



(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)



1-0030939

(51)⁷ C07K 14/11; A61K 48/00; C12N 15/79; (13) B
C12N 15/62; C12N 15/63; A61K 39/145

(21) 1-2015-04948

(22) 27/05/2014

(86) PCT/EP2014/060997 27/05/2014

(87) WO/2014/191435 04/12/2014

(30) 13169830.0 30/05/2013 EP

(45) 25/02/2022 407

(43) 25/04/2016 337A

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

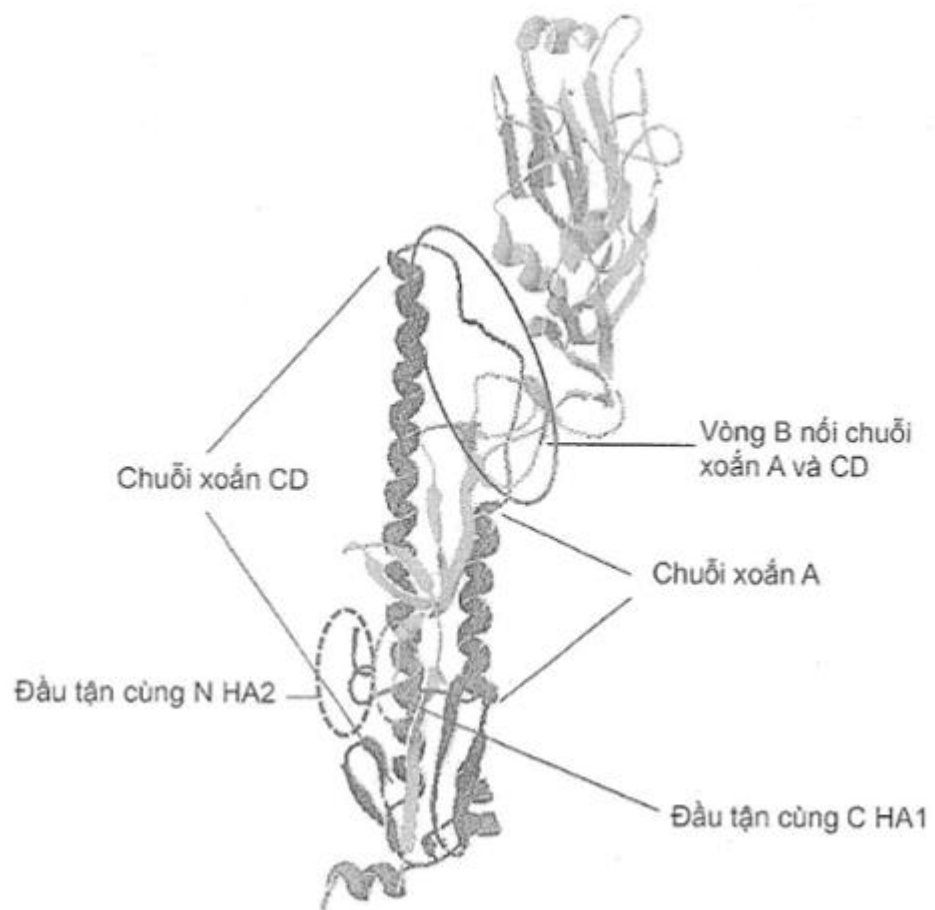
Archimedesweg 4, NL-2333 CN Leiden, The Netherlands

(72) MEIJBERG, Jan Wilem (NL); IMPAGLIAZZO, Antonietta (IT); RADOSEVIC, Katarina (NL); WADIA, Jehangir (CA); WILLIAMSON, Robert Anthony (GB); WAGNER, Michelle (US); DING, Zhaoqing (US).

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

(54) POLYPEPTIT VÙNG GỐC HEMAGGLUTININ CỦA VIRUT CÚM, CHẾ PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY, VACXIN CHỨA CHÚNG, PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC MÃ HÓA POLYPEPTIT NÀY VÀ VẬT TRUYỀN CHỨA PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC MÃ HÓA POLYPEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm chứa (a) vùng HA1 hemagglutinin của virus cúm gồm đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1, gồm các axit amin từ vị trí 1 đến vị trí x, tốt hơn là từ vị trí p đến vị trí x, của vùng HA1, được liên kết cộng hóa trị bằng trình tự liên kết gồm 0 đến 50 gốc axit amin với đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1, gồm các axit amin từ vị trí y đến và bao gồm cả axit amin đầu tận cùng C của vùng HA1 và (b) vùng HA2 hemagglutinin của virus cúm, trong đó polypeptit vùng gốc hemagglutinin này kháng lại sự phân cắt bằng proteaza tại chỗ nối giữa HA1 và HA2, và trong đó một hoặc nhiều amino của các axit amin ở các vị trí 337, 340, 352, 353, 402, 406, 409, 413 và/hoặc 416 đã được gây đột biến so với vị trí tương ứng trong HA của virus cúm kiểu dại. Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm chứa polypeptit này, vacxin chứa chúng, phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit này và vật truyền chứa phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực y học. Cụ thể, sáng chế đề cập đến các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm, chế phẩm chứa các polypeptit này, vaccin chứa chúng, phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit này và vật truyền chứa phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit này. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp tạo ra các polypeptit vùng gốc hemagglutinin và mô tả việc sử dụng chúng, cụ thể là để phát hiện, phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh cúm.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus cúm là tác nhân gây bệnh chính cho người, gây ra bệnh về đường hô hấp (thường được gọi là “bệnh cúm” hoặc “cúm”) có mức độ trầm trọng từ nhiễm cận lâm sàng đến viêm phổi cấp do virus có thể gây tử vong. Tác động lâm sàng của nhiễm cúm khác nhau tùy theo độc lực của chủng virus cúm và tình trạng phơi nhiễm, tiền sử, độ tuổi và miễn dịch của vật chủ. Mỗi năm, trên thế giới ước tính có khoảng 1 tỷ người nhiễm virus cúm, gây ra 3-5 triệu ca bệnh nghiêm trọng và ước tính có 300.000 đến 500.000 ca tử vong liên quan đến bệnh cúm. Phần lớn trong số các ca nhiễm cúm này là do virus cúm A mang cácтип phụ H1 hoặc H3 hemagglutinin, và phần nhỏ hơn là do virus cúm B, và do đó đại diện của tất cả ba тип phụ này được đưa vào vaccin cúm mùa. Công tác gây miễn dịch hiện nay dựa trên sự nhận dạng sớm các virus cúm đang lưu hành để cho phép sản xuất kịp thời vaccin cúm mùa hiệu quả. Ngoài những khó khăn cố hữu trong việc dự đoán các chủng sẽ là chủng trội trong suốt mùa tới, tính kháng kháng virus và lẫn tránh miễn dịch cũng đóng vai trò trong việc làm cho vaccin hiện nay không có hiệu quả phòng ngừa tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong. Ngoài ra, khả năng gây ra đại dịch do chủng virus có độc lực cao bắt nguồn từ các ổ chứa động vật và được sắp xếp lại để gia tăng sự phát tán từ người sang người, đặt ra mối đe dọa hiện thực và nghiêm trọng đến sức khỏe toàn cầu.

Virut cúm A được phân bố rộng rãi trong tự nhiên và có thể gây nhiễm cho nhiều loài chim và động vật có vú. Virut cúm là virut ARN có vỏ bọc thuộc họ Orthomyxoviridae. Bộ gen của chúng chứa tám đoạn ARN sợi đơn mã hóa cho 11 protein khác nhau, một nucleoprotein (NP), ba protein polymeraza (PA, PB1, và PB2), hai protein khung (M1 và M2), ba protein phi cấu trúc (NS1, NS2, và PB1-F2), và hai glycoprotein vỏ ngoài: hemagglutinin (HA) và neuraminidaza (NA). Các virut cúm được phân loại dựa trên sự khác nhau về cấu trúc kháng nguyên của các protein HA và NA, với các tổ hợp khác nhau của chúng đại diện các típ phụ virut cúm duy nhất và được tiếp tục phân loại thành các chủng virut cúm cụ thể. Mặc dù tất cả các típ phụ đã biết có thể được tìm thấy ở chim, các típ phụ của virut cúm A hiện đang lưu hành ở người là H1N1 và H3N2. Phân tích phát sinh chủng loại đã chứng minh việc chia nhỏ các hemagglutinin thành hai nhóm chính: trong số các loại khác các típ phụ H1, H2, H5 và H9 trong nhóm phát sinh chủng loại 1 và trong số các loại khác các típ phụ H3, H4 và H7 trong nhóm phát sinh chủng loại 2.

Chủng virut cúm típ B gây bệnh cúm lành tính ở người. Sự biến đổi kháng nguyên trong HA trong chủng virut cúm típ B nhỏ hơn sự biến đổi quan sát được trong chủng virut cúm A. Hai giống khác nhau về di truyền và kháng nguyên của virut cúm B đang lưu hành ở người, được đại diện bởi giống B/Yamagata/16/88 (còn được gọi là B/Yamagata) và B/Victoria/2/87 (B/Victoria) (Ferguson et al., 2003). Mặc dù phổ gây bệnh do virut cúm B thường nhẹ hơn bệnh do virut cúm A gây ra, nhưng vẫn thường quan sát được ca bệnh trầm trọng cần phải nằm viện do nhiễm virut cúm B.

Biết rằng các kháng thể trung hòa virut cúm chủ yếu là nhằm kháng lại hemagglutinin (HA). Hemagglutinin hoặc HA là glycoprotein dạng trimer được gắn vào vỏ ngoài của virut và có chức năng kép: HA chịu trách nhiệm liên kết với axit sialic thụ thể bề mặt tế bào và, sau đó hấp thu, HA làm trung gian cho quá trình dung hợp của màng virut và thể nhân dẫn đến giải phóng ARN của virut vào phần bào tan của tế bào. HA gồm vùng đầu lớn và vùng gốc nhỏ hơn. Sự gắn vào màng của virut được qua trung gian bởi trình tự gắn đầu tận cùng C được nối với vùng gốc. Protein được cắt sau dịch mã ở vòng được chỉ định tạo ra hai polypeptit, HA1 và HA2 (trình tự đầy đủ được gọi là HA0). Vùng đầu ở xa tâm màng chủ yếu có nguồn gốc từ HA1 và vùng gốc ở đầu gần màng chủ yếu từ HA2 (hình vẽ 1).

Lý do mà vacxin cúm mùa phải được thay đổi hàng năm là do sự biến đổi lớn của virut. Trong phân tử hemagglutinin, sự biến đổi này biểu thị cụ thể ở vùng đầu trong đó sự trôi dạt kháng nguyên và chuyển đổi kháng nguyên đã tạo ra một số lượng lớn các biến thể khác nhau. Vì đây cũng là vùng trội miễn dịch, hầu hết kháng thể trung hòa nhằm vào kháng lại vùng này và hoạt động bằng cách gây cản trở sự liên kết với thụ thể. Sự kết hợp của tính trội miễn dịch và sự biến đổi lớn của vùng đầu cũng giải thích tại sao việc nhiễm một chủng cụ thể không dẫn đến khả năng miễn dịch cho các chủng khác: các kháng thể được tạo ra do lần nhiễm đầu tiên chỉ nhận diện được số lượng chủng hạn chế có quan hệ gần với virut của lần nhiễm ban đầu.

Gần đây, các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virut cúm, không có toàn bộ hoặc gần như toàn bộ vùng đầu hình cầu hemagglutinin của virut cúm, đã được mô tả và được sử dụng để tạo ra đáp ứng miễn dịch với một hoặc nhiều epitop bảo thủ của polypeptit vùng gốc. Cho rằng các epitop của polypeptit vùng gốc có tính gây miễn dịch ít hơn so với vùng có tính gây miễn dịch cao của vùng đầu hình cầu, do đó việc không có vùng đầu hình cầu trong polypeptit vùng gốc có thể cho phép đáp ứng miễn dịch kháng lại một hoặc nhiều epitop của polypeptit vùng gốc để phát triển (Steel et al., 2010). Steel và các đồng tác giả do đó đã tạo ra phân tử mới bằng cách loại bỏ gốc các axit amin từ 53 đến 276 của HA1 của chủng A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) và A/Hong Kong/1968 (H3N2) từ trình tự HA ban đầu, và thay thế các gốc này bằng trình tự nối ngắn linh động GGGG. Chủng ngừa cho chuột bằng cấu trúc HK68 của H3 không tạo ra kháng huyết thanh mà phản ứng chéo với các HA nhóm 1. Ngoài ra, như được thể hiện trong đơn PCT/EP2012/073706, các polypeptit vùng gốc rất không ổn định và không theo hình dạng chính xác như đã được chứng minh do không liên kết với các kháng thể mà đã được thể hiện là liên kết với các epitop bảo thủ trong vùng gốc.

Ngoài ra, Bommakanti và các đồng tác giả (2010) mô tả polypeptit dựa trên HA2 bao gồm các gốc axit amin 1-172 của HA2, đoạn nối gồm 7 axit amin (GSAGSAG), các gốc axit amin 7-46 của HA1, đoạn nối gồm 6 axit amin GSAGSA, tiếp theo là các gốc 290-321 của HA1, có các đột biến V297T, I300E, Y302T và C305T trong HA1. Thiết kế này dựa trên trình tự HA của H3 (A/Hong Kong/1968). Polypeptit chỉ tạo ra sự bảo vệ chéo kháng lại một chủng virut cúm khác trong típ phụ H3 (A/Phil/2/82 nhưng không kháng lại

típ phụ H1 (A/PR/8/34). Trong một bài báo gần đây hơn của Bommakanti và các tác giả (2012) trình tự vùng gốc dựa trên HA từ A/Puerto Rico/8/1934 H1N1 (H1HA0HA6) được mô tả. Trong polypeptit này, dạng tương đương của các gốc 55 đến 302 đã được loại bỏ và các đột biến I311T, V314T, I316N, C319S, F406D, F409T, và L416D đã được tạo ra. Cả H3 và HA dựa trên các polypeptit này được biểu hiện trong *E. coli* và do đó không có các glycan là apt của các protein HA có trong tự nhiên. Khi được biểu hiện trong *E. coli*, polypeptit này được thu hồi chủ yếu dưới dạng các khối kết tụ cao phân tử và lượng nhỏ đơn phân. Polypeptit này liên kết CR6261 với hai hằng số phân ly rõ ràng 9 và 0,2 μ M. Các tác giả đã chỉ ra rằng, các con chuột có thể sống sót với thử thách bằng 1 LD₉₀ của virus A/Puerto Rico/8/1934 H1N1 tương đồng sau khi gây miễn dịch (hai lần, cách nhau 4 tuần) bằng 20 μ g protein được pha với tá được là 100 μ g CpG7909. Các tác giả cũng mô tả các polypeptit được hoán đổi vòng tròn có thể so sánh được với các polypeptit được mô tả trên đây đối với các polypeptit có nguồn gốc từ chủng A/Hong Kong/1/1968. Các polypeptit này có nguồn gốc từ HA của chủng A/Puerto Rico/8/1934 H1N1, A/North Carolina/20/99 H1N1 hoặc A/California/07/2009 H1N1 và có thể tạo ra sự bảo vệ một phần trong mô hình thử thách nhẹ (1LD₉₀) ở các con chuột nhiễm A/Puerto Rico/8/1934 H1N1 (tức là trong cùng típ phụ). Huyết thanh từ các con chuột lang được gây miễn dịch bằng các polypeptit này không thể hiện các mức độ trung hòa có thể phát hiện được khi được thử nghiệm trong thử nghiệm trung hòa.

Do đó, vẫn cần có nhu cầu về vaccine phổ biến an toàn và hiệu quả, kích thích việc tạo ra đáp ứng bởi kháng thể trung hòa mạnh, phổ rộng và tạo ra sự bảo vệ kháng lại tập hợp rộng gồm các chủng virus cúm hiện nay và trong tương lai (cả cúm mùa và đại dịch), cụ thể là tạo ra sự bảo vệ kháng lại một hoặc nhiều típ phụ của virus cúm A thuộc nhóm phát sinh chủng loại 1 và/hoặc nhóm phát sinh chủng loại 2, để phòng ngừa và điều trị hiệu quả bệnh cúm.

Tài liệu phi sáng chế liên quan

Bommakanti et al. (2010), PNAS 107(31): 13701-13706.

Bommakanti et al. (2012), J Virol 86: 13434

Coffman et al. (2010), Immunity 33: 492.

Devereux et al. (1984), Nucl. Acids Res. 12: 387.

- Dopheide TA, Ward CW. (1981) J Gen Virol. 367–370
- Ekiert et al. (2009), Science 324:246.
- Ekiert et al. (2011), Science 333: 844.
- Ferguson et al. (2003), Nature 422: 428-443.
- Lorieau et al. 2010, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107: 11341.
- Steel et al. (2010), mBio 1(1): 1-9.
- Steven et al (2004) Science 303: 1866
- Steven et al (2006) Science 312: 404
- Throsby et al. (2008), Plos một 12(3): 1-15.
- Wilson et al (1981) Nature 289: 366

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập đến các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm, chế phẩm chứa các polypeptit này, vacxin chứa chúng, phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit này và vật truyền chứa phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit này. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp tạo ra các polypeptit vùng gốc hemagglutinin và mô tả việc sử dụng chúng, cụ thể là để phát hiện, phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh cúm.

Để đạt được mục đích trên đây, theo một phương án, sáng chế đề xuất các polypeptit gây miễn dịch mới chứa vùng gốc hemagglutinin của virus cúm và không có vùng đầu hình cầu, được gọi là polypeptit vùng gốc hemagglutinin (HA) của virus cúm. Các polypeptit này có khả năng gây đáp ứng miễn dịch khi được sử dụng cho đối tượng, cụ thể đối tượng là người. Các polypeptit theo sáng chế trình diện các epitop bảo thủ của phân tử HA vùng cuống gần gốc màng cho hệ miễn dịch khi không có các epitop trội mà có mặt trong vùng đầu ở xa màng. Cuối cùng, một phần của trình tự ban đầu của protein HA0 tạo nên vùng đầu được loại bỏ và trình tự axit amin còn lại được nối lại, trực tiếp hoặc, theo một số phương án, bằng cách đưa vào trình tự nối ngắn linh động ('cầu nối') để khôi phục tính liên tục của chuỗi axit amin. Trình tự thu được tiếp tục được cải biến bằng cách đưa các đột biến đặc hiệu làm ổn định cấu trúc ba chiều tự nhiên của phần còn lại của phân tử HA0. Các polypeptit gây miễn dịch không chứa HA1 và/hoặc HA2 chiều dài đủ của virus cúm.

Theo sáng chế, các polypeptit dựa trên HA của các virus cúm A thuộc típ phụ H1.

Sáng chế đề xuất các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm chứa (a) vùng HA1 hemagglutinin của virus cúm mà chứa đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1, được liên kết cộng hóa trị bằng trình tự liên kết gồm 0 đến 50 gốc axit amin với đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1, và (b) vùng HA2 hemagglutinin của virus cúm, trong đó polypeptit vùng gốc hemagglutinin này kháng với sự phân cắt bằng proteaza ở chỗ nối giữa HA1 và HA2, và trong đó một hoặc nhiều axit amin trong trình tự axit amin nối chuỗi xoắn A và chuỗi xoắn CD của HA2 đã được gây đột biến so với vùng HA2 của virus cúm kiểu đại.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa một hoặc nhiều đột biến ở vị trí 337, 340, 352 hoặc 353 của trình tự SEQ ID NO: 1, hoặc các vị trí tương đương trong các virus cúm khác thuộc lớp H1. Đột biến có nghĩa là một axit amin ở một vị trí cụ thể đã được thay thế bằng một axit amin khác mà không có mặt ở vị trí tương ứng trong HA của virus cúm kiểu đại, tức là HA của virus cúm mà trên đó polypeptit được dựa trên.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế còn bao gồm một hoặc nhiều đột biến trong trình tự axit amin HA2 nối gốc đầu tận cùng C của chuỗi xoắn A với gốc đầu tận cùng N của chuỗi xoắn CD, như được thể hiện trên Hình vẽ 1.

Theo một số phương án, đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1 gồm các axit amin 1-x của HA1, và đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1 gồm các axit amin y-hết (tức là axit amin đầu tận cùng C của HA1) của HA1. Do đó, theo một số phương án, việc loại bỏ đoạn HA1 chứa trình tự axit amin từ axit amin ở vị trí x+1 đến và bao gồm axit amin ở vị trí y-1. Theo một số phương án, polypeptit không chứa trình tự tín hiệu. Theo một số phương án, đoạn đầu tận cùng N của HA1 theo đó gồm axit amin p-x của HA1, trong đó p là axit amin đầu tiên của phân tử HA trưởng thành (ví dụ p=18 trong trường hợp SEQ ID NO: 1). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có thể tạo ra polypeptit được mô tả ở đây không có các peptit tín hiệu (ví dụ axit amin 1-17 của trình tự SEQ ID NO: 1).

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa trình tự nội bào của HA và vùng xuyên màng. Theo các phương án khác, polypeptit theo sáng chế không chứa trình tự nội bào của HA và vùng xuyên màng. Theo một số phương án, trình tự trong tế bào và xuyên màng, ví dụ trình tự axit amin từ vị trí (hoặc tương đương) 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, hoặc 530 của vùng HA2 đến đầu tận cùng C của vùng HA2 đã được loại bỏ.

Polypeptit theo sáng chế không chứa toàn bộ chiều dài HA1.

Theo một số phương án, polypeptit được glycosyl hóa.

Theo một số phương án, các polypeptit gây miễn dịch hầu như nhỏ hơn HA0, tốt hơn không có toàn bộ hoặc hầu như toàn bộ vùng đầu hình cầu của HA. Tốt hơn, các polypeptit gây miễn dịch có chiều dài không nhiều hơn 360, tốt hơn là không nhiều hơn 350, 340, 330, 320, 310, 305, 300, 295, 290, 285, 280, 275, hoặc 270 axit amin. Theo một số phương án, các polypeptit gây miễn dịch có chiều dài khoảng 250 đến 350, tốt hơn là từ 260 đến 340, tốt hơn là từ 270 đến 330, tốt hơn là từ 270 đến 330 axit amin.

Theo một số phương án, polypeptit còn chứa một hoặc nhiều đột biến khác trong vùng HA1 và/hoặc HA2, khi so với trình tự axit amin của HA mà các vùng HA1 và HA2 dựa vào.

Polypeptit theo sáng chế chứa các epitop vùng gốc bảo thủ của nhóm 1 trung hòa chéo kháng thể CR6261 (như được bộc lộ trong WO2008/028946) và/hoặc của kháng thể CR9114 (như được mô tả trong WO2013/007770), kháng thể có khả năng liên kết vào và trung hòa virus cúm A cả hai nhóm 1 và nhóm 2, cũng như virus cúm B. Do đó, một khía cạnh khác của sáng chế là đề xuất các polypeptit vùng gốc HA, trong đó các polypeptit này trình diện ổn định các epitop của kháng thể CR6261 và/hoặc CR9114, như được chỉ ra bởi liên kết của kháng thể hoặc các kháng thể này với các polypeptit này. Theo một phương án, các polypeptit này không liên kết với CR8020 và CR8057 (được mô tả trong WO 2010/130636), là các kháng thể đơn dòng chỉ liên kết với các virus cúm H3. Các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm được đề cập trong sáng chế thích hợp để sử dụng trong chế phẩm gây miễn dịch (ví dụ vắc xin) có khả năng tạo ra các đáp ứng miễn dịch kháng lại nhiều chủng virus cúm A và/hoặc B. Theo một phương án, các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm này có khả năng tạo ra các đáp ứng miễn dịch kháng lại chủng virus cúm A thuộc nhóm phát sinh chủng loại 1 và/hoặc 2, cụ thể là kháng lại các chủng virus cúm thuộc cả hai nhóm phát sinh chủng loại 1 và 2. Theo một phương án, polypeptit có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch kháng lại các chủng virus cúm cùng loài. Theo một phương án, các polypeptit này có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch kháng lại các chủng virus cúm khác loại thuộc cùng và/hoặc các tí phụ khác nhau. Theo phương án khác, polypeptit có khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch đối với các chủng virus cúm thuộc cả hai nhóm phát sinh chủng loại 1 và 2 và các chủng virus cúm B.

Polypeptit theo sáng chế có thể được sử dụng ví dụ trong một liệu pháp điều trị và/hoặc dự phòng và/hoặc chẩn đoán tiêu chuẩn bệnh hoặc tình trạng bệnh lý do virus cúm gây ra, cụ thể là virus cúm A thuộc nhóm phát sinh chủng loại 1 hoặc 2 và/hoặc virus cúm B, hoặc kết hợp với các phép điều trị dự phòng và/hoặc chữa bệnh khác, như vaccin, tác nhân kháng virus và/hoặc kháng thể đơn dòng (đã có hoặc trong tương lai).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit vùng gốc của HA của virus cúm. Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất các vector chứa axit nucleic mã hóa các polypeptit gây miễn dịch.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các phương pháp gây đáp ứng miễn dịch ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng polypeptit và/hoặc phân tử axit nucleic theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm gây miễn dịch chứa polypeptit và/hoặc phân tử axit nucleic theo sáng chế. Các chế phẩm gây miễn dịch được đề xuất theo sáng chế có thể ở dạng bất kỳ mà cho phép chế phẩm được sử dụng cho đối tượng, ví dụ chuột, chồn hoặc người. Theo phương án cụ thể, các chế phẩm gây miễn dịch là thích hợp để sử dụng cho người. Polypeptit, các phân tử axit nucleic và chế phẩm có thể được sử dụng trong các phương pháp phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh do virus cúm và/hoặc cho mục đích chẩn đoán bệnh. Các chế phẩm này có thể còn chứa chất mang được dung hoặc tá dược. Theo một số phương án, các chế phẩm được mô tả ở đây bao gồm, hoặc được sử dụng kết hợp với, tá dược.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các polypeptit, axit nucleic và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch được sử dụng làm vaccin. Cụ thể, sáng chế đề cập đến các polypeptit gây miễn dịch, axit nucleic, và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch được sử dụng làm vaccin theo sáng chế và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh lý do virus cúm gây ra A thuộc tí phụ của nhóm phát sinh chủng loại 1 và/hoặc 2 và/hoặc virus cúm B.

Các phương án khác và việc sử dụng polypeptit theo sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn khi tham khảo phần mô tả chi tiết sáng chế sau đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1. thể hiện mô hình của monome HA ở trạng thái trước dung hợp như xuất hiện trong trimer tự nhiên. HA 1 được thể hiện bằng màu xám nhạt, HA2 được thể hiện bằng màu

xám đậm. Chuỗi cuộn xoắn A (một phần quan trọng của epitop của CR6261) và chuỗi cuộn xoắn CD (một phần của bề mặt chung của trime) được chỉ rõ, là vòng nối các yếu tố cấu trúc bậc hai này. Đầu tận cùng C của HA1 và đầu tận cùng N của HA2 cũng được thể hiện. Peptit dung hợp nằm ở đầu tận cùng N của HA2.

Hình 2. thể hiện liên kết của polypeptit hòa tan theo sáng chế với các kháng thể đơn dòng CR6261 và CR9114 sử dụng phép đo giao thoa lớp sinh học. Các băng phía trên thể hiện đường cong liên kết đối với các kháng thể đơn dòng được cố định được cho tiếp xúc với các polypeptit hòa tan theo sáng chế ở các nồng độ khác nhau, các băng phía dưới thể hiện phân tích trạng thái bền vững được sử dụng để đánh giá hệ số Kd. A: s127H1 SEQ ID NO: 66. B: s86B4 SEQ ID NO: 67. C: s74H9 SEQ ID NO: 65. D: s6E12 SEQ ID NO: 69. E: s55G7 SEQ ID NO: 68.

Hình 3. thể hiện sắc phổ loại trừ theo kích thước của các polypeptit hòa tan theo sáng chế khi có mặt và không có mặt các đoạn Fab của CR8020, CR6261 và CR9114. Đối với tất cả các polypeptit hòa tan theo sáng chế, quan sát được sự hình thành phức đối với các đoạn Fab của CR6261 và CR9114, nhưng không xảy ra đối với các đoạn Fab của CR8020. A: s127H1 SEQ ID NO: 66. B: s86B4 SEQ ID NO: 67. C: s74H9 SEQ ID NO: 65. D: s6E12 SEQ ID NO: 69. E: s55G7 SEQ ID NO: 68.

Hình 4. thể hiện đánh giá hiệu quả bảo vệ polypeptit theo sáng chế s74H9 SEQ ID NO: 65 và s86B4 SEQ ID NO: 67 trong mô hình thử thách gây chết bằng virus cúm H1N1 A/NL/602/09. A: Hàng trên cùng: Sống sót, sự thay đổi khối lượng cơ thể trung bình và điểm lâm sàng trung bình đối với các nhóm đối chứng âm (PBS) và đối chứng dương (CR6261). Hàng dưới cùng: Sống sót, sự thay đổi khối lượng cơ thể trung bình và điểm lâm sàng trung bình đối với các nhóm thử nghiệm được gây miễn dịch bằng s74H9 hoặc s86B4. Để so sánh, nhóm đối chứng âm PBS cũng được thể hiện. B: Tính sinh miễn dịch của s74H9 (SEQ ID NO: 65) và s86B4 (SEQ ID NO: 67). Hàng trên cùng: băng phía trái và ở giữa: sự gây miễn dịch làm cho các kháng thể có khả năng nhận diện kháng nguyên cùng nguồn gốc (băng s74H9 trái, băng s86B4 ở giữa) cũng như HA chiều dài đủ từ chủng A/Brisbane/59/07 H1N1 (băng bên phải) như được xác định bằng phương pháp ELISA. Hàng dưới cùng: Các kháng thể được tạo ra có khả năng cạnh tranh với CR9114 để liên kết với HA chiều dài đủ từ chủng A/Brisbane/59/07 H1N1 trong thử nghiệm ELISA cạnh tranh

(bảng bên trái). Để so sánh mức độ cạnh tranh bởi CR9114 không được đánh dấu (tức là sự tự cạnh tranh) và kháng thể đơn dòng không liên kết CR8020, cả hai được pha loãng theo dãy từ nồng độ ban đầu 5 $\mu\text{g/ml}$, được thể hiện trên một đồ thị riêng.

Hình 5. thể hiện đánh giá hiệu quả bảo vệ của polypeptit theo sáng chế s127H1 (SEQ ID NO: 66) trong mô hình thử thách gây chết bằng virus cúm A/Puerto Rico/8/1934 H1N1. A: Hàng trên cùng: Sống sót, sự thay đổi khối lượng cơ thể trung bình và điểm lâm sàng trung bình đối với các nhóm đối chứng âm (PBS) và đối chứng dương (CR6261). Hàng dưới cùng: Sống sót, sự thay đổi khối lượng cơ thể trung bình và điểm lâm sàng trung bình đối với nhóm thử nghiệm được gây miễn dịch bằng s127H1 (SEQ ID NO: 35). Để so sánh nhóm đối chứng âm PBS cũng được thể hiện.

B: Tính sinh miễn dịch của s127H1 (SEQ ID NO: 35). Hàng trên cùng:: sự gây miễn dịch làm cho các kháng thể có khả năng nhận diện kháng nguyên cùng nguồn gốc s127H1 (SEQ ID NO: 35) (bảng bên trái) cũng như HA chiều dài đủ từ A/Brisbane/59/07 H1N1 (bảng bên phải) như được xác định bằng ELISA. Hàng dưới cùng: Các kháng thể được tạo ra có khả năng cạnh tranh với CR9114 để liên kết với HA chiều dài đủ từ chủng A/Brisbane/59/07 H1N1 trong thử nghiệm ELISA cạnh tranh (bảng bên trái). Để so sánh các mức độ cạnh tranh bởi CR9114 không được đánh dấu (tức là sự tự cạnh tranh) và kháng thể đơn dòng không liên kết CR8020, cả hai được pha loãng theo dãy từ nồng độ đầu tiên 5 $\mu\text{g/ml}$, được thể hiện trong một đồ thị riêng.

Hình 6. thể hiện tần suất quan sát được và theo lý thuyết của sự xuất hiện axit amin ở vị trí được chỉ ra trong các trình tự Tập hợp 1 mà thể hiện liên kết với CR6261 được cải thiện. Các trị số được biểu hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm của tổng số các trình tự Tập hợp 1 mà thể hiện liên kết CR6261 được cải thiện. Trị số theo lý thuyết được tính là 100% chia cho số lượng axit amin có thể thay đổi ở mỗi vị trí tổng tập hợp này.

Hình 7. thể hiện tần suất xuất hiện của tổ hợp các axit amin trong các chất liên kết CR6261 được cải thiện từ tập hợp 1. Các trình tự có liên kết với CR6261 được cải thiện được chia nhóm theo sự có mặt của axit amin ở các vị trí được chỉ ra bên trái, và tần suất của mỗi tổ hợp được tính là tỷ lệ phần trăm trong tổng số trình tự của Tập hợp 1 mà thể hiện liên kết CR6261 được cải thiện. Các tổ hợp mà thường xuất hiện hơn được đóng khung.

A. Phân tích các trình tự tổ hợp trong miền peptit dung hợp. B. Phân tích miền cuộn vòng B.

Hình 8. thể hiện tần suất quan sát được và theo lý thuyết của sự xuất hiện axit amin ở vị trí được chỉ ra trong các trình tự của Tập hợp 2 mà thể hiện liên kết với CR6261 được cải thiện. Các trị số được biểu hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm trong tổng số các trình tự của Tập hợp 2 mà thể hiện liên kết CR6261 được cải thiện. Các trị số theo lý thuyết được tính là 100% chia cho số lượng axit amin có thể thay đổi ở mỗi vị trí trong tập hợp này.

Hình 9. thể hiện tần số xuất hiện của các tổ hợp của các axit amin trong các chất liên kết CR6261 được cải thiện từ Tập hợp 2. Các trình tự có liên kết với CR6261 được cải thiện được chia nhóm theo sự có mặt của các axit amin ở các vị trí được chỉ ra bên trái, và tần suất của mỗi tổ hợp được tính là tỷ lệ phần trăm của tổng số các trình tự của Tập hợp 2 mà thể hiện liên kết CR6261 được cải thiện. Các tổ hợp mà thường xuất hiện hơn được đóng khung. Sự thay đổi ở vị trí 402 không có trong phân tích này bởi vì tất cả các trình tự liên kết được cải thiện chứa Met ở vị trí này, trong khi đối với vị trí 352 chỉ các trình tự chứa hoặc Phe hoặc Tyr được xem xét. A. Phân tích các trình tự tổ hợp trong miền peptit dung hợp. B. Phân tích miền cuộn vòng B.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả được đưa ra như sau:

Axit amin theo sáng chế có thể là axit amin bất kỳ trong số 20 axit amin có trong tự nhiên (hoặc axit amin ‘chuẩn’) hoặc biến thể của chúng, ví dụ như D-prolin (chất đồng phân đối ảnh dạng D của prolin), hoặc biến thể bất kỳ không được tìm thấy trong tự nhiên trong các protein, ví dụ như norleuxin. Các axit amin chuẩn có thể được chia thành một số nhóm dựa vào đặc 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 đặc tính đặc biệt như xystein, có thể tạo thành liên kết disulfid cộng hóa trị (hoặc cầu disulfid) với các gốc xystein khác, prolin có thể tạo vòng bộ khung polypeptit, và glyxin linh động hơn các axit amin khác. Bảng 2 thể hiện các chữ viết tắt và đặc tính của các axit amin chuẩn.

Thuật ngữ "độ tương đồng về trình tự axit amin" chỉ mức độ tương đồng hoặc giống nhau giữa một cặp trình tự axit amin được so sánh, thường được biểu hiện dưới dạng phần trăm. Tỷ lệ phần trăm tương đồng là tỷ lệ phần trăm của các gốc axit amin trong trình tự ứng cử mà tương đồng hoặc giống nhau (tức là, các gốc axit amin ở vị trí đưa ra trong việc sắp xếp và so sánh là cùng axit amin) hoặc tương tự (tức là, thay thế axit amin ở vị trí đưa ra trong việc sắp xếp và so sánh là sự thay thế bảo thủ, như được thảo luận dưới đây), với gốc axit amin tương ứng trong peptit sau khi sắp xếp và so sánh các trình tự này và đưa vào các khoảng trống, nếu cần, để đạt được mức độ tương đồng về trình tự lớn nhất. Tính tương đồng về trình tự, bao gồm tỷ lệ phần trăm của trình tự tương đồng và trình tự tương tự, được xác định bằng các kỹ thuật so sánh trình tự đã biết trong lĩnh vực, như bằng cách kiểm tra bằng mắt thường và tính toán toán học, hoặc tốt hơn, việc so sánh được thực hiện bằng cách so sánh thông tin về trình tự nhờ sử dụng chương trình máy tính. Ví dụ, chương trình máy tính được ưu tiên là Genetics Computer Group (GCG; Madison, Wis.) Wisconsin package version 10.0 program, 'GAP' (Devereux et al. (1984)).

"Sự thay thế bảo thủ" để chỉ sự thay thế một axit amin của một nhóm bằng một axit amin khác của cùng nhóm đó. Theo các phương án cụ thể, sự thay thế bảo thủ không làm thay đổi cấu trúc hoặc chức năng, hoặc cả cấu trúc và chức năng của polypeptit. Các nhóm axit amin cho mục đích thay thế bảo thủ bao gồm nhóm kỵ nước (ví dụ Met, Ala, Val, Leu), nhóm ưa nước trung tính (ví dụ Cys, Ser, Thr), nhóm axit (ví dụ Asp, Glu), nhóm bazơ (ví dụ Asn, Gln, His, Lys, Arg), nhóm phá vỡ cấu hình (ví dụ Gly, Pro) và nhóm thơm (ví dụ Trp, Tyr, Phe).

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "bệnh" và "rối loạn" được sử dụng thay thế nhau để chỉ tình trạng bệnh lý ở đối tượng. Theo một số phương án, tình trạng bệnh lý này là nhiễm virus, cụ thể là nhiễm virus cúm. Theo các phương án cụ thể, thuật ngữ "bệnh" chỉ trạng thái bệnh lý có nguyên nhân từ sự có mặt của virus trong tế bào hoặc đối tượng, hoặc do sự xâm lấn của virus vào tế bào hoặc đối tượng. Theo một số phương án, tình trạng bệnh lý là bệnh ở đối tượng, mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý giảm do gây đáp ứng miễn dịch ở đối tượng thông qua việc sử dụng chế phẩm gây miễn dịch.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "lượng có hiệu quả" trong việc sử dụng chất điều trị bệnh cho đối tượng để chỉ lượng chất điều trị bệnh có (các) hiệu quả phòng và/hoặc

điều trị bệnh. Theo một số phương án, "lượng có hiệu quả" trong việc sử dụng chất điều trị bệnh cho đối tượng chỉ lượng chất điều trị đủ để đạt được sự giảm hoặc làm thuyên giảm mức độ trầm trọng của nhiễm virus cúm, bệnh hoặc rối loạn đi kèm với nhiễm virus cúm, như, nhưng không chỉ giới hạn ở giảm thời gian kéo dài của nhiễm virus cúm, bệnh hoặc rối loạn đi kèm với nhiễm virus cúm, phòng ngừa sự tiến triển của nhiễm virus cúm, bệnh hoặc rối loạn đi kèm với nhiễm virus cúm, phòng ngừa sự phát triển, khởi phát hoặc tái diễn của nhiễm virus cúm, bệnh hoặc rối loạn đi kèm với nhiễm virus cúm, phòng ngừa hoặc làm giảm sự phát tán của virus cúm đối tượng này sang đối tượng khác, làm giảm việc phải nằm viện cho đối tượng và/hoặc thời gian nằm viện, tăng khả năng sống sót của đối tượng nhiễm virus cúm hoặc bệnh đi kèm với nhiễm virus cúm, loại bỏ nhiễm virus cúm hoặc bệnh đi kèm với nhiễm virus cúm, ức chế hoặc làm giảm sự sao chép của virus cúm, làm giảm độ chuẩn của virus cúm; và/hoặc tăng cường và/hoặc cải thiện các tác dụng phòng hoặc chữa bệnh của chất điều trị bệnh khác. Theo một số phương án, lượng có hiệu quả không mang lại sự bảo vệ hoàn toàn trước bệnh nhiễm virus cúm nhưng có tác dụng làm giảm độ chuẩn hoặc giảm số lượng virus cúm so với đối tượng không được điều trị. Lợi ích của việc làm giảm độ chuẩn, số lượng hoặc tổng gánh nặng của virus cúm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, làm giảm các triệu chứng nghiêm trọng của nhiễm virus cúm, làm giảm các triệu chứng của nhiễm virus cúm và giảm thời gian của bệnh đi kèm với nhiễm virus cúm.

Thuật ngữ "vật chủ", như được sử dụng ở đây, để chỉ sinh vật hoặc tế bào mà vector như vector tách dòng hoặc vector biểu hiện được đưa vào. Sinh vật hoặc tế bào có thể là nhân sơ hoặc nhân thật. Tốt hơn, vật chủ bao gồm tế bào chủ được phân lập, ví dụ tế bào chủ trong nuôi cấy. Thuật ngữ "tế bào chủ" chỉ có nghĩa là tế bào được cải biến đối với (trên)-sự biểu hiện của polypeptit theo sáng chế. Cần phải hiểu rằng thuật ngữ vật chủ không chỉ nhằm đề cập đến đối tượng là sinh vật hoặc tế bào cụ thể mà còn bao gồm thế hệ con của sinh vật hoặc tế bào này. Bởi vì một số cải biến có thể xảy ra trong các thế hệ kế tiếp do đột biến hoặc ảnh hưởng của môi trường, thực tế thế hệ con này có thể không giống hệt sinh vật hoặc tế bào cha mẹ nhưng vẫn được bao gồm trong phạm vi của thuật ngữ "vật chủ" như được sử dụng ở đây.

Thuật ngữ "được bao gồm" hoặc "bao gồm" như được sử dụng ở đây được xem là được theo sau bởi cụm từ "không giới hạn".

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "nhiễm" chỉ sự xâm lấn bởi, sự nhân lên và/hoặc sự có mặt của virus trong tế bào hoặc đối tượng. Theo một phương án, sự nhiễm là sự nhiễm "hoạt động", tức là, sự nhiễm mà trong đó virus đang sao chép trong tế bào hoặc đối tượng. Sự nhiễm này được đặc trưng bởi sự phát tán của virus sang tế bào, mô và/hoặc cơ quan khác, từ từ tế bào, mô và/hoặc cơ quan bị nhiễm virus ban đầu. Sự nhiễm cũng có thể là sự nhiễm tiềm ẩn, tức là, sự nhiễm mà trong đó virus không sao chép. Theo một số phương án, sự nhiễm chỉ trạng thái bệnh lý bắt nguồn từ sự có mặt của virus trong tế bào hoặc đối tượng, hoặc do sự xâm lấn của virus vào tế bào hoặc đối tượng.

Các virus cúm được phân loại thành các típ phụ virus cúm: chỉ A, B và C. Thuật ngữ "típ phụ virus cúm" như được sử dụng ở đây để chỉ các biến thể của virus cúm A mà được đặc trưng bởi các tổ hợp các protein bề mặt virus là hemagglutinin (H) và neuramidaza (N). Theo sáng chế các típ phụ của virus cúm có thể được thể hiện bằng số H của chúng, ví dụ như "virus cúm chứa HA của típ phụ H3", "virus cúm thuộc típ phụ H3" hoặc "virus cúm H3", hoặc bằng sự kết hợp của số H và số N, ví dụ như "típ phụ của virus cúm H3N2" hoặc "H3N2". Thuật ngữ "típ phụ" bao gồm cụ thể tất cả các chủng đơn, thuộc mỗi típ phụ, thường là kết quả của các đột biến và thể hiện các thông số gây bệnh khác nhau, bao gồm các chủng phân lập trong tự nhiên cũng như các thể đột biến nhân tạo hoặc 'thể tái sắp xếp và thể tương tự. Các chủng này cũng có thể được đề cập dưới dạng các "thể phân lập" khác nhau của loại phụ virus cúm. Do đó, như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "chủng" và "thể phân lập" có thể được sử dụng thay đổi cho nhau. Danh pháp hiện nay đối với các chủng virus cúm hoặc các thể phân lập được từ người bao gồm típ (chi) virus, tức là A, B hoặc C, vị trí địa lý lần đầu tiên phân lập được, số chủng và năm phân lập được, thường với việc mô tả kháng nguyên của HA và NA được đưa ra trong ngoặc đơn, ví dụ A/Moscow/10/00 (H3N2). Các chủng không gây bệnh cho người cũng bao gồm vật chủ có nguồn gốc trong danh pháp này. Típ phụ của virus cúm A có thể còn được phân loại bằng cách viện dẫn đến nhóm phát sinh chủng loại của chúng. Phân tích phát sinh chủng loại đã chứng minh việc chia nhỏ các hemagglutinin thành hai nhóm chính: trong số các loại khác các típ phụ H1, H2, H5 và H9 trong nhóm phát sinh chủng loại 1 (virus cúm "nhóm 1") và trong số các loại khác các típ phụ H3, H4, H7 và H10 trong nhóm phát sinh chủng loại 2 (virus cúm "nhóm 2").

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "bệnh do virus cúm" chỉ trạng thái bệnh lý bắt nguồn từ sự có mặt của virus cúm, ví dụ virus cúm A hoặc B trong tế bào hoặc đối tượng hoặc sự xâm lấn của virus cúm vào tế bào hoặc đối tượng. Theo các phương án cụ thể, thuật ngữ này chỉ bệnh ở đường hô hấp do virus cúm gây ra.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "axit nucleic" được dự định bao gồm các phân tử ADN (ví dụ, cADN hoặc ADN bộ gen) và các phân tử ARN (ví dụ, mARN) và các phân tử tương tự ADN hoặc ARN được tạo ra bằng cách sử dụng các phân tử tương tự axit nucleic. Axit nucleic có thể là sợi đơn hoặc sợi đôi. Các phân tử axit nucleic có thể được cải biến về mặt hóa học hoặc hóa sinh học hoặc có thể chứa các bazơ nucleotit không có trong tự nhiên hoặc dẫn xuất bazơ nucleotit, như được hiểu dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Các cải biến này bao gồm, ví dụ, đánh dấu, metyl hóa, thay thế một hoặc nhiều nucleotit có trong tự nhiên bằng chất tương tự, cải biến bên trong nucleotit như các liên kết không tích điện (ví dụ, metyl phosphonat, phosphotrieste, phosphoramidat, carbamat, etc.), các liên kết tích điện (ví dụ, phosphorothioat, phosphorodithioat, etc.), các gốc nhô ra (ví dụ, các polypeptit), các chất xen vào (ví dụ, acridin, psoralen, etc.), các chất cang hóa, các chất alkyl hóa, và các liên kết được cải biến (ví dụ, axit nucleic alpha anomeric, v.v.). Đề cập đến trình tự axit nucleic bao hàm trình tự bổ sung của nó trừ khi được quy định khác. Do đó, đề cập đến phân tử axit nucleic có trình tự cụ thể cần được hiểu là bao hàm sợi bổ sung của nó, với trình tự bổ sung của nó. Các sợi bổ sung cũng hữu dụng, ví dụ, trong liệu pháp điều trị đối nghĩa, các mẫu dò lai hóa và các môi trường PCR.

Như được sử dụng ở đây, theo một số phương án số lượng axit amin trong HA là dựa trên số lượng axit amin trong HA0 virus cúm kiểu đại, ví dụ số lượng axit amin của chủng virus cúm chủng A/Brisbane/59/2007 H1N1 (SEQ ID NO: 1). Như được sử dụng trong sáng chế, cụm từ "axit amin ở vị trí "x" trong HA" do đó chỉ axit amin tương ứng với axit amin ở vị trí x trong HA0 virus cúm kiểu đại cụ thể, ví dụ A/Brisbane/59/2007 (SEQ ID NO: 1; trong đó axit amin của vùng HA2 được thể hiện bằng chữ in nghiêng). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần phải hiểu rằng các axit amin tương đương ở các chủng và/hoặc các tip phụ virus cúm khác có thể được xác định bằng cách so sánh nhiều trình tự. Lưu ý rằng, trong hệ thống đánh số được sử dụng trong toàn bộ đơn yêu cầu cấp patent này 1 chỉ axit amin đầu tận cùng N của protein HA0 chưa trưởng thành (SEQ ID

NO: 1). Trình tự trưởng thành bắt đầu ví dụ ở vị trí 18 của trình tự SEQ ID NO: 1. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần phải hiểu rằng trình tự dẫn đầu (hoặc trình tự tín hiệu) mà điều khiển việc vận chuyển của protein trong quá trình sản sinh (ví dụ tương ứng với axit amin 1-17 của trình tự SEQ ID NO: 1), thường không có mặt trong polypeptit cuối cùng, ví dụ được sử dụng trong vacxin. Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế do đó bao gồm trình tự axit amin không có trình tự dẫn đầu, tức là trình tự axit amin này dựa trên trình tự axit amin của HA0 không có trình tự tín hiệu.

"Polypeptit" chỉ polyme gồm các axit amin được liên kết với nhau bằng liên kết amit mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ này có thể chỉ một chuỗi polypeptit được liên kết bằng các liên kết amit cộng hóa trị. Thuật ngữ này cũng có thể chỉ nhiều chuỗi polypeptit được liên kết bằng các mối tương tác không cộng hóa trị như liên kết ion, liên kết hydro, liên kết Van der Waals và liên kết kỵ nước. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng thuật ngữ này bao gồm các polypeptit đã được cải biến, ví dụ bằng quá trình xử lý sau dịch mã như sự phân cắt peptit tín hiệu, sự tạo ra liên kết disulfid, quá trình glycosyl hóa (ví dụ, glycosyl hóa liên kết với N và glycosyl hóa liên kết với O), sự phân cắt bằng proteaza và sự cải biến lipid (ví dụ quá trình palmitoyl hóa S).

"Polypeptit vùng gốc" chỉ polypeptit mà bao gồm một hoặc nhiều chuỗi polypeptit tạo ra vùng gốc của hemagglutinin (HA) có trong tự nhiên (hoặc kiểu đại). Thông thường, polypeptit vùng gốc là một chuỗi polypeptit (tức là tương ứng với vùng gốc của polypeptit hemagglutinin HA0) hoặc hai chuỗi polypeptit (tức là tương ứng với vùng gốc của polypeptit hemagglutinin HA1 trong mối liên hợp với polypeptit hemagglutinin HA2). Theo sáng chế, polypeptit vùng gốc chứa một hoặc nhiều đột biến khi so với phân tử HA kiểu đại, cụ thể là một hoặc nhiều gốc axit amin của HA kiểu đại có thể đã được thay thế bằng các axit amin khác, không xảy ra trong tự nhiên ở vị trí tương ứng trong HA kiểu đại cụ thể. Polypeptit vùng gốc theo sáng chế có thể còn chứa một hoặc nhiều trình tự kết nối, như được mô tả dưới đây.

Thuật ngữ "vector" chỉ phân tử axit nucleic mà trong đó phân tử axit nucleic thứ hai có thể được chèn vào để đưa vật chủ vào trong khi nó sẽ được sao chép và trong một số trường hợp là được biểu hiện. Nói cách khác, vector có khả năng vận chuyển phân tử axit

nucleic mà nó được liên kết. Các vector tách dòng cũng như vector biểu hiện được bao hàm trong thuật ngữ “vector”, như được sử dụng ở đây. Các vector bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, plasmid, cosmit, nhiễm sắc thể vi khuẩn nhân tạo (bacterial artificial nhiễm sắc thể -BAC) và nhiễm sắc thể nấm nhân tạo (yeast artificial nhiễm sắc thể - YAC) và các vector có nguồn gốc từ thực khuẩn thể hoặc các virus thực vật và động vật (bao gồm người). Các vector bao gồm điểm khởi đầu sao chép được nhận diện bởi vật chủ được đề xuất và trong trường hợp các vector biểu hiện, trình tự khởi đầu phiên mã và các vùng điều hòa khác được nhận diện bằng vật chủ. Một số vật truyền có thể tự sao chép trong vật chủ mà chúng được đưa vào (ví dụ, các vật truyền có điểm khởi đầu sao chép của vi khuẩn có thể sao chép trong vi khuẩn). Các vector khác có thể được tích hợp vào bộ gen của vật chủ khi được đưa vào vật chủ, và do đó được sao chép cùng với bộ gen của vật chủ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kiểu đại" để chỉ chỉ virus cúm lưu hành phổ biến trong tự nhiên và gây ra sự bùng phát bệnh dịch điển hình.

Virus cúm có tác động đáng kể đến sức khỏe cộng đồng toàn cầu, gây ra hàng triệu ca bệnh trầm trọng mỗi năm, hàng nghìn ca tử vong, và thiệt hại đáng kể về kinh tế. Vaccine cúm tam liên hiện nay kích thích các kháng thể trung hòa tiềm năng đáp ứng với các chủng trong vaccine và các chủng phân lập có quan hệ gần, nhưng ít khi mở rộng đối với các chủng khác nhau thuộc một tí phụ hoặc các tí phụ khác. Ngoài ra, việc chọn lọc chủng làm vaccine thích hợp gặp phải nhiều thách thức và thường dẫn đến sự phòng ngừa chưa được tối ưu. Hơn nữa, việc dự đoán tí phụ của virus có thể gây đại dịch trong mùa tới, bao gồm thời gian và địa điểm chúng sẽ xuất hiện hiện nay là điều không thể.

Hemagglutinin (HA) là glycoprotein chính của vỏ ngoài từ virus cúm A là đích chủ yếu của các kháng thể trung hòa. Hemagglutinin có hai chức năng chính trong quá trình xâm nhập của virus. Thứ nhất, hemagglutinin làm trung gian cho sự bám dính của virus lên bề mặt của tế bào đích thông qua tương tác với thụ thể axit sialic. Thứ hai, sau quá trình nhập bào của virus, tiếp theo hemagglutinin khởi động quá trình dung hợp của màng virus và màng endosom để giải phóng bộ gen của nó vào tế bào chất của tế bào đích. HA bao gồm vùng ngoài lớn gồm khoảng 500 axit amin được phân cắt bởi enzym của vật chủ tạo ra 2 polypeptit mà vẫn được liên kết bằng liên kết disulfit. Phần lớn của đoạn đầu tận cùng N (HA1, 320-330 axit amin) tạo ra vùng đầu hình cầu xa tâm màng chứa vị trí liên kết thụ thể và hầu hết các

yếu tố quyết định được nhận diện bởi các kháng thể trung hòa virus. Phần đầu tận cùng C nhỏ hơn (HA2, khoảng 180 axit amin) tạo ra cấu trúc tương tự cuống giữ vùng đầu hình cầu gắn vào màng tế bào hoặc màng virus. Mức độ tương đồng về trình tự giữa các típ phụ nhỏ hơn trong các polypeptit HA1 (độ tương đồng 34% - 59% giữa các típ phụ) so với trong polypeptit HA2 (độ tương đồng 51%- 80%). Vùng bảo thủ nhất là trình tự xung quanh vị trí phân cắt, cụ thể là 23 axit amin đầu tận cùng N của HA2, được bảo thủ trong số các típ phụ của virus cúm A (Lorieau et al., 2010). Một phần của vùng này được bộc lộ dưới dạng vòng trên bề mặt trong phân tử HA tiền thân (HA0), nhưng trở nên không thể xâm nhập được khi HA0 được cắt thành HA1 và HA2.

Hầu hết các kháng thể trung hòa liên kết với các vòng quanh vị trí liên kết thụ thể và cản trở sự liên kết với thụ thể và bám dính. Do các vòng này có tính biến đổi cao, hầu hết kháng thể hướng đích các vùng này là đặc hiệu chủng, điều này giải thích tại sao vaccine hiện nay kích thích hệ miễn dịch giới hạn, đặc hiệu chủng này. Tuy nhiên, gần đây, kháng thể đơn dòng hoàn toàn của người hemagglutinin của kháng virus cúm có khả năng trung hòa chéo ở phạm vi rộng được tạo ra. Phân tích chức năng và cấu trúc cho thấy rằng các kháng thể này cản trở quá trình dung hợp màng và đối kháng trực tiếp các epitop có tính bảo thủ cao trong vùng gốc của protein HA của virus cúm (Throsby et al., 2008; Ekiert et al. 2009, WO 2008/028946, WO2010/130636, WO 2013/007770).

Polypeptit vùng gốc trình diện ổn định các epitop của các kháng thể này được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent đang theo đuổi PCT/EP2012/073706. Ít nhất một số trong các polypeptit vùng gốc được mô tả ở đây trình diện ổn định epitop của CR6261 và/hoặc CR9114 và là gây miễn dịch ở chuột. Ít nhất một số trong các polypeptit vùng gốc được mô tả ở đây trình diện ổn định epitop của CR8020 và là gây miễn dịch ở chuột.

Theo sáng chế các polypeptit vùng gốc HA mới được thiết kế trình diện các epitop này. Các polypeptit này có thể được sử dụng để tạo ra vaccine trên cơ sở epitop phổ biến gây ra sự bảo vệ kháng lại phổ rộng các chủng virus cúm. Tương tự trong polypeptit vùng gốc được mô tả trước đó, phần biến đổi cao và chi phối miễn dịch, tức là vùng đầu, được loại bỏ đầu tiên từ phân tử HA chiều dài đủ để tạo ra polypeptit vùng gốc, còn được gọi là mini-HA, để điều chỉnh lại đáp ứng miễn dịch hướng đến vùng gốc trong đó có các epitop đối với các kháng thể trung hòa phổ rộng. Các kháng thể trung hòa phổ rộng được đề cập

trên đây được sử dụng để thăm dò sự cuộn gấp chính xác của các phân tử mới được tạo ra, và để xác nhận sự có mặt của các epitop trung hòa.

Polypeptit vùng gốc mới theo sáng chế thể hiện liên kết với kháng thể được gia tăng, cụ thể là CR6261 và/hoặc CR9114, so với liên kết của các kháng thể đó với polypeptit vùng gốc được mô tả trước đây (PCT/EP2012/073706).

Polypeptit vùng gốc theo sáng chế có khả năng trình diện các epitop bảo thủ của phân tử HA vùng cuống gần gốc màng cho hệ miễn dịch khi không có mặt các epitop trội mà có trong vùng đầu ở xa màng. Cuối cùng, một phần của trình tự ban đầu của protein HA0 tạo ra vùng đầu được loại bỏ và được nối lại, hoặc theo cách trực tiếp, hoặc theo một số phương án, bằng cách đưa vào trình tự nối ngắn linh động ('cầu nối') để khôi phục tính liên tục của chuỗi polypeptit. Trình tự polypeptit thu được còn được cải biến bằng cách đưa vào các đột biến đặc hiệu làm ổn định cấu trúc ba chiều tự nhiên của phần còn lại của phân tử HA0.

Do đó, sáng chế đề xuất các polypeptit chứa (a) vùng HA1 hemagglutinin của virus cúm mà bao gồm đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1, được liên kết cộng hóa trị bằng trình tự liên kết gồm 0 đến 50 gốc axit amin với đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1, và (b) vùng HA2 hemagglutinin của virus cúm, trong đó polypeptit vùng gốc hemagglutinin này kháng lại sự phân cắt bằng proteaza ở chỗ nối giữa HA1 và HA, và trong đó một hoặc nhiều axit amin trong vùng HA1 và HA2 đã được gây đột biến. Trong polypeptit theo sáng chế, vùng HA1 và HA2 do đó chứa một hoặc nhiều đột biến so với vùng HA1 và HA2 của hemagglutinin của virus cúm kiểu đại mà polypeptit vùng gốc HA dựa trên.

Theo sáng chế, các polypeptit vùng gốc dựa trên HA của virus cúm chứa HA thuộc lớp phụ H1.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa một hoặc nhiều đột biến ở vị trí 337, 340, 352 hoặc 353 của trình tự SEQ ID NO: 1, hoặc các vị trí tương đương trong các virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 352 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 353 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 337 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 340 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa một hoặc nhiều đột biến trong trình tự axit amin HA2 nối gốc đầu tận cùng C của chuỗi xoắn A với gốc đầu tận cùng N của chuỗi xoắn CD, như được thể hiện trên hình vẽ. 1.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều axit amin ở vị trí 402, 406, 409, 413 và 416 (việc đánh số đề cập đến trình tự SEQ ID NO: 1), hoặc các vị trí tương đương trong các virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 402 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 406 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 409 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 413 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 416 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Polypeptit theo sáng chế không chứa HA1 chiều dài đủ.

Theo một số phương án, các polypeptit gây miễn dịch hầu như nhỏ hơn HA0, tốt hơn không có toàn bộ hoặc hầu như toàn bộ vùng đầu hình cầu của HA. Tốt hơn, các polypeptit gây miễn dịch có chiều dài không nhiều hơn 360, tốt hơn là không nhiều hơn 350, 340, 330, 320, 310, 305, 300, 295, 290, 285, 280, 275, hoặc 270 axit amin. Theo một số phương án, các polypeptit gây miễn dịch có chiều dài khoảng 250 đến 350, tốt hơn là từ 260 đến 340, tốt hơn là từ 270 đến 330, tốt hơn là từ 270 đến 330 axit amin.

Theo một số phương án, polypeptit còn chứa một hoặc nhiều đột biến khác trong vùng HA1 và/hoặc HA2, khi so với trình tự axit amin của HA mà các vùng HA1 và HA2 thu được từ đó. Do đó, độ ổn định của các polypeptit vùng gốc còn được gia tăng.

Theo sáng chế, “đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1” chỉ đoạn polypeptit mà tương ứng với phần đầu tận cùng amin của vùng HA1 của phân tử hemagglutinin (HA) của virus cúm. Theo một số phương án, đoạn polypeptit đầu tận cùng N của HA1 chứa axit amin từ vị trí 1 đến vị trí x của vùng HA1, trong đó axit amin ở vị trí x là gốc axit amin nằm trong HA1. Thuật ngữ “đoạn đầu tận cùng C của HA1” chỉ đoạn polypeptit mà tương ứng với phần đầu tận cùng carboxy của vùng HA1 của hemagglutinin của virus cúm. Theo một số phương án, đoạn polypeptit đầu tận cùng C của HA1 chứa axit amin từ vị trí y đến và bao gồm axit amin đầu tận cùng C của vùng HA1, trong đó axit amin ở vị trí y là gốc axit amin nằm trong HA1. Theo sáng chế y lớn hơn x, do đó một đoạn của vùng HA1 giữa đoạn đầu tận cùng N của HA1 và đoạn đầu tận cùng C của HA1, tức là giữa axit amin ở vị trí x và axit amin ở vị trí y của HA1, được loại bỏ, và theo một số phương án, được thay thế bằng trình tự nối.

Theo một số phương án đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1 gồm axit amin 1-x của HA1, và đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1 gồm các axit amin y-điểm cuối của HA1. Do đó, theo một số phương án, việc loại bỏ đoạn HA1 chứa trình tự axit amin từ axit amin ở vị trí x+1 đến và bao gồm axit amin ở vị trí y-1.

Theo một số phương án, polypeptit không chứa trình tự tín hiệu. Do đó theo một số phương án, đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1 gồm axit amin p-x của HA1, trong đó p là axit amin đầu tiên của phân tử HA trưởng thành (ví dụ p=18 trong trường hợp trình tự SEQ ID NO: 1). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có thể tạo ra polypeptit được mô tả ở đây không có các peptit tín hiệu (ví dụ axit amin 1-17 của trình tự SEQ ID NO: 1).

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa trình tự nội bào của HA và vùng xuyên màng. Theo các phương án khác, polypeptit theo sáng chế không chứa trình tự nội bào của HA và vùng xuyên màng. Theo một số phương án, trình tự trong tế bào và xuyên màng, ví dụ trình tự axit amin từ vị trí (hoặc tương đương) 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, hoặc 530 của vùng HA2 đến đầu tận cùng C của vùng HA2 đã được loại bỏ.

Theo sáng chế, polypeptit vùng gốc của hemagglutinin này kháng với sự phân cắt bằng proteaza ở vị trí nối giữa HA1 và HA2. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực biết được rằng trình tự Arg (R) - Gly (G) nối HA1 và HA2 là vị trí nhận biết của các proteaza tương tự trypsin và thường được cắt để hoạt hóa hemagglutinin. Do

polypeptit vùng gốc của HA được mô tả ở đây không được hoạt hóa, các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm theo sáng chế kháng với sự phân cắt bằng proteaza. Theo sáng chế, do đó vị trí phân cắt bằng proteaza được loại bỏ hoặc vị trí của proteaza nối HA1 và HA2 được gây đột biến thành trình tự mà kháng với sự phân cắt bằng proteaza.

Theo một số phương án, gốc axit amin đầu tận cùng C của đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1 là axit amin bất kỳ không phải arginin (R) hoặc lysin (K). Theo một số phương án, axit amin đầu tận cùng C của HA1 là glutamin (Q), serin (S), treonin (T), asparagin (N), axit aspartic (D) hoặc axit glutamic (E). Theo một số phương án, gốc axit amin đầu tận cùng C của đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1 là glutamin (Q).

Theo một số phương án, polypeptit được glycosyl hóa.

Theo sáng chế, các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm dựa trên HA của virus cúm thuộc tip phụ H1. Với “dựa trên” có nghĩa là các đoạn đầu tận cùng N, và/hoặc các đoạn đầu tận cùng C của vùng HA1 và/hoặc vùng HA2 có độ tương đồng về trình tự axit amin ít nhất là 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với các đoạn đầu tận cùng N và/hoặc các đoạn đầu tận cùng C tương ứng của HA1 và/hoặc vùng HA2 của hemagglutinin của virus cúm bất kỳ có trong tự nhiên thuộc tip phụ H1, H3 và/hoặc H5 mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết hoặc được phát hiện sau. Theo một số phương án, các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm này dựa trên hemagglutinin của virus cúm thuộc virus cúm A nhóm 1.

Theo sáng chế, các polypeptit dựa trên HA của H1, tức là HA chứa trình tự axit amin từ virus cúm thuộc tip phụ H1. Theo phương án cụ thể, polypeptit chứa các vùng gốc hemagglutinin từ hoặc dựa trên HA của virus cúm A chứa HA của tip phụ H1, như từ virus cúm A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (SEQ ID NO:1), như được mô tả dưới đây. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần phải hiểu rằng virus cúm A chứa HA của tip phụ H1 khác cũng có thể được sử dụng theo sáng chế. Theo một số phương án, polypeptit chứa các vùng gốc hemagglutinin dựa trên HA của virus cúm A H1 được chọn từ Bảng 3.

Theo một số phương án, polypeptit chứa đoạn polypeptit đầu tận cùng N của HA1 chứa axit amin từ vị trí 1 đến vị trí x của HA của vùng H1, trong đó x là axit amin bất kỳ nằm giữa axit amin ở vị trí 46 và axit amin ở vị trí 60, như axit amin ở vị trí 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, hoặc 59, tốt hơn trong đó x là 52, 53, 55 hoặc 59. Tốt hơn,

polypeptit chứa đoạn đầu tận cùng N của HA1 không có trình tự tín hiệu, tức là đoạn đầu tận cùng N của HA1 chứa axit amin từ vị trí 18 (ví dụ đối với HA của H1, như SEQ ID NO: 1), hoặc vị trí tương đương trong các chủng virus cúm H1 khác (xem ví dụ Bảng 3), đến vị trí x của vùng HA1. Theo một số phương án, đoạn đầu tận cùng N của HA1 do đó gồm các axit amin từ vị trí p (trong đó $p=18$ đối với HA của H1 trong SEQ ID NO: 1 hoặc vị trí tương đương trên HA của các H1 khác), đến vị trí x của vùng HA1.

Theo một số phương án, đoạn polypeptit đầu tận cùng C của HA1 gồm các axit amin từ vị trí y đến và bao gồm cả axit amin đầu tận cùng C của vùng HA1 của H1, trong đó y là axit amin bất kỳ nằm giữa axit amin ở vị trí 290 và axit amin ở vị trí 325 của HA1 của H1, tốt hơn trong đó y là 291, 303, 318, hoặc 321.

Theo một số phương án, x là 52 và y là 321.

Theo sáng chế, polypeptit vùng gốc chứa một hoặc nhiều đột biến, tức là sự thay thế axit amin, trong vùng HA1 và/hoặc trong vùng HA2, so với trình tự axit amin của vùng HA1 và/hoặc HA2 của virus cúm kiểu đại tương ứng, tức là virus cúm mà polypeptit vùng gốc dựa trên.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều gốc axit amin gần vị trí phân cắt của HA0 (gốc 343 trong trình tự SEQ ID NO: 1) đã được gây đột biến. Theo một số phương án, một hoặc nhiều gốc axit amin ở vị trí 337, 340, 352, hoặc 353 của trình tự: 1, hoặc các vị trí tương đương trong các virus cúm khác, đã được gây đột biến, tức là được thế bằng axit amin mà không có trong vị trí tương đương trong trình tự axit amin của phân tử HA của virus cúm kiểu đại mà polypeptit vùng gốc dựa trên. Bảng 7 thể hiện sự biến đổi axit amin có trong tự nhiên.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 352 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 353 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 337 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa ít nhất một đột biến ở vị trí 340 của trình tự: 1, hoặc trên vị trí tương đương của virus cúm khác.

Theo một số phương án các polypeptit này chứa một hoặc nhiều đột biến như được thể hiện trong Bảng 1.

Theo một số phương án, gốc axit amin được gây đột biến ở vị trí 337 (vùng HA1) được chọn từ nhóm bao gồm I, E, K, V, A, và T.

Theo một số phương án, gốc axit amin được gây đột biến ở vị trí 340 (vùng HA1) được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, F, N, S và Y.

Theo một số phương án, gốc axit amin được gây đột biến ở vị trí 352 (vùng HA2) được chọn từ nhóm bao gồm D, V, Y, A, I, N, S, và T.

Theo một số phương án, gốc axit amin được gây đột biến ở vị trí 353 (vùng HA2) được chọn từ nhóm bao gồm K, R, T, E, G, và V.

Theo một số phương án, axit amin được gây đột biến đưa glycosyl N liên ứng ví dụ N-X-T/S (trong đó x là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên ngoại trừ P) vào trong trình tự như ví dụ trường hợp I340N trong SEQ ID NO: 6

Theo một số phương án, axit amin được gây đột biến là axit amin không có trong tự nhiên trong trình tự của cùng típ phụ.

Một lần nữa cần lưu ý rằng số lượng axit amin dựa trên số lượng axit amin trong HA của H10, cụ thể là số lượng axit amin của chủng virus cúm chủng A/Brisbane/59/2007 H1N1 (SEQ ID NO: 1). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có thể xác định các axit amin tương đương trong HA của virus cúm khác và do đó sẽ có thể xác định các đột biến tương đương, xem ví dụ Bảng 3 để biết sự sắp xếp và so sánh trình tự của các virus cúm H1 khác.

Theo một số phương án, trong vùng HA2 chứa một hoặc nhiều đột biến trong trình tự axit amin HA2 nối gốc đầu tận cùng C của chuỗi xoắn A với gốc đầu tận cùng N của chuỗi xoắn CD (hình vẽ 1). Trình tự axit amin HA2 của H1 nối gốc đầu tận cùng C của chuỗi xoắn A và gốc đầu tận cùng N của chuỗi xoắn CD gồm trình tự axit amin chứa các gốc 402-418 của HA của virus cúm (đánh số theo SEQ ID NO: 1), chