nhau (FACS so với Western blot) và tối đa sinh học của biểu hiện do sự tái chế các protein bề mặt. Sự đưa trình tự liên kết (hoặc vòng ngắn) vào gia tăng biểu hiện và độ ổn định và các đột biến điểm cũng làm như vậy. Các đột biến điểm không hoặc khó hiệp trợ vòng ngắn (tương tự như cái ta nhận thấy đối với protein tan được (Bảng 9-11)).

Vì đột biến điểm ở vị trí 67 có hiệu quả dương tính như thế lên mức biểu hiện và độ ổn định, mọi thay thế axit amin được thử nghiệm cho vị trí này để nghiên cứu trường hợp tối ưu nhất đã được chọn hay chưa hoặc các vị trí này có thể được cải thiện không. (Bảng 13)

Bảng 13. Phân tích thay thế hoàn toàn của biểu hiện và độ ổn định đối với vị trí 67 trong nền A2_F24.

Thay thế axit amin	Biểu hiện tương đối*	Độ ổn định** sau ngày 4, %	Độ ổn định** sau ngày 10, %
N67A	1,696	0,0	0,0
N67C	1,759	16,7	0,0
N67D	1,702	0,0	0,0
N67E	1,357	0,0	0,0
N67F	2,565	102,2	108,1
N67G	0,853	NA	NA
N67H	1,509	0,0	0,0
N67I	3,773	98,2	102,7
N67K	0,487	NA	NA
N67L	3,609	107,5	96,4
N67M	2,579	87,3	78,7
N67P	2,414	14,3	0,0
N67Q	0,955	NA	NA
N67R	0,523	NA	NA
N67S	1,277	0,0	0,0
N67T	1,577	0,0	0,0
N67V	2,457	84,2	77,0
N67W	1,794	99,9	104,3
N67Y	1,830	61,3	45,8

*Biểu hiện tương đối** - nồng độ protein được đo bởi Phương pháp Bộ tám định lượng bằng cách sử dụng kháng thể CR9503 và thể hiện tương ứng với nồng độ của A2_F24 (SEQ ID #19)

*** Độ ổn định – được thể hiện là % nồng độ protein được đo sau khi lưu trữ tại 4oC trong 5 và 10 ngày, so với ngày thu hoạch. Nồng độ được đo bởi Phương pháp Bộ tám định lượng bằng cách sử dụng kháng thể CR9501.NA - dữ liệu không sẵn dùng: không có gắn kết CR9501 nào được phát hiện.*

Như được thể hiện trong Bảng 13, các phần kỵ nước chủ yếu và cụ thể là Ile, Leu và Met ở vị trí 67 có thể gia tăng biểu hiện và độ ổn định. Ile là phần gia tăng biểu hiện và độ ổn định nhiều nhất. Các phần Glu và Gln, phần Gly nhỏ nhất và các phần Arg và Lys tích điện dương có hiệu quả làm mất ổn định nhiều nhất ở vị trí 67 trên cấu trúc trước dung hợp.

Theo sáng chế, các đột biến axit amin ổn định cấu trúc tiền dung hợp của protein RSV F có thể được nhóm thành các hạng mục khác nhau mà ổn định cấu trúc theo cách thức khác nhau. Các phương pháp để ổn định F tiền dung hợp được dựa trên mô hình tương đồng của RSV-F mà được dựa trên cấu trúc tinh thể PIV5 (Yin và cộng sự, 2006) và sự căn chỉnh ở trang 27.

Các phần axit amin 67 và 215:

Các phần axit amin ở vị trí 67 và 215 là rất gần trong cấu trúc 3D của cả hai mô hình tiền dung hợp và cấu trúc tinh thể sau-dung hợp. Các phần này gần với cầu disulfit dự trữ ở đỉnh của vùng DIII, vùng này tạo ra bản lề mà dọc theo đó vùng HRA gấp lại thành trime xoắn kéo dài cuộn xoắn kéo dài. Các đột biến trong vùng này sẽ ảnh hưởng chức năng bản lề và do đó các đột biến được đưa vào ổn định cấu trúc tiền dung hợp bằng cách cản trở chức năng bản lề.

Các phần axit amin 77, 80

Các phần axit amin ở vị trí 77 và 80 được định vị trong cấu trúc xoắn dài (các phần 76-98) ở các đầu cuối C của F2 mà tiếp xúc sát với quần thể các cấu trúc thứ cấp trong DIII ở các đầu cuối N của F1, đầu này gấp lại thành cấu trúc cuộn xoắn dài của cấu trúc sau-dung hợp. Do hai vùng này phải được chia tách trong quá trình gấp lại từ trước- đến sau-dung hợp, các axit

amin trong vùng này, axit này ngăn chặn sự chia tách này, sẽ ổn định cấu trạng tiền dung hợp. Vì hai vùng này nên tách ra trong quá trình gấp lại, một số phần trong số các phần có thể được tối ưu hóa để làm mạnh sự tương tác. Ví dụ của lực đẩy được quan sát thấy là ở giữa Lys80 tích điện dương. Sự đột biến của Lys80 thành Glu phần tích điện âm gia tăng biểu hiện của F tiền dung hợp. Do sự chuyển tiếp liên tiếp thành cấu trạng sau-dung hợp, nên các đột biến này có thể được kết hợp với các đột biến ổn định khác như N67I và S215P để có hết lợi ích của việc ổn định này, như được thể hiện trong Bảng 10.

Axit amin phần 92

Phần axit amin ở vị trí 92 cũng được định vị trong cấu trúc xoắn dài (các phần 76-98) ở các đầu cuối C của F2 mà tiếp xúc sát với quần thể của các cấu trúc thứ cấp trong DIII ở các đầu cuối N của F1 mà gấp lại thành cấu trúc cuộn xoắn dài của cấu trạng sau-dung hợp. Khi cấu trúc xoắn này được chia tách khỏi vùng HRA, nó được kéo đến vùng DIII that chứa epitop Synagis (epitop II) (Arbiza và cộng sự, J. Gen. Virol. 73:2225–2234, 1992) và Glu92 tích điện âm dịch chuyển rất sát với Arg282 tích điện dương trong cấu trạng sau dung hợp. Các đột biến làm giảm lực kéo này sẽ ổn định cấu trạng tiền dung hợp. Sự đột biến của Glu92 thành phần Asp dự trữ sẽ giảm lực kéo vì nó không thể tới Arg282.

Các phần axit amin 486, 487

Các phần axit amin 486, 487 và 489 ở đỉnh của HRB trong cấu trạng tiền dung hợp tạo ra đột biến lô tích điện âm của Glu487 thành Asn hoặc Ile gia tăng biểu hiện F tiền dung hợp. Các đột biến của Asp486 thành Asn hoặc Gln và/hoặc Glu489 thành Asn, Ile hoặc Gln will có cùng effect. Do sự chuyển tiếp liên tiếp thành các đột biến sau-dung hợp này có thể được kết hợp với các đột biến ổn định khác như N67I và S215P để có lợi ích kéo của sự ổn định này, như được thể hiện trong Bảng 10 đối với chẳng hạn, D486N.

Các phần axit amin 175, 184, 185

Để gấp lại từ cấu trạng tiền dung hợp thành cấu trạng sau-dung hợp, vùng ở giữa phần 175 và 193 phải biến nạp từ cấu trúc kẹp tóc beta – vòng thành cấu trúc xoắn.

Vùng này thể hiện chuyển tiếp cấu trúc đáng kể nhất. Một phần của vùng này thực tế có dự đoán xoắn-alpha cao nhất. Các cấu trúc xoắn thực trong mô hình tiền dung hợp được thể hiện dưới đây ở các đánh dấu màu xám. Toàn bộ vùng này được biến nạp thành một cấu trúc xoắn lớn khi nó gấp lại thành cấu trạng sau-dung hợp. Ở đây trình tự, các phần được đánh dấu màu xám có dự đoán xoắn cao nhất dựa trên Agadir (<http://agadir.crg.es/>). Từ so sánh này, rõ ràng là phần đầu cuối-C được duy trì trong cấu trúc kẹp tóc - beta trong cấu trạng tiền dung hợp, (các phần 187-202) có xu hướng cao tạo ra cấu trúc xoắn-alpha.

150 160 170 180 190 200 210

SGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLT**SKVLD**LKNIYIDK**Q**LLPIV**NKQ**SC

hhhhhh hhhhhh hhhh ssssss ssssss hhhhhh

SGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLT**SKVLD**LKNIYIDK**Q**LLPIV**NKQ**SC

Trình tự của các phần 150 – 212 của RSV-F được thể hiện ở trên. Ở dòng thứ hai, các cấu trúc thứ cấp của dòng trên cùng được biểu thị bởi h (đối với cấu trúc xoắn) và s (đối với các sợi) dựa trên mô hình tương đồng 3D PIV-5. Các cấu trúc xoắn được đánh dấu bằng cách đánh xám. Dòng dưới cùng là cùng trình tự trong đó các cấu trúc xoắn là ngả xám dựa trên xu hướng xoắn của trình tự.

Do đó, Prolin được đưa vào ở vị trí 175 để ổn định sự cuộn vòng này và để ngăn sự gấp lại thành cấu trúc xoắn, mà như đột biến đơn, gia tăng mức biểu hiện, biểu thị rằng nó ổn định cấu trạng tiền dung hợp và cho phép xử lý protein tốt hơn. Đối với cuộn vòng trong cấu trúc kẹp tóc (các phần 184, 185), cơ sở dữ liệu Brookhaven được tra cứu tìm cấu trúc kẹp tóc tương đồng cấu trúc từ protein ổn định không gấp lại. Sự tương đồng cấu trúc cao được tìm

thấy có cấu trúc kẹp tóc vòng trong Protein Kinase A (pdb code 3FHI). Theo sự căn chỉnh được thể hiện dưới đây, các phần 184 Gly hoặc 185Val được thay thế bởi Asn để ổn định sự cuộn vòng này và ngăn nó không gấp lại.

VVSLSN**G**VSVLTSKV HRAb1b2 178-192

EMDVYV**N**NEWATSVG 3fhi:B 179-193

Các đột biến này có thể được kết hợp với các đột biến ổn định khác như N67I và S215P để có được lợi ích đầy đủ của sự ổn định này như được thể hiện trong Bảng 10.

Các phần axit amin 421, 426 và 46

Các phần axit amin ở vị trí 421 và 426 ở trong vòng trong vùng DII. Phần S46 ở trên sợi vắt qua từ DI đến DIII. Phần axit amin ở vị trí 426 được đột biến thành serin và phần axit amin ở vị trí 46 được đột biến thành glycin. Các đột biến gia tăng độ ổn định và các mức biểu hiện tiền dung hợp.

Axit amin phần 465

Phần axit amin Lys465 được định vị trong vùng khác, vùng này trải qua thay đổi cấu trúc lớn. Lys465 được định vị trên vòng vắt qua, vòng này nối đỉnh của vùng DII với HRB. Vì vùng HRB dịch chuyển lên từ đáy lên đỉnh và phức hợp với HRA để tạo ra bó sáu cấu trúc xoắn, vòng vắt qua cũng di chuyển từ đáy lên đỉnh. Vòng này do đó phải giữ ổn định để cho phép sự tách ra của DII và sự di chuyển trong môi trường khác. Lys465 trên vòng vắt qua gần với Lys445 trên vùng DII. Sự đột biến của Lys465 thành Gln hoặc Glu trung hòa lực đẩy và độ ổn định được gia tăng và các mức biểu hiện F tiền dung hợp.

VÍ DỤ 3

Biểu hiện của protein F tiền dung hợp

Các plasmid biểu hiện mã hóa protein RSV F tiền dung hợp tái tổ hợp được tạo ra bởi các phương pháp tiêu chuẩn đã biết rộng rãi trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm đột biến điểm định hướng và PCR. Nền biểu hiện được sử dụng là các tế bào 293Freestyle (Life Technologies, Renfreshire, UK). Các tế bào này được chuyển nạp tạm thời bằng cách sử dụng 293Fectin (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và được nuôi cấy trong lồng lắc trong 5 ngày tại 37°C và 10% CO₂. Phần nổi nuôi cấy được thu hoạch và quay trong 5 phút tại 300 g để loại bỏ các tế bào và mảnh tế bào. Tiếp theo, dịch nổi được quay được lọc vô trùng bằng cách sử dụng máy lọc chân không 0,22 um và lưu trữ tại 4°C cho đến khi sử dụng.

VÍ DỤ 4

Tinh lọc protein RSV F tiền dung hợp

Polypeptit tái tổ hợp được tinh lọc bởi trình thức tinh lọc 2-bước bằng cách áp dụng cột trao đổi cat-ion để tinh lọc ban đầu và tiếp theo, cột superdex200 dùng cho bước đánh bóng để loại bỏ chất bẩn dư. Đối với bước trao đổi ion ban đầu, dịch nổi nuôi cấy được pha loãng với 2 thể tích 50 mM NaOAc pH 5,0 và đi qua cột 5 ml HiTrap Capto S tại 5 ml mỗi phút. Tiếp theo cột này được rửa bởi 10 thể tích cột (CV) là 20 mM NaOAc, 50mM NaCl, 0.01% (v/v) tween20, pH 5 và rửa giải 2 CV là 20 mM NaOAc, 1M NaCl, 0.01% (v/v) tween20, pH 5. Chất rửa giải được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị cô đặc quay và protein còn được tinh lọc bằng cách sử dụng cột superdex200 có sử dụng 40mM Tris, 500mM NaCl, 0.01% (v/v) tween20, pH 7.4 làm chất đệm chạy. Trên Hình 1A, sắc phổ từ cột lọc chất quánh được thể hiện và đỉnh trội chứa protein RSV F tiền dung hợp. Các phần chứa đỉnh này lần nữa được chia và nồng độ protein được xác định bằng cách sử dụng OD280 và lưu trữ tại 4°C đến khi sử dụng. Trên Hình 1B, phân tích SDS-PAGE rút gọn của điều chế protein cuối được thể hiện và như có thể thấy, độ tinh khiết >95%. Nhận dạng của dải được xác minh bằng cách sử dụng phương pháp western blot và các kháng thể đặc trưng protein F (không được thể hiện trên hình vẽ).

VÍ DU 5**NativePAGE**

Để xác định ban đầu trạng thái đa trùng của polypeptit F tiền dung hợp theo sáng chế, các dịch nổi nuôi cấy từ các tế bào được chuyển nạp tạm thời được phân tích trong hệ thống chất quánh NativePAGE Bis-Tris (Life Technologies). Tiếp theo các chất quánh được tạo vết bằng cách sử dụng kỹ thuật iBlot theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Life Technologies). Kháng thể đặc trưng protein RSV F CR9503 (các trình tự được cho dưới đây trong Bảng 17) được sử dụng cực dò chính để dò protein RSV F tiền dung hợp và tiếp theo là IgG chuột kháng người được tiếp hợp HRP (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) hoặc IgG (thỏ) kháng người được tinh lọc ái lực được tiếp hợp IRDye800CW (Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA). Các vết được hiện ra bởi phim tiêu chuẩn (Codak) hoặc bằng cách sử dụng hệ thống tạo ảnh được chiếu hồng ngoại Odyssey CLx. Hình 2 thể hiện phân tích NativePAGE của các dịch nổi từ monome F47-, (lần 1), protein RSV F sau-dung hợp và trime chủ yếu (lần 2) và protein RSV F tiền dung hợp được tinh lọc (lần 3), thể hiện rằng sau khi tinh lọc chỉ các dòng trime là có mặt trong điều chế protein RSV F tiền dung hợp do nó di trú tương tự với dải trime sau-dung hợp. Điều này cũng được chứng minh bởi thể tích rửa giải từ cột lọc chất quánh (Hình 1A).

VÍ DU 6**Phương pháp Western blot định lượng**

Để định lượng các cấu trúc protein RSV F tiền dung hợp, phương pháp Western blot định lượng được sử dụng. Sự pha loãng các dịch nổi nuôi cấy được liên tiếp giảm từ 4% đến 12% (trọng lượng/thể tích – w/v) chất quánh Bis-Tris NuPAGE (Life Technology) và được tạo vết bằng cách sử dụng kỹ thuật iBlot (Life Technology). Các vết được dò bởi CR9503 (như được mô tả ở trên) và được hiện ra bởi IgG chuột kháng người được tiếp hợp (Jackson

ImmunoResearch, West Grove, PA) hoặc IgG (thỏ) kháng người được tinh lọc ái lực được tiếp hợp IRDye800CW (Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA). Các số lượng protein sau đó được ước lượng bằng cách sử dụng chuỗi pha loãng của protein tiêu chuẩn RSV được tinh lọc và hoặc hệ thống tạo ảnh được chiếu hồng ngoại Odyssey CLx hoặc bằng mắt. Trên Hình 3, các tác động tương ứng với A2_F24 (SEQ ID NO: 19) cấu trúc về mặt toàn bộ các mức biểu hiện có thể được thấy. Điều được thể hiện là các đột biến đơn gia tăng mức biểu hiện lên đến 5 lần. Nếu các đột biến kép của một số đột biến trong số các đột biến tạo ra hiệu ứng hiệp trợ có thể được quan sát thấy và trong một số trường hợp, biểu hiện còn được gia tăng lên đến 11 lần hơn A2_F24 được quan sát thấy.

VÍ DỤ 7

Thử nghiệm độ ổn định điểm kết thúc

Việc xác minh cấu trạng tiền dung hợp của polypeptit được thể hiện theo sáng chế được thực hiện bằng cách sử dụng công nghệ Giao thoa màng sinh học (bộ tám) bằng cách sử dụng các kháng thể tiền dung hợp-đặc trưng CR9501 hoặc CR9502, hoặc kháng thể đặc trưng không phải cấu trạng CR9503, mà bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của Motavizumab. Các kháng thể gắn biotin bởi các trình thức tiêu chuẩn và làm bất động trên các cảm biến sinh học Streptavidin (ForteBio, Portsmouth, UK). Quy trình như sau. Sau khi cân bằng các cảm biến trong đệm động lực (ForteBio) trong 60 giây, Tipss được truyền đến PBS với 5 ug/ml kháng thể mong muốn. Quá trình nạp được thực hiện trong 250 giây. Tiếp theo, bước cân bằng khác được thêm vào trong 200 giây trong đệm động lực. Cuối cùng, tipss được truyền đến dịch nổi nuôi cấy biểu hiện chứa polypeptit RSV F tiền dung hợp và phản ứng gắn kết (nm) sau 1200 giây được ghi nhận. Pha này cũng được gọi là pha liên kết. Điều này được thực hiện ngay sau khi thu hoạch (ngày 1) cũng như 5 ngày sau đó (ngày 5) và sự khác biệt trong gắn kết CR9501 được sử dụng làm công cụ sàng lọc để nhận dạng các đột biến có khả năng ổn định cấu trạng tiền dung hợp. Cấu trúc được xem là ổn định nếu nhỏ hơn 20% tồn

hao gắn kết được quan sát thấy tại ngày 5 và nếu hơn 20% tổn hao gắn kết được quan sát thấy, nó được xem là không ổn định. Các cấu trúc ổn định sau đó có thể trải qua kiểm tra độ ổn định khắt khe hơn nếu cần thiết. Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm ForteBio Data Analysis 6.4 (ForteBio).

VÍ DU 8

Thử nghiệm độ ổn định gia nhiệt

Khả năng ổn định của tính năng được đưa vào polypeptit RSV F được đánh giá bởi sang chấn nhiệt. Vì mục đích đó, dịch nổi nuôi cấy từ các tế bào được chuyển nạp tạm thời hoặc protein được tinh lọc được gia nhiệt bằng cách sử dụng một khoảng nhiệt độ. Các mẫu tiếp theo được làm mát trên băng để ngăn nhiệt thêm cảm sinh các thay đổi cấu trạng và được dò bằng cách sử dụng kháng thể CR9501 trên nền kỹ thuật bộ tám như được mô tả trong Ví dụ 7. Các phản hồi thu được ở cuối của pha liên kết tại các nhiệt độ khác nhau được dựng đồ thị là hàm của nhiệt độ và làm vừa nhờ hồi quy không tuyến tính bằng cách sử dụng phần mềm Prism. Điều này dẫn đến sự ước lượng của nhiệt độ ở đó mức gắn kết kháng thể là 50% của cực đại và trị số này có thể được sử dụng để so sánh các cấu trúc khác nhau về mặt độ ổn định gia nhiệt tiền dung hợp. Trên Hình 4, miền ngoại bào không được biến đổi (SEQ ID NO: 13) và cấu trúc A2_F24 N67I+S215P (SEQ ID NO: 21) được so sánh. Có thể quan sát thấy rằng sang chấn nhiệt độ-được cảm sinh có hiệu quả ít hơn lên cấu trúc A2_F24 N67I+S215P (SEQ ID NO: 21) khi so với miền ngoại bào không biến đổi. Do đó có thể kết luận rằng các motif ổn định được đưa vào trong polypeptit theo sáng chế, cụ thể là, vị trí trime hóa, mạch liên kết F1-F2-và các đột biến 2 điểm dẫn đến protein F tiền dung hợp ổn định hơn.

VÍ DU 9

Thử nghiệm độ ổn định pha liên kết

Để đánh giá độ ổn định của các đột biến điểm khác nhau, thử nghiệm gắn kết bộ tám, một biến thể của thử nghiệm độ ổn định điểm kết thúc được mô tả ở trên (Ví dụ 7) được phát triển. Phân tích pha liên kết được thực hiện do các mức biểu hiện rất cao của một số đột biến điểm do nó khắt khe hơn và hoàn toàn ngăn độ lệch mức biểu hiện. Kháng thể CR9501 cũng được sử dụng nhưng thay vì lựa chọn phản ứng gắn kết ở cuối pha liên kết, thì toàn bộ đường cong liên kết được sử dụng, để giảm độ lệch nồng độ tiềm năng của thử nghiệm điểm kết thúc. Điều này được thực hiện bằng cách sử dụng các điểm dữ liệu từ toàn bộ pha liên kết của thí nghiệm bằng cách sử dụng các đột biến điểm A2_F24 được biểu thị. Dữ liệu được bù cho lượng kháng thể bám trên chip. Các phép đo được thực hiện tại ngày 1, 5 và 33, và hình dạng các đường cong từ ba ngày được so sánh. Nếu thu được các đường cong giống nhau thì cấu trúc được xem là ổn định và nếu không thì không ổn định. Trên Hình 5, có thể thấy phân tích của bốn biến thể khác nhau. Các cấu trúc tiền dung hợp protein không ổn định có thể được nhận dạng bởi tổn hao phụ thuộc-thời gian của gắn kết CR9501 (A2_F24, K465Q, S46G), trong khi các cấu trúc tiền dung hợp ổn định (N67I) không thể hiện sự suy giảm này. Sự đột biến E92D có vẻ rơi vào nhóm ở giữa hai cấu trúc này có độ ổn định trung bình do chỉ các thay đổi nhỏ trong hình dạng của đường cong được quan sát thấy. Trên Hình 6 các đột biến điểm được lựa chọn đã được kết hợp để tạo ra các đột biến kép và các đột biến này được phân tích. Như có thể thấy, các đột biến khác nhau thể hiện các kiểu hình khác nhau về mặt độ ổn định và cảm sinh độ ổn định. Khi polypeptit bao gồm một mình đột biến K465Q hoặc S46G hoặc ở dạng kết hợp, cả ba, cụ thể là, hai đột biến đơn và đột biến kép, là không ổn định và gắn kết kháng thể tiền dung hợp-đặc trưng tổn hao theo thời gian. Khi đột biến S46G được kết hợp với E92D, mà trước đó được thể hiện có độ ổn định trung bình như đột biến đơn, không có thay đổi trong độ ổn định được quan sát thấy, biểu thị rằng đột biến E92D không thể hiệu chỉnh các cấu trúc protein không ổn định. Khi đột biến N67I được kết hợp với đột biến S46G hoặc E92D, thì kết quả là cấu trúc ổn định hoàn toàn. Điều này cũng được quan sát thấy khi

đột biến S215P được kết hợp với đột biến E92D thể hiện khả năng độc nhất của hai đột biến để ổn định các cấu trúc tiền dung hợp không ổn định.

VÍ DỤ 10

Bộ tám định lượng

Để đo nồng độ của protein RSV F tiền dung hợp trong các dịch nuôi cấy tế bào, phương pháp dựa trên bộ tám định lượng được sử dụng. Các kháng thể CR9501 và CR9503 được gắn biotin bởi các trình tự tiêu chuẩn và làm bất động trên các cảm biến sinh học Streptavidin (ForteBio, Portsmouth, UK). Sau đó, các cảm biến sinh học được bọc được chặn trong dịch nuôi cấy tế bào giả. Thí nghiệm định lượng được thực hiện như sau: nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 1000 vòng trên phút (rpm), thời gian của thực nghiệm 300 giây. Nồng độ của protein trong dịch nuôi cấy tế bào được tính bằng cách sử dụng đường cong tiêu chuẩn. Đường cong tiêu chuẩn được chuẩn bị cho mỗi kháng thể được bọc bằng cách sử dụng protein A2_F24_N67I+S215P (SEQ ID# 21), được pha loãng trong dịch nuôi cấy tế bào giả. Phép đo được thực hiện vào ngày thu hoạch dịch nuôi (day1) và sau khi lưu trữ dịch nuôi tại 4°C trong 5 ngày hoặc lâu hơn. Khác biệt trong nồng độ được xác định bởi CR9501 được sử dụng làm công cụ sàng lọc để nhận dạng các đột biến có khả năng ổn định cấu trúc tiền dung hợp. Cấu trúc được xem là ổn định nếu suy giảm nồng độ được đo nhỏ hơn 20% được quan sát thấy vào ngày 5. Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm ForteBio Data Analysis 6.4 (ForteBio).

VÍ DỤ 11

Phân tích FACS và độ ổn định gia nhiệt

Các plasmid biểu hiện mã hóa protein RSV F dài đầy đủ tái tổ hợp được tạo ra bởi các phương pháp tiêu chuẩn đã biết rộng rãi trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm đột biến điểm định hướng và PCR. Các tế bào HEK293-T được chuyển nạp tạm thời bằng cách sử dụng

293Fectin (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và được nuôi cấy trong 48 giờ tại 37°C và 10% CO₂. Tế bào được tách khỏi các đĩa nuôi cấy tế bào bằng cách sử dụng dịch đệm FACS (5 mM EDTA, 1% FBS trong PBS), được rửa và tái pha nhũ tương trong cùng dịch đệm. Các tế bào được làm nhiễm bản đối với protein RSV F bề mặt bởi các kháng thể CR9501 hoặc CR9503 được gắn biotin, tiếp theo là streptavidin được gắn APC. Để đánh giá giữa các tế bào sống và chết, Propidium iodit được bổ sung vào nhũ tương tế bào ở cuối quy trình nhiễm bản. Các tế bào này được phân tích trên FACS Canto (BD Biosciences) theo các phương pháp tiêu chuẩn đã biết đối với chuyên gia trung bình bất kỳ trong lĩnh vực kỹ thuật. Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm FlowJo 9.0 (Tree Star Inc.). Mật độ phổ huỳnh quang trung bình (MFI) được tính đối với số lượng tế bào APC-dương tính sống.

Khả năng ổn định của các tính năng được đưa vào thành RSV F gắn-màng dài đầy đủ được ước lượng bởi sang chấn nhiệt. Các tế bào này 48 giờ sau khi chuyển nạp được tách khỏi các đĩa nuôi cấy tế bào như được mô tả ở trên và nhũ tương tế bào được gia nhiệt trong 5-10 phút bằng cách sử dụng các khoảng nhiệt độ (37, 46, 55.3, 60°C). Các tế bào này tiếp theo được nhiễm bản và phân tích bởi FACS như được mô tả ở trên. MFI được tính đối với số lượng các tế bào APC-dương tính sống. Phần trăm tế bào APC-dương tính được tính đối với số lượng tế bào sống. Làm nhiễm bản bởi CR9503 dẫn đến MFI và % tế bào APC-dương tính tương tự trong các mẫu trải qua sốc nhiệt bởi nhiệt độ gia tăng. Làm nhiễm bản bởi CR9501 suy giảm trong các mẫu tế bào được chuyển nạp có các protein không ổn định. Tổn hao của gắn kết CR9501 biểu thị tổn hao của protein RSV F tiền dung hợp trên bề mặt tế bào.

VÍ DU 12

Đánh giá tiền lâm sàng của tính sinh miễn dịch F trước dung hợp

Để đánh giá tính sinh miễn dịch của RSV F tiền dung hợp được ổn định (A2F24,N67I, S215P) (SEQ ID NO: 21) ta chủng ngừa chuột theo Bảng 14 bởi 0,5 hoặc 5 ug theo chế độ

tiêm nhắc lại vào tuần 0 và tuần 4. Như được thể hiện trên Hình 7, chuột được chủng ngừa bởi F tiền dung hợp thể hiện các độ chuẩn VNA cao hơn chuột được chủng ngừa bởi RSV F sau-dung hợp.

Bảng 14. Phác đồ chủng ngừa

Nhóm	Điều chế	Liều	Tá dược	N
1	F sau-dung hợp	0,5 µg	-	9
2	F sau-dung hợp	5 µg	-	9
3	F tiền dung hợp	0,5 µg	-	9
4	F tiền dung hợp	5 µg	-	9
5	F sau-dung hợp	0,5 µg	Poly(I:C)	9
6	F tiền dung hợp	0,5 µg	Poly(I:C)	9
8	FI-RSV	1/75	-	8
9	PBS		-	3

Tiếp theo, chuột bông được chủng ngừa bởi hai liều khác nhau của RSV-F trong cấu trạng sau-dung hợp hoặc cấu trạng tiền dung hợp (Bảng 15). Động vật được chủng ngừa i.m. vào tuần 0 và tuần 4. Hình 8 thể hiện các độ chuẩn kháng thể trung hòa cao vào ngày của thử nghiệm (tuần 7).

Bảng 15. Các nhóm, kháng nguyên và liều để đánh giá tính sinh miễn dịch và hiệu lực trong chuột bông

Nhóm	Điều chế	Liều	Tá dược
1	F sau-dung hợp	0,5 ug	-
2	F sau-dung hợp	5 ug	-

3	F tiền dung hợp	0,5 ug	-
4	F tiền dung hợp	5 ug	-
9	F tiền dung hợp	0,5 ug	Poly IC
10	F tiền dung hợp	5 ug	Poly IC
11	F tiền dung hợp	0,5 ug	Adju Phos
12	F tiền dung hợp	5 ug	Adju Phos
13	Ad26.RSV.F _{A2}	10 ⁸	-
14	PBS	-	-

Năm ngày sau khi thử nghiệm, lượng virus phổi và mũi được đo (xem Hình 9).

Như được thể hiện, polypeptit F tiền dung hợp theo sáng chế có thể cảm sinh phản ứng miễn dịch bảo vệ mạnh mà làm giảm lượng virus trong phổi và thậm chí trong mũi.

Bảng 16. Các axit amin chuẩn, các tên viết tắt và các thuộc tính

Axit amin	3-Chữ	1-Chữ	Tính phân cực chuỗi bên	Điện tích chuỗi bên (pH 7.4)
alanin	Ala	A	không cực	Trung tính
arginin	Arg	R	cực	Dương tính
asparagin	Asn	N	cực	Trung tính
axit aspartic	Asp	D	cực	Âm tính
xystein	Cys	C	không cực	Trung tính
axit glutamic	Glu	E	cực	Âm tính
glutamin	Gln	Q	cực	Trung tính
glycin	Gly	G	không cực	Trung tính
histidin	His	H	cực	dương tính(10%) trung tính(90%)
isoleuxin	Ile	I	không cực	Trung tính
leuxin	Leu	L	không cực	Trung tính
lysin	Lys	K	cực	Dương tính
methionin	Met	M	không cực	Trung tính
phenylalanin	Phe	F	không cực	Trung tính
prolin	Pro	P	không cực	Trung tính
serin	Ser	S	cực	Trung tính
threonin	Thr	T	cực	Trung tính
tryptophan	Trp	W	không cực	Trung tính
tyrosin	Tyr	Y	cực	Trung tính
valin	Val	V	không cực	Trung tính

Bảng 17. Các trình tự kháng thể

Ab	Miền VH	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
CR9501	Các axit amin 1-125 có SEQ ID NO: 53	GASINSDNYWT (SEQ ID NO:54)	HISYTGNTYYTPSLKS (SEQ ID NO:55)	CGAYVLISNCGWFDSD (SEQ ID NO:56)
CR9502	Các axit amin 1-121 có SEQ ID NO:57	GFTFSGHTIA (SEQ ID NO:58)	VVSTNNGNTEYAQKI QG (SEQ ID NO:59)	EWLVMGGFAFDH (SEQ ID NO:60)

Ab	Miền VL	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
CR9501	Các axit amin 1-107 có SEQ ID NO: 61	QASQDISTYLN (SEQ ID NO: 62)	GASNLET (SEQ ID NO:63)	QQYQYLPYT (SEQ ID NO:64)
CR9502	Các axit amin 1-110 có SEQ ID NO: 65	GANNIGSQNVH (SEQ ID NO:66)	DDRDRPS (SEQ ID NO:67)	QVWDSSRDQAVI (SEQ ID NO:68)

Trình tự axit amin của một số cấu trúc trong số các cấu trúc tiền dung hợp RSV F được cho dưới đây. Lưu ý rằng cách đánh số axit amin trong các cấu trúc khác nhau được mô tả ở đây được dựa trên trình tự loại-thuần chủng (SEQ ID NO: 1), mà có nghĩa là mọi axit amin từ vị trí 1 đến và bao gồm vị trí 108 của các cấu trúc tiền dung hợp tương ứng với các vị trí axit amin 1-108 của trình tự loại-thuần chủng, trong khi cách đánh số các axit amin từ vị trí 138 đến cuối được dịch 22 axit amin, cụ thể là, L138 trong trình tự loại-thuần chủng (SEQ ID NO: 1) tương ứng với L116 trong mọi cấu trúc tiền dung hợp. Điều này do thực tế là việc xóa bỏ đã được thực hiện trong các cấu trúc tiền dung hợp cụ thể là, sự chèn mạch liên kết GSGSG cách đánh số thực tế trong F1 không giống nhau giữa các cấu trúc. Do đó, cách đánh số được sử dụng đối với các đột biến đặc trưng theo sáng chế, chẳng hạn, S215P, biểu thị vị trí của axit amin trong trình tự loại thuần chủng.

Các trình tự

trình tự dài đầy đủ A2 protein RSV F (SEQ ID NO: 1)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVSASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQKNNRLEI
 TREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNI
 MITTHIVHIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

trình tự dài đầy đủ B1 protein RSV F (SEQ ID NO: 2)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARREAPQYMN
 YTINTTKNLNVSISKKRKRRLGFLGVSASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTN
 KAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEIN
 REFSVNAGVTTPLSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIK
 EEVLAYVYVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSF
 FPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSL
 GAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKLEGKNL
 YVKGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLHNVNTGKSTTNIMI
 TTTHIVHIVLLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTLSKDQLSGINNIAFSK

SEQ ID NO: 3

EKKIEAIEKKIEAIEKKIEA

SEQ ID NO: 4

GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

SEQ ID NO: 5

GSGSG

F8: RSV A2, miền ngoại bào loại thuần chủng (SEQ ID NO: 13)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNVTLSSKKRKRRLGFLGVSAGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEI
 TREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSGNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGK
 SLYVKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHHHHHHHH

F11: RSV B1, miền ngoại bào loại thuần chủng (SEQ ID NO: 14)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRAREAPQYMN
 YTINTTKNLNVSISKKRKRRLGFLGVSAGVAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTN
 KAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYINNQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNSRLLEIN
 REFSVNAGVTTPLSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIK
 EEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSGNICLTRTDRGWYCDNAGSVSF
 FPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSL
 GAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKLEGKNL
 YVKGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLHHHHHHHH

F47: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, IZ(S) (SEQ ID NO: 15)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVSAGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSGNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGKSLYVKGEPINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVEKKIEAIEKKIEAIEKKIEAGGIEGRHHHHHHHH

F47-: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, IZ(S) (SEQ ID NO: 16)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
 NYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLREITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVEKKIEAIEKKIEAIEKKIEAGG

F43: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, IZ(S) (SEQ ID NO: 17)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSL
 GFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
 NYINNQLLPVNVQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPPLSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPIYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGII
 KTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFD
 ASISQVEKKIEAIEKKIEAIEKKIEAGGIEGRHHHHHH

F24: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 18)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSL
 GFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
 NYINNQLLPVNVQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPPLSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPIYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGII
 KTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GRHHHHHH

A2_F24: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 19)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLK
 NYIDKQLLPIV NKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLL EITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV VQLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGI
 EGR

F24-: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 20)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSL
 GFLLGVSIAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLK
 NYINNQLLPIV NQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLL EINREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV VQLPIYGVITPCWK
 LHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGII
 KTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 21)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPIV NKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLL EITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV VQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD

ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
GR

F24-N67I+S215P: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 22)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
LSNIKEIKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSLG
FLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
YINNQLLPIVNQQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPIYGVIDTPCWKL
HTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSL
TLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIK
TFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYYDPLVFPSDEFDA
SISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEG
R

A2_F24 N67I+E92D: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 23)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
NYIDKQLLPIVNKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSE
LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCW
KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
IIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGI
EGR

F24- N67I+E92D RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 24)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
LSNIKEIKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSLG
FLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
YINNQLLPIVNQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPIYGVIDTPCWKL
HTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSL
TLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIK

TFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFDA
 SISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEG
 R

A2_F24 N67I+K465Q RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 25)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPIVNBQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGQSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDA
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

F24- N67I+K465Q RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 26)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKEIKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YINNQLLPIVNBQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKL
 HTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSL
 TLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIK
 TFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGQNLVVKGEPIINYDPLVFPSDEFDA
 SISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEG
 R

A2_F24 N67I+S46G RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 27)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
 NYIDKQLLPIVНКQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGI
 EGR

F24- N67I+S46G RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 28)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFGALRTGWYTSVITIE
 LSNIKEIKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
 YINNQLLPIVNNQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPPLSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPIYGVIDTPCWKL
 HTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSL
 TLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIK
 TFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNKLEGKNLYVKGEPIINYYDPLVFPSDEFDA
 SISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEG
 R

A2_F24 E92D+S215P: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 29)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
 NYIDKQLLPIVНКQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGI
 EGR

F24-E92D+S215P: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 30)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKETKCN¹GTDTKVLIKQELDKYKNAVTD²LQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSL
 GFLLGVS³AIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLT⁴SKVLDLK
 NYINNQLLP⁵IVNQQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV⁶VQLPIYGVIDTPC⁷WK
 LHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGII
 KTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV⁸NKLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+K508E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 31)

MELLILKANAITTILTA¹VTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCN²GTD³AKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT⁴SKVLDLKN
 YIDKQLLP⁵IVNKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTT⁶PVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV⁷VQLPLYGVIDTPC⁸WK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV⁹NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRESDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+E487I: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 32)

MELLILKANAITTILTA¹VTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCN²GTD³AKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT⁴SKVLDLKN
 YIDKQLLP⁵IVNKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTT⁶PVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV⁷VQLPLYGVIDTPC⁸WK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV⁹NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDIFD

ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
GR

A2_F24 N67I+S215P+E487Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 33)
MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTISKVLDLKN
YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWK
LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDQFD
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
GR

A2_F24 N67I+S215P+E487N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 34)
MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTISKVLDLKN
YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWK
LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDNFD
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
GR

A2_F24 N67I+S215P+D486N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 35)
MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTISKVLDLKN
YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWK
LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI

IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSNEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+K465E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 36)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGESLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+K465Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 37)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGQSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+N426S: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 38)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
 YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASSKNRGI
 KTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+K421N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 39)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
 YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTNCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+K209Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 40)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
 YIDKQLLPIVNNQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+K201Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 41)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDQQLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+V185N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 42)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGNSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+G184N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 43)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD

ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
GR

A2_F24 N67I+S215P+N175P: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 44)
MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTPKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWK
LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
GR

A2_F24 N67I+S215P+E92D: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 45)
MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
NYIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSE
LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCW
KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
IIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGI
EGR

A2_F24 N67I+S215P+K80E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 46)
MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIEQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWK
LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI

IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+K77E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 47)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIELIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
 YIDKQLLPVНКQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24 N67I+S215P+S46G: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 48)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
 YIDKQLLPVНКQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24: RSV S46G A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 49)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
 NYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVNBKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGI
 EGR

A2_F24: RSV K465Q A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 50)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK
 NYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVNBKQEGQSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGI
 EGR

A2_F24: RSV N67I A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 51)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKN
 YIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVNBKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIE
 GR

A2_F24: RSV E92D A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 52)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKNKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLK
 NYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVINKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF
 DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFLGGI
 EGR

trình tự dài đầy đủ CL57-v224 protein RSV F (SEQ ID NO: 69)

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASSQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARRRELPRFMN
 YTLNNTKNNNVTLKKRKRRLGFLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEI
 TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVINKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNVGKSTTNI
 MITTHIVIIVILLLLIAVGLFLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Miền ngoại bào, RSV CL57-v224 (SEQ ID NO: 70)

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASSQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKENKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARELPRFMN
YTLNNTKNNNVTLSKKRKRRLGFLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKIKSALLST
NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEI
TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGK
SLYVKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL

PreF, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 71)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNY
TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLST
NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEI
TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGK
SLYVKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
GQAYVRKDGWVLLSTFL

PreF N67I S215P, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 72)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARELPRFMNY
TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLST
NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEI
TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGK
SLYVKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
GQAYVRKDGWVLLSTFL

PreF N67I S215P, RSV B1, fibritin (SEQ ID NO: 73)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKEIKCNGTDTKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARRREAPQYMN
 YTINTTKNLNVSISKKRKRRLGFLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTN
 KAVVSLSNGVSVLTTSKVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEIN
 REFSVNAGVTTPLSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIK
 EEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSF
 FPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSL
 GAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNL
 YVKGEPIINYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGEWVLLSTFL

RSV N67I S215P, RSV CL57-v224, fibritin (SEQ ID NO: 74)

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASSQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKEIKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARRRELPRFMNY
 TLNNTKNNNVTLSSKKRKRRLGFLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTN
 KAVVSLSNGVSVLTTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITR
 EFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKE
 EVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSF
 FPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSL
 GAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSL
 YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQ
 AAYVRKDGEWVLLSTFL

PreFL N67I S215P, RSV B1, fibritin, Vong (SEQ ID NO: 22)

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKEIKCNGTDTKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAHVSLSNGVSVLTTSKVLDLKN
 YINNQLLPIVNQQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKL
 HTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSL
 TLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIK
 TFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFDA
 SISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

PreFL N67I S215P, RSV CL57-v224, fibrin, Vòng (SEQ ID NO: 75)

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASQNIITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKEIKCNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNQARGSGSRSLG
 FLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGII
 KTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

PreF N67I S215P E487Q, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 76)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNIITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLGVLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEI
 TREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDQFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGEWVLLSTFL

PreF N67I S215P K201N, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 77)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNIITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLGVLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDNQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEI
 TREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGEWVLLSTFL

PreF N67I S215P E92D, RSV A2, fibritin (SEQ ID NO:78)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVSASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEI
 TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFL

PreF N67I S215P D486N, RSV A2, fibritin (SEQ ID NO: 79)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVSASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEI
 TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSNEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFL

Fwt N67I S215P, RSV F gǎn-màng, A2, (SEQ ID NO: 80)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVSASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEI
 TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNI
 MITTHIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fsl N67I S215P, RSV F gắn-màng, A2, (SEQ ID NO: 81)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVINKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVIIIVILLSLIAVGLLLYCK
 ARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fwt N67I S215P E92D, RSV F gắn-màng, A2, (SEQ ID NO: 82)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLST
 NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEI
 TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSI
 KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVINKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTN
 IMITTHIIVIIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fsl N67I S215P E92D, RSV F gắn-màng, A2, (SEQ ID NO: 83)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLG
 FLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 NYIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSE
 LLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCW
 KLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMN
 SLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRG
 IIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVINKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEF

DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVHIVILLSLIAVGLLLYC
KARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fwt N67I S215P E487Q, RSV F gǎn-màng, A2, (SEQ ID NO: 84)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
TLNNAKKTNTVLSKKRKRRFLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLST
NKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEI
TREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
KEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKQEGK
SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDQFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTN
MITTHIIVHIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fsl N67I S215P E487Q, RSV F gǎn-màng, A2, (SEQ ID NO: 85)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
YIDKQLLPVNVKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSEL
LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWK
LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDQFD
ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVHIVILLSLIAVGLLLYCK
ARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fwt N67I S215P D486N, RSV F gắn-màng, A2, (SEQ ID NO: 86)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVSASIASGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLST
 NKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEI
 TREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSNEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNI
 MITTHIIVIIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fsl N67I S215P D486N, RSV F gắn-màng, A2, (SEQ ID NO: 87)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLSTNKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSEL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSNEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVIIIVILLSLIAVGLLLYCK
 ARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fwt N67I S215P S46G, RSV F gắn-màng, A2, (SEQ ID NO: 88)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSVITIE
 LSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNY
 TLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVSASIASGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLST
 NKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEI
 TREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSII
 KEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSV
 SFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVIT
 SLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGK
 SLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNI
 MITTHIIVIIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Fsl N67I S215P S46G, RSV F gắn-màng, A2, (SEQ ID NO: 89)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSVITIE
 LSNKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSGRSLGF
 LLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKN
 YIDKQLLPIVINKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSL
 LSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWK
 LHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNS
 LTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGI
 IKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFD
 ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVILLSLIAVGLLLYCK
 ARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

CR9501 chuỗi nặng (SEQ ID NO: 53):

QVQLVQSGPGLVKPSQTLALTCNVSGASINSDNYWTWIRQRPGGGLEWIGHISYTG
 NTYYTPSLKSRLSMSLETSQSQFSLRLTSVTAADSAVYFCAACGAYVLISNCGWFDS
 WGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

CR9501 chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 61):

EIVMTQSPSSLSASIGDRVTITCQASQDISTYLNWYQQKPGQAPRLLIYGASNLETGVP
 SRFTGSGYGTDFSVTISSLQPEDIATYYCQQYQYLPYTFAPGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
 PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL
 STLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

CR9502 chuỗi nặng (SEQ ID NO: 57):

EVQLLQSGAELKKPGASVKISCKTSGFTFSGHTIAWVRQAPGQGLEWMGWVSTNNG
 NTEYAQKIQGRVTMTMDTSTSTVYMELRSLTSDDTAVYFCAREWLMGGFAFDHW
 GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
 GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC

CR9502 chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 65):

QSVLTQASSVSVAPGQTARITCGANNIGSQNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDRDRPSGI
PDRFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSRDQAVIFGGGTKLTVLGQPKA
APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTIAPTECS

Yêu cầu bảo hộ

1. Polypeptit dung hợp (F) virus hợp bào hô hấp (RSV) tiền dung hợp tái tổ hợp bao gồm: ít nhất một epitop là đặc hiệu đối với protein F cấu trúc tiền dung hợp, trong đó ít nhất một epitop được nhận ra bởi kháng thể đơn dòng đặc hiệu tiền dung hợp, bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 54, vùng CDR2 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 55, vùng CDR3 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 56 và vùng CDR1 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 62, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 63, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64 và/hoặc kháng thể đơn dòng đặc hiệu tiền dung hợp, bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 58, vùng CDR2 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 59, vùng CDR3 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 60 và vùng CDR1 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 66, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 67, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 68, trong đó polypeptit bao gồm đột biến của phần axit amin N/T ở vị trí 67 thành I và/hoặc đột biến của phần axit amin S ở vị trí 215 thành P, trong đó các vị trí axit amin được đưa ra có viện dẫn đến trình tự của protein RSV F từ chuỗi A2 (SEQ ID NO: 1).
2. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm 1, trong đó polypeptit này bao gồm miền F1 và miền F2, và trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 phần axit amin, liên kết miền F1 với miền F2.
3. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó polypeptit này bao gồm miền F1 được cắt ngắn và miền F2, và trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 phần axit amin, liên kết miền F1 với miền F2.
4. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm 3, trong đó polypeptit này bao gồm miền trimer hóa khác loại được liên kết với miền F1 được cắt ngắn.
5. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó polypeptit bao gồm ít nhất một đột biến nữa, trong đó đột biến này được lựa chọn từ nhóm bao gồm:
 - (a) đột biến của phần axit amin ở vị trí 46;

- (b) đột biến của phần axit amin ở vị trí 77;
- (c) đột biến của phần axit amin ở vị trí 80;
- (d) đột biến của phần axit amin ở vị trí 92;
- (e) đột biến của phần axit amin ở vị trí 175;
- (f) đột biến của phần axit amin ở vị trí 184;
- (g) đột biến của phần axit amin ở vị trí 185;
- (h) đột biến của phần axit amin ở vị trí 201;
- (i) đột biến của phần axit amin ở vị trí 209;
- (j) đột biến của phần axit amin ở vị trí 421;
- (k) đột biến của phần axit amin ở vị trí 426;
- (l) sự đột biến của phần axit amin ở vị trí 465;
- (m) đột biến của phần axit amin ở vị trí 486;
- (n) đột biến của phần axit amin ở vị trí 487; và
- (o) đột biến của phần axit amin ở vị trí 508.

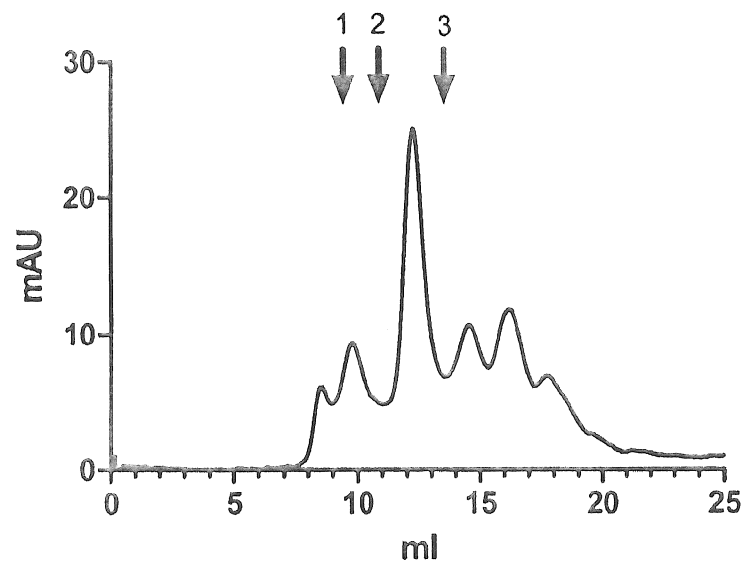
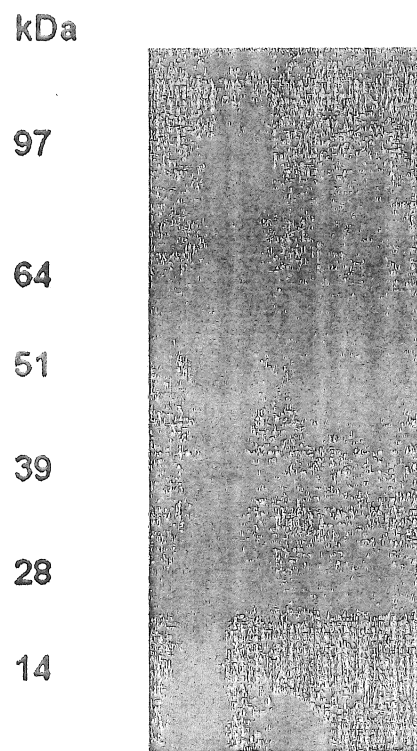
6. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm 5, trong đó ít nhất một đột biến nữa được lựa chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của phần axit amin S ở vị trí 46 thành G;
- (b) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 77 thành E;
- (c) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 80 thành E;
- (d) đột biến của phần axit amin E ở vị trí 92 thành D;
- (e) đột biến của phần axit amin N ở vị trí 175 thành P;
- (f) đột biến của phần axit amin G ở vị trí 184 thành N;
- (g) đột biến của phần axit amin V ở vị trí 185 thành N;
- (h) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 201 thành Q;
- (i) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 209 thành Q;
- (j) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 421 thành N;

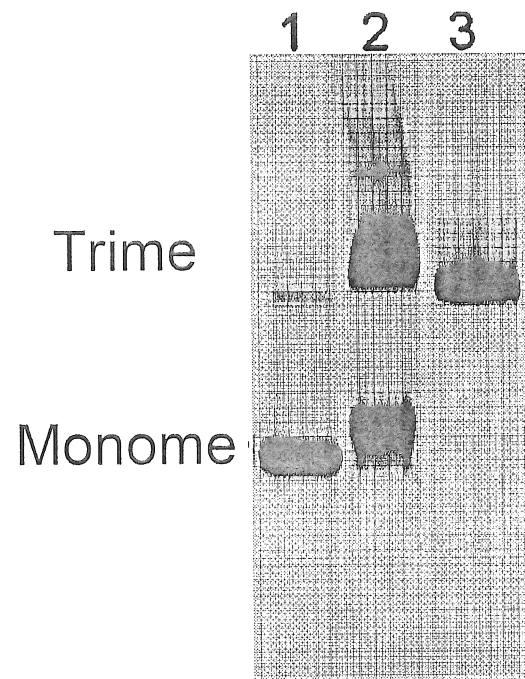
- (k) đột biến của phần axit amin N ở vị trí 426 thành S;
- (l) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 465 thành E hoặc Q;
- (m) đột biến của phần axit amin D ở vị trí 486 thành N;
- (n) đột biến của phần axit amin E ở vị trí 487 thành Q, N hoặc I; và
- (o) đột biến của phần axit amin K ở vị trí 508 thành E.

7. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó polypeptit này bao gồm ít nhất hai đột biến, trong đó ít nhất hai đột biến bao gồm đột biến của phần axit amin N/T ở vị trí 67 thành I; và đột biến của phần axit amin S ở vị trí 215 thành P.
8. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 4 đến 7, trong đó miền trime hóa khác loại bao gồm trình tự axit amin EKKIEAIEKKIEAIEKKIEA (SEQ ID NO: 3).
9. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm 8, trong đó miền trime hóa được liên kết với phần axit amin 495 của protein RSV F.
10. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 4 đến 7, trong đó miền trime hóa khác loại bao gồm trình tự axit amin GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (SEQ ID NO: 4).
11. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm 10, trong đó miền trime hóa được liên kết với phần axit amin 513 của protein RSV F.
12. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm đã nêu, trong đó polypeptit ổn định trong ít nhất 30 phút tại 55°C, tốt hơn là tại 58°C, tốt hơn nữa là tại 60°C.
13. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm đã nêu, trong đó polypeptit ổn định sau khi lưu trữ tại 4°C trong ít nhất 30 ngày, tốt hơn là ít nhất 60 ngày, tốt hơn là ít nhất 6 tháng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 1 năm.

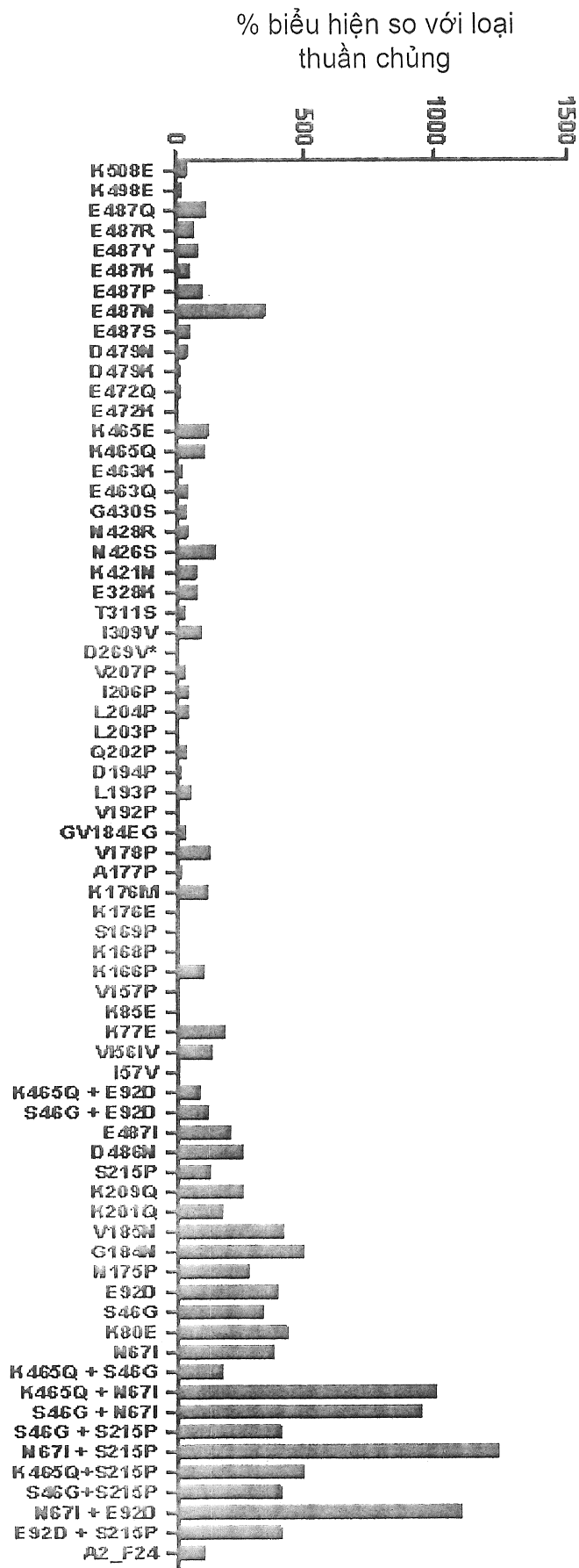
14. Polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm đã nêu, trong đó polypeptit bao gồm trình tự axit amin được lựa chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 21 – SEQ ID NO: 52 và 71-89.
15. Phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14.
16. Vector bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 15.
17. Chế phẩm bao gồm polypeptit RSV F tiền dung hợp theo điểm bất kỳ từ 1 đến 14, phân tử axit nucleic theo điểm 15 và/hoặc vector theo điểm 16.

A.**B.****Hình 1**

NativePAGE

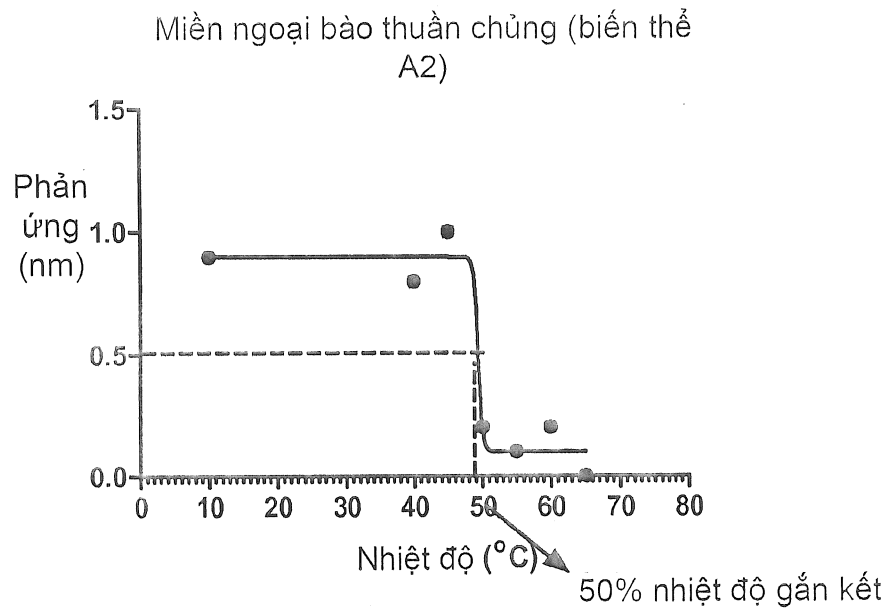


Hình 2

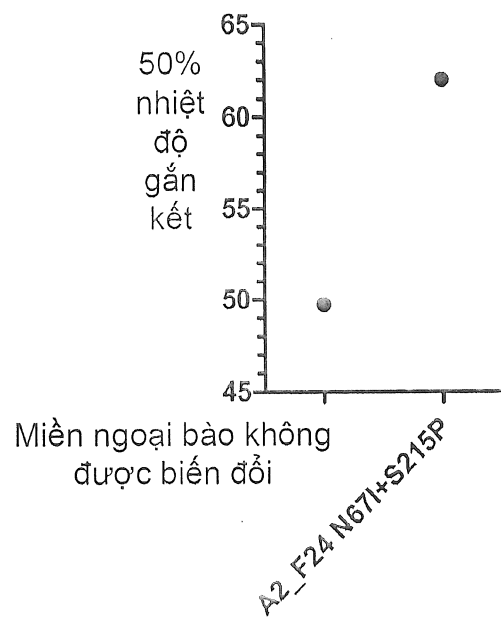


Hình 3

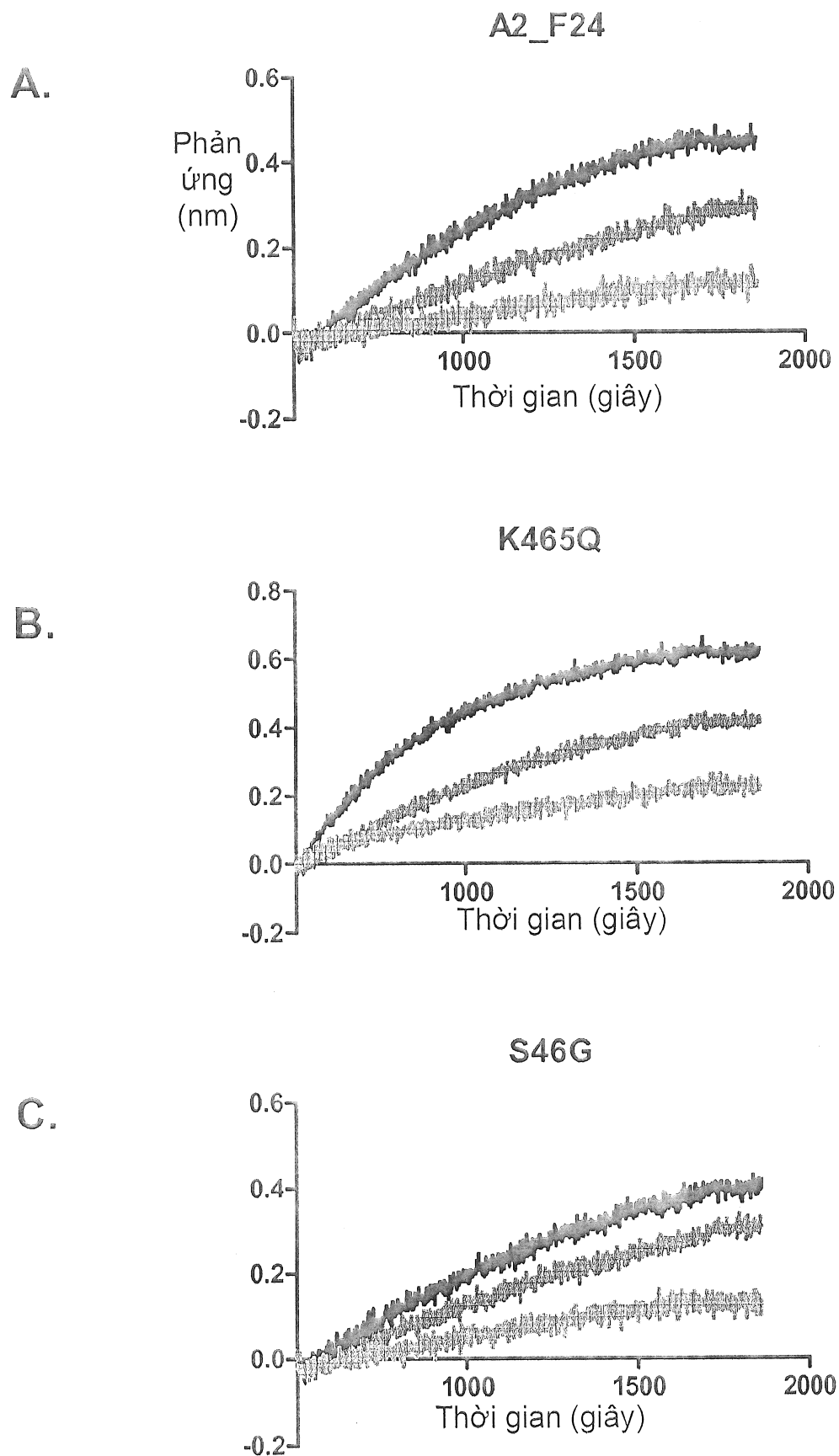
A.



B.

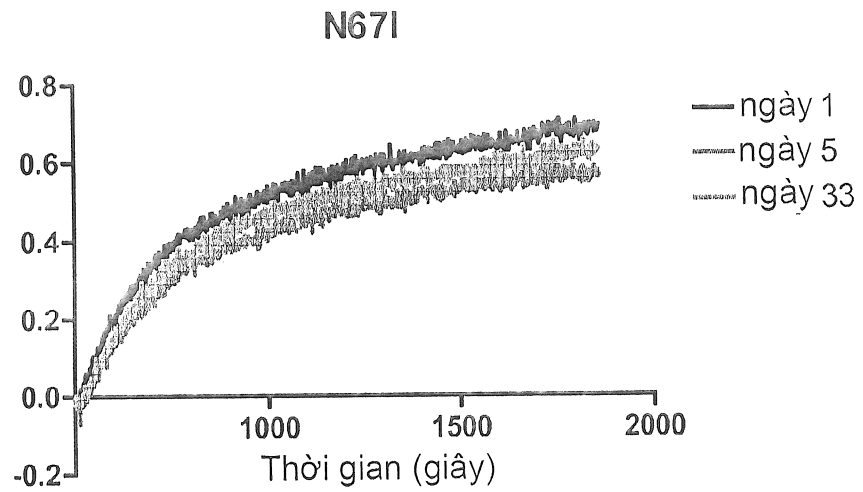


Hình 4

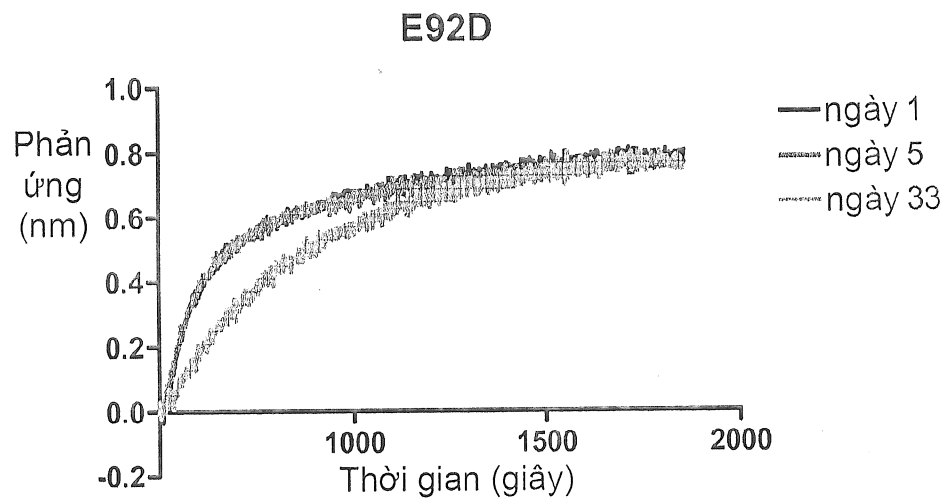


Hình 5

D.

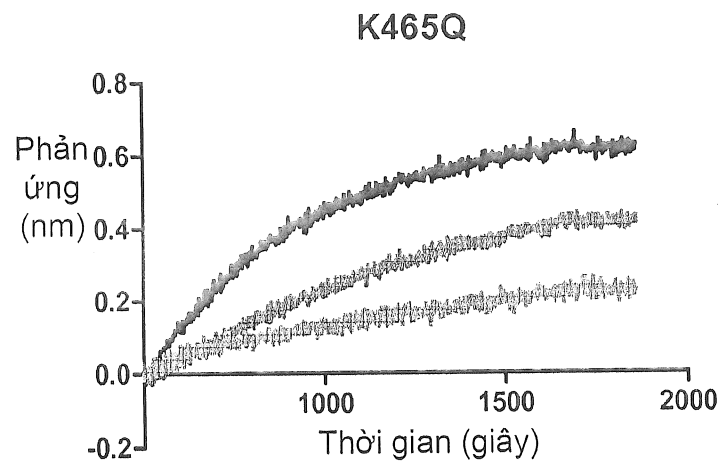


E.

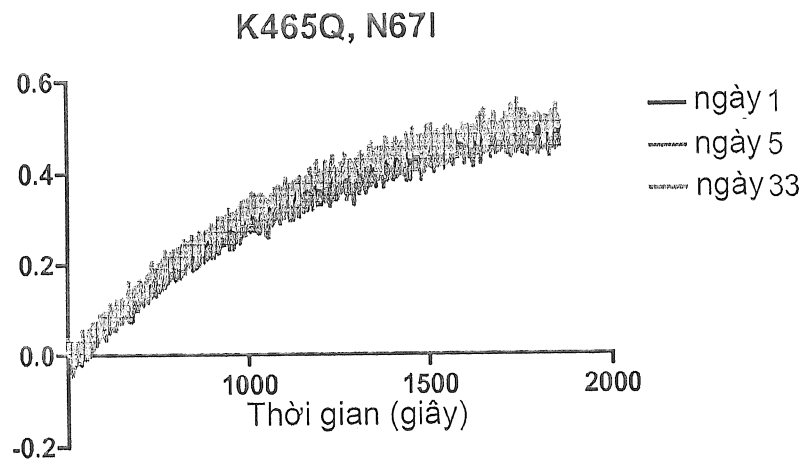


Hình 5 tiếp theo

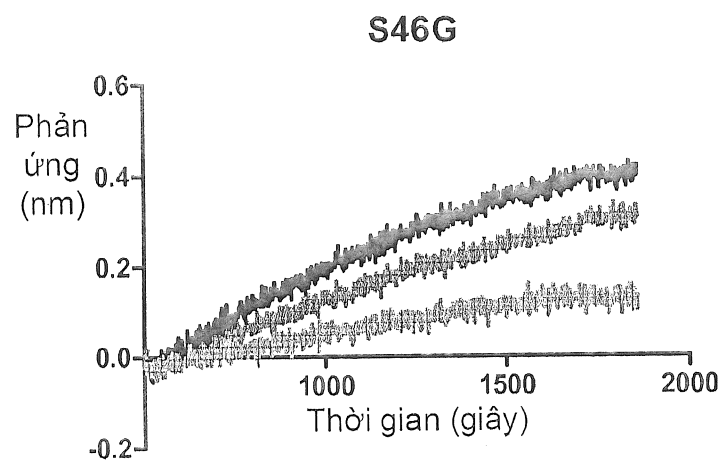
A.



B.

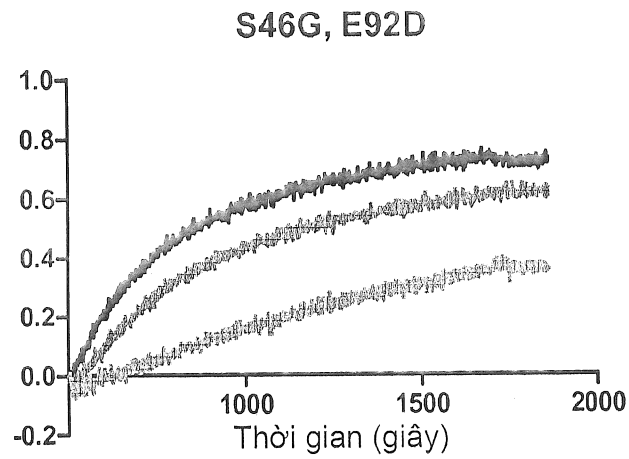


C,

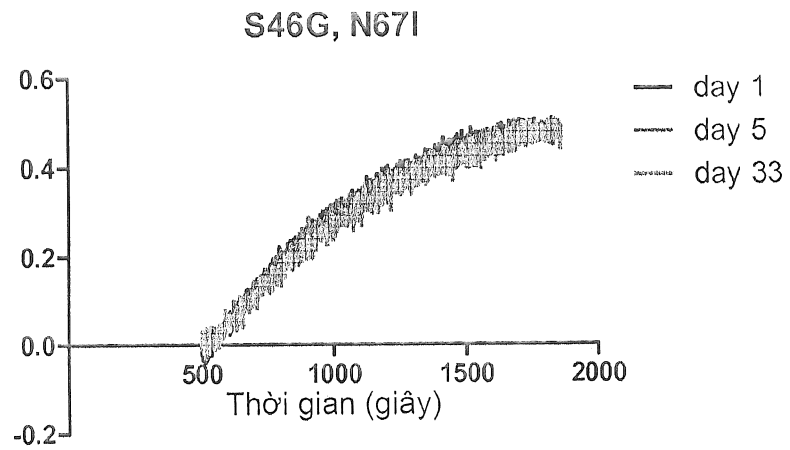


Hình 6

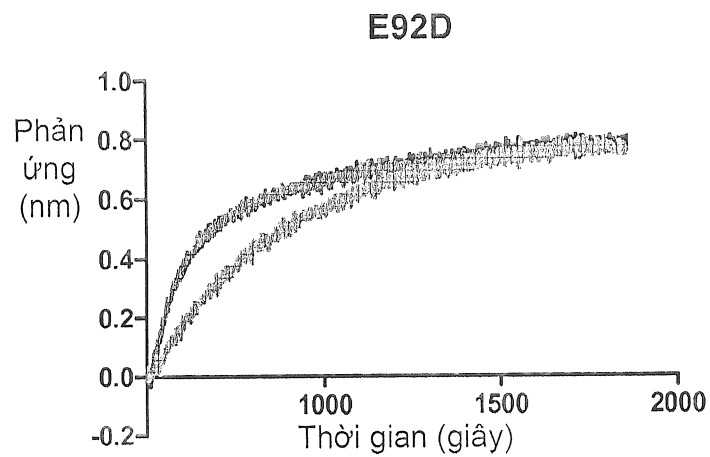
D.



E.

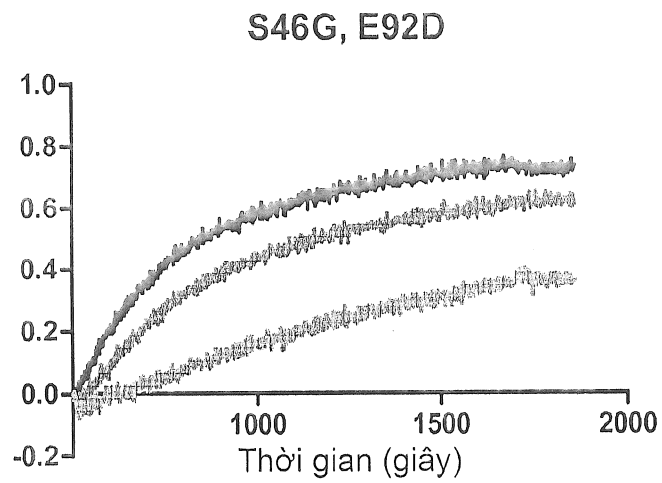


F.

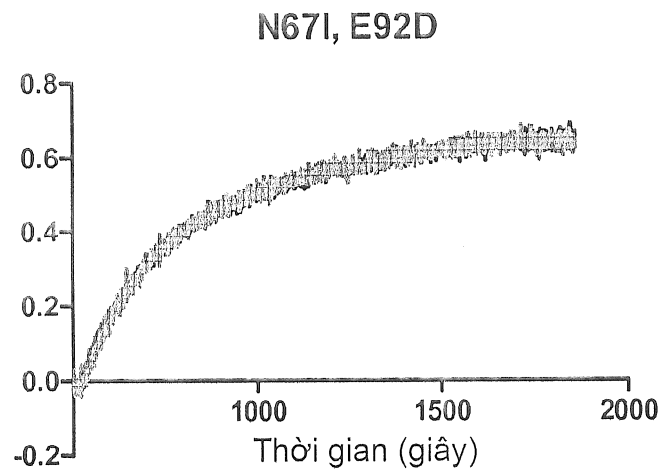


Hình 6 tiếp theo

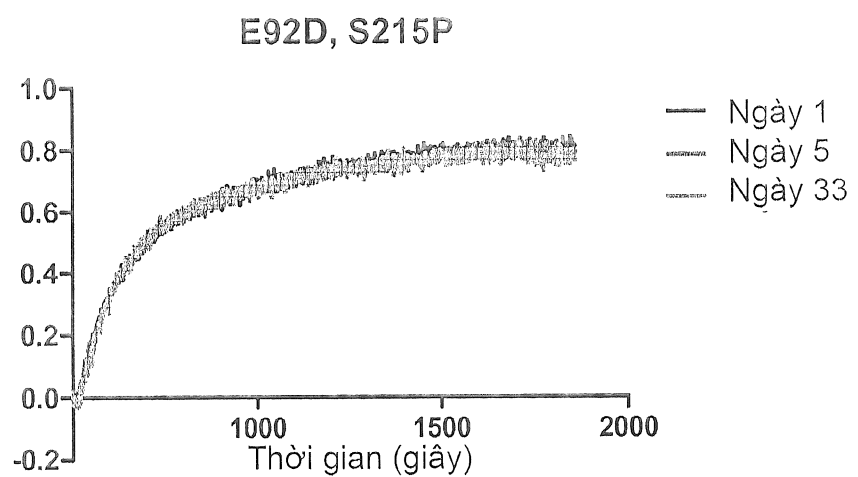
G.



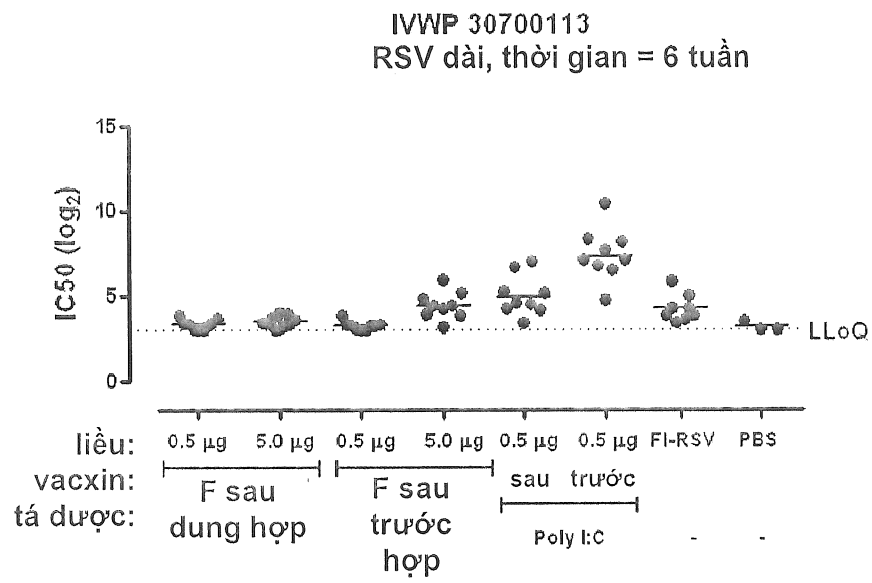
H.



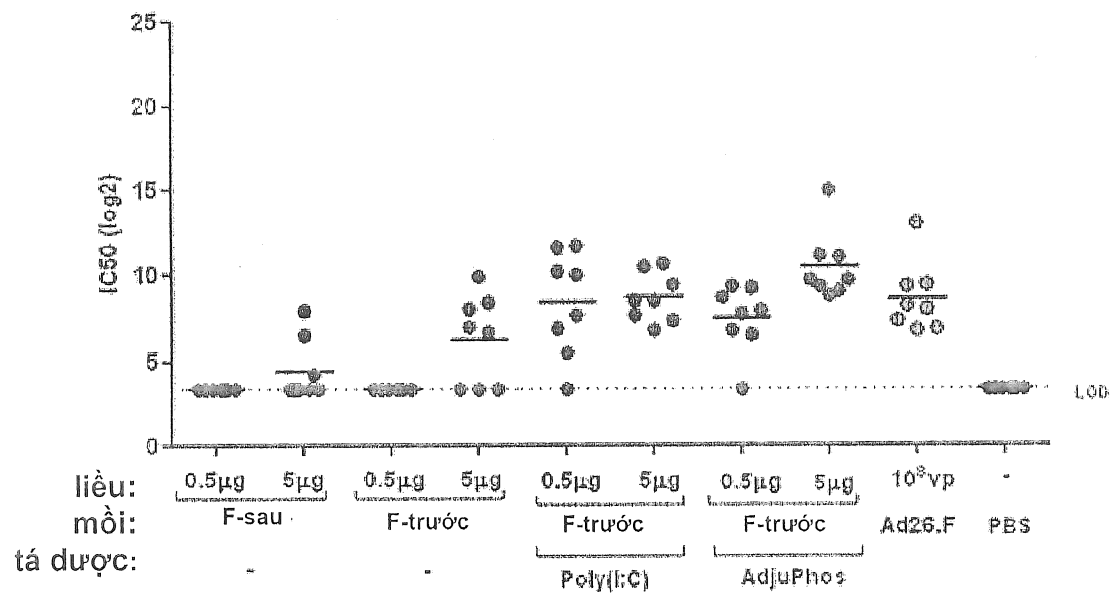
I.



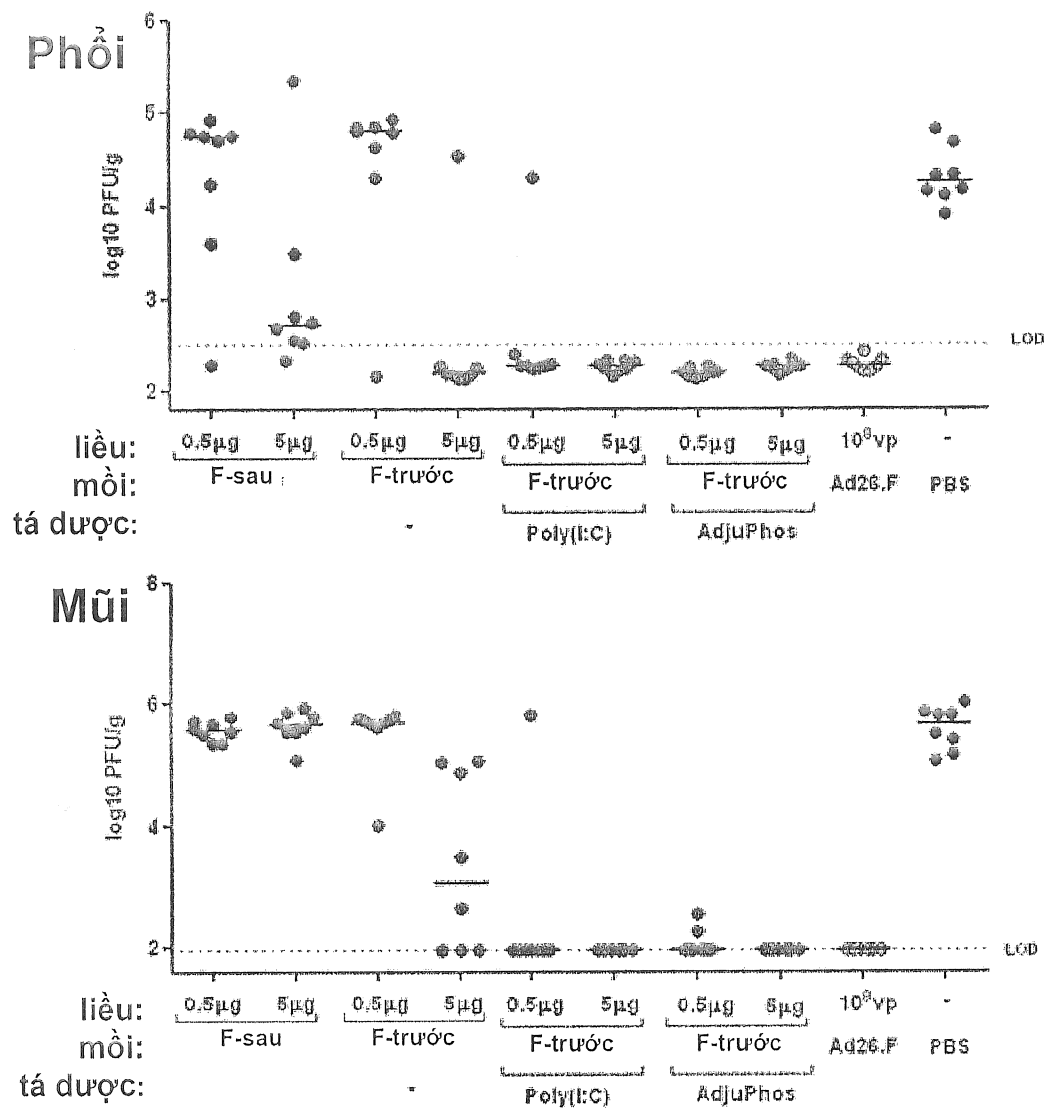
Hình 6 tiếp theo



Hình 7



Hình 8



Hình 9

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Janssen Vaccines & Prevention B.V.

<120> POLYPEPTIT DUNG HỢP CỦA VIRUT HỢP BÀO HỒ HẤP TIỀN DUNG HỢP TÁI TỔ HỢP, PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC MÃ HÓA POLYPEPTIT NÀY

<130> 0214 WO 00 ORD

<150> EP13165402

<151> 2013-04-25

<160> 97

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 574

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự dài đầy đủ A2 protein RSV F

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 2
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự dài đầy đủ B1 protein RSV F

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

Gln Tyr Met Asn Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 3
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Miền trime hóa

<400> 3

Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Lys
 1 5 10 15

Lys Ile Glu Ala
 20

<210> 4
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Miền trime hóa

<400> 4

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

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

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> mạch liên kết

<400> 5

Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
1				5

<210> 6

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền trime hóa

<400> 6

Ser	Ser	Leu	Gln	Gly	Asp	Val	Gln	Ala	Leu	Gln	Glu	Ala	Gly	Tyr	Ile
1				5					10					15	

Pro	Glu	Ala	Pro	Arg	Asp	Gly	Gln	Ala	Tyr	Val	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu
			20					25					30		

Trp	Val	Leu	Leu	Ser	Thr	Phe	Leu
		35				40	

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền khóa kéo Isoleuxin

<400> 7

Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys
 1 5

<210> 8

<211> 31

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Khóa kéo Isoleuxin (L)

<400> 8

Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu
 1 5 10 15

Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala
 20 25 30

<210> 9

<211> 28

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> GCN4II

<400> 9

Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn
 1 5 10 15

Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Ala
 20 25

<210> 10

<211> 28

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> GCN4II tối ưu hóa

<400> 10

Glu	Asp	Lys	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Ser	Lys	Ile	Tyr	His	Ile	Glu	Asn
1				5					10					15	

Arg	Ile	Ala	Arg	Ile	Glu	Lys	Leu	Val	Gly	Glu	Ala
			20					25			

<210> 11

<211> 43

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Matrilin -1 (bản dài)

<400> 11

Glu	Glu	Asp	Pro	Cys	Glu	Cys	Lys	Ser	Ile	Val	Lys	Phe	Gln	Thr	Lys
1				5					10					15	

Val	Glu	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Leu	Gln	Gln	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Ala
			20					25					30		

Lys	Arg	Ile	Glu	Ala	Leu	Glu	Asn	Lys	Ile	Ile
							35	40		

<210> 12

<211> 26

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Matrilin- 1 (bản ngắn)

<400> 12

Glu	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Leu	Gln	Gln	Lys	Leu	Glu	Ala	Val	Ala	Lys
1				5					10					15	

Arg Ile Glu Ala Leu Glu Asn Lys Ile Ile
 20 25

<210> 13
 <211> 521
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> F8: RSV A2, miền ngoại bào thuần chủng

<400> 13

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu His His His His His His His
 515 520

<210> 14

<211> 521

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F11: RSV B1, miền ngoại bào thuần chủng

<400> 14

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

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

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

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

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

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

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

Gln Tyr Met Asn Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu His His His His His His His
515 520

<210> 15
<211> 507
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> F47: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, IZ(S)

<400> 15

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220
 Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240
 Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255
 Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270
 Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285
 Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300
 Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320
 Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335
 Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350
 Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365
 Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380
 Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400
 Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile
 465 470 475 480

Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Gly Gly Ile
 485 490 495

Glu Gly Arg His His His His His His His His His
 500 505

<210> 16

<211> 495

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F47-: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, IZ(S)

<400> 16

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile
 465 470 475 480

Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Gly Gly
 485 490 495

<210> 17
 <211> 505
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> F43: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, IZ(S)

<400> 17

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile
 465 470 475 480

Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Gly Gly Ile
 485 490 495

Glu Gly Arg His His His His His His
 500 505

<210> 18
 <211> 534

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 18

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

His His His His His His
 530

<210> 19

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin

<400> 19

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 20

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24-: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 20

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 21

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 21

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 22

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24-N67I+S215P: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin (

<400> 22

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 23

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+E92D: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 23

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 24
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> F24- N67I+E92D RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 24

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 25

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+K465Q RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 25

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

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

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

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

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

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

Met	Gln	Ser	Thr	Pro	Ala	Thr	Asn	Asn	Gln	Ala	Arg	Gly	Ser	Gly	Ser
			100					105					110		

Gly	Arg	Ser	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Val	Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser
		115					120					125			

Gly	Val	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu	Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys
	130					135					140				

Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser
145					150					155					160

Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val	Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr
				165					170					175	

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Gln Ser Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 26

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24- N67I+K465Q RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 26

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Gln Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 27
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S46G RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 27

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 28

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24- N67I+S46G RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 28

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 29

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 E92D+S215P: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 29

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 30

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24-E92D+S215P: RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 30

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

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

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

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

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

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

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 31

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K508E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 31

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Glu Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 32

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+E487I: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 32

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Ile Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 33

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+E487Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 33

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 34
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+E487N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 34

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

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

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

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

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

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Asn Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 35

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+D486N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrinin

<400> 35

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asn
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 36
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+K465E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 36

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Glu Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 37
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+K465Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 37

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Gln Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 38

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+N426S: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin

<400> 38

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Ser Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 39

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K421N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 39

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Asn Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 40

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K209Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 40

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

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

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

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

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

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 41

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K201Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrinin

<400> 41

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 42
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+V185N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrinin

<400> 42

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Asn Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 43
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+G184N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 43

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Asn Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 44
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+N175P: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 44

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Pro Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 45

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+E92D: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 45

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 46

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K80E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 46

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 47

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K77E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin

<400> 47

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 48

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+S46G: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin

<400> 48

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 49

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24: RSV S46G A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 49

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 50
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24: RSV K465Q A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin

<400> 50

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Gln Ser Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 51

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24: RSV N67I A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 51

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

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

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220
 Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240
 Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255
 Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270
 Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285
 Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300
 Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320
 Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335
 Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350
 Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365
 Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380
 Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400
 Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 52

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24: RSV E92D A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin

<400> 52

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 53
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9501 chuỗi nặng

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Lys Ser Cys
225

<210> 54
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> CR9501 VH CDR1

<400> 54

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

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> CR9501 VH CDR2

<400> 55

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

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> CR9501 VH CDR3

<400> 56

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

<210> 57

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> CR9502 chuỗi nặng

<400> 57

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VH CDR1

<400> 58

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

<210> 59
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VH CDR2

<400> 59

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

Gly

<210> 60
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VH CDR3

<400> 60

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

<210> 61
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> CR9501 chuỗi nhẹ

<400> 61

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9501 VL CDR1

<400> 62

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

<210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9501 VL CDR2

<400> 63

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr
 1 5

<210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9501 VL CDR3

<400> 64

Gln Gln Tyr Gln Tyr Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 65
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> CR9502 chuỗi nhẹ

<400> 65

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 66
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VL CDR1

<400> 66

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

<210> 67
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VL CDR2

<400> 67

Asp Asp Arg Asp Arg Pro Ser
 1 5

<210> 68
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VL CDR3

<400> 68

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

<210> 69
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự dài đầy đủ CL57-v224 protein RSV F

<400> 69

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 70

<211> 513

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền ngoại bào, RSV CL57-v224

<400> 70

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu

<210> 71
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF, RSV A2, fibritin

<400> 71

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 72
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P, RSV A2, fibrin

<400> 72

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 73
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P, RSV B1, fibritin

<400> 73

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

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

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

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

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

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

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

Gln Tyr Met Asn Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 74

<211> 544

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> RSV N67I S215P, RSV CL57-v224, fibritin

<400> 74

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 75

<211> 522

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> PreFL N67I S215P, RSV CL57-v224, fibritin, Vòng

<400> 75

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ser Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

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

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Ile Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 515 520

<210> 76
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P E487Q, RSV A2, fibrinin

<400> 76

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 77
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P K201N, RSV A2, fibritin

<400> 77

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 78
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P E92D, RSV A2, fibritin

<400> 78

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 79
<211> 544
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> PreF N67I S215P D486N, RSV A2, fibritin

<400> 79

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 80
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P, RSV F gắn-màng, A2

<400> 80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 81
 <211> 552
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fsl N67I S215P, RSV F gắn-màng, A2

<400> 81

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 82
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P E92D, RSV F gắn-màng, A2

<400> 82

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 83
 <211> 552
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fs1 N67I S215P E92D, RSV F gắn-màng, A2

<400> 83

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 84
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P E487Q, RSV F gắn-màng, A2

<400> 84

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
565 570

<210> 85
<211> 552
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Fs1 N67I S215P E487Q, RSV F gắn-màng, A2

<400> 85

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 86
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P D486N, RSV F gắn-màng, A2

<400> 86

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asn Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 87

<211> 552

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Fsl N67I S215P D486N, RSV F gắn-màng, A2

<400> 87

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asn
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 88
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P S46G, RSV F gắn-màng, A2

<400> 88

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Gly Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 89

<211> 552

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Fsl N67I S215P S46G, RSV F gắn-màng, A2

<400> 89

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Gly Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 90
 <211> 529
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> AAA47881PIV5

<400> 90

Met Gly Thr Ile Ile Gln Phe Leu Val Val Ser Cys Leu Leu Ala Gly
 1 5 10 15

Ala Gly Ser Leu Asp Pro Ala Ala Leu Met Gln Ile Gly Val Ile Pro
 20 25 30

Thr Asn Val Arg Gln Leu Met Tyr Tyr Thr Glu Ala Ser Ser Ala Phe
 35 40 45

Ile Val Val Lys Leu Met Pro Thr Ile Asp Ser Pro Ile Ser Gly Cys
 50 55 60

Asn Ile Thr Ser Ile Ser Ser Tyr Asn Ala Thr Val Thr Lys Leu Leu
 65 70 75 80

Gln Pro Ile Gly Glu Asn Leu Glu Thr Ile Arg Asn Gln Leu Ile Pro
 85 90 95

Thr Arg Arg Arg Arg Arg Phe Ala Gly Val Val Ile Gly Leu Ala Ala
 100 105 110

Leu Gly Val Ala Thr Ala Ala Gln Val Thr Ala Ala Val Ala Leu Val
 115 120 125

Lys Ala Asn Glu Asn Ala Ala Ala Ile Leu Asn Leu Lys Asn Ala Ile
 130 135 140

Gln Lys Thr Asn Ala Ala Val Ala Asp Val Val Gln Ala Thr Gln Ser
 145 150 155 160

Leu Gly Thr Ala Val Gln Ala Val Gln Asp His Ile Asn Ser Val Val
 165 170 175

Ser Pro Ala Ile Thr Ala Ala Asn Cys Lys Ala Gln Asp Ala Ile Ile
 180 185 190

Gly Ser Ile Leu Asn Leu Tyr Leu Thr Glu Leu Thr Thr Ile Phe His
 195 200 205

Asn Gln Ile Thr Asn Pro Ala Leu Ser Pro Ile Thr Ile Gln Ala Leu
 210 215 220

Arg Ile Leu Leu Gly Ser Thr Leu Pro Thr Val Val Glu Lys Ser Phe
 225 230 235 240

Asn Thr Gln Ile Ser Ala Ala Glu Leu Leu Ser Ser Gly Leu Leu Thr
 245 250 255

Gly Gln Ile Val Gly Leu Asp Leu Thr Tyr Met Gln Met Val Ile Lys
 260 265 270

Ile Glu Leu Pro Thr Leu Thr Val Gln Pro Ala Thr Gln Ile Ile Asp
 275 280 285

Leu Ala Thr Ile Ser Ala Phe Ile Asn Asn Gln Glu Val Met Ala Gln
 290 295 300

Leu Pro Thr Arg Val Met Val Thr Gly Ser Leu Ile Gln Ala Tyr Pro
 305 310 315 320

Ala Ser Gln Cys Thr Ile Thr Pro Asn Thr Val Tyr Cys Arg Tyr Asn
 325 330 335

Asp Ala Gln Val Leu Ser Asp Asp Thr Met Ala Cys Leu Gln Gly Asn
 340 345 350

Leu Thr Arg Cys Thr Phe Ser Pro Val Val Gly Ser Phe Leu Thr Arg
 355 360 365

Phe Val Leu Phe Asp Gly Ile Val Tyr Ala Asn Cys Arg Ser Met Leu
 370 375 380

Cys Lys Cys Met Gln Pro Ala Ala Val Ile Leu Gln Pro Ser Ser Ser
 385 390 395 400

Pro Val Thr Val Ile Asp Met Tyr Lys Cys Val Ser Leu Gln Leu Asp
 405 410 415

Asn Leu Arg Phe Thr Ile Thr Gln Leu Ala Asn Val Thr Tyr Asn Ser
 420 425 430

Thr Ile Lys Leu Glu Ser Ser Gln Ile Leu Ser Ile Asp Pro Leu Asp
 435 440 445

Ile Ser Gln Asn Leu Ala Ala Val Asn Lys Ser Leu Ser Asp Ala Leu
 450 455 460

Gln His Leu Ala Gln Ser Asp Thr Tyr Leu Ser Ala Ile Thr Ser Ala
 465 470 475 480

Thr Thr Thr Ser Val Leu Ser Ile Ile Ala Ile Cys Leu Gly Ser Leu
 485 490 495

Gly Leu Ile Leu Ile Ile Leu Leu Ser Val Val Val Trp Lys Leu Leu
 500 505 510

Thr Ile Val Val Ala Asn Arg Asn Arg Met Glu Asn Phe Val Tyr His
 515 520 525

Lys

<210> 91
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> FUS_HRSV1B

<400> 91

Met Glu Leu Leu Ile His Arg Ser Ser Ala Ile Phe Leu Thr Leu Ala
 1 5 10 15

Val Asn Ala Leu Tyr Leu Thr Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Phe Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Thr Lys Cys Asn Gly Thr Asp Thr Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Ala Pro
 100 105 110

Gln Tyr Met Asn Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser
 115 120 125

Ile Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asn Asn Arg Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Gln Gln Ser Cys Arg Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Met Asn Ser Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Ser Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Ile Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Ile Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Asp Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Ser Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Ile Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly
 450 455 460

Lys Asn Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Thr Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Val Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ile
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Lys
 565 570

<210> 92

<211> 454

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> AC083301HRSVA2ref

<400> 92

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300
 Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ile Val Ile Ile Val
 405 410 415

Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala
 420 425 430

Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn
 435 440 445

Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 450

<210> 93
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo

<400> 93

Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Ala Pro Gln Tyr Met Asn
 1 5 10 15

Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser Ile Ser Lys Lys
 20 25 30

Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly
 35 40 45

<210> 94
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự được biến đổi

<400> 94

Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser Gly Arg Ser Leu
 1 5 10 15

Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly
20

<210> 95

<211> 63

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự của các phần 150 - 212 của RSV-F là

<400> 95

Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn
1 5 10 15

Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu
20 25 30

Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn
35 40 45

Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys
50 55 60

<210> 96

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HRAb1b2 178-192

<400> 96

Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
1 5 10 15

<210> 97

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 3fhi:B 179-193

<400> 97

Glu	Met	Asp	Val	Tyr	Val	Asn	Asn	Glu	Trp	Ala	Thr	Ser	Val	Gly
1				5					10					15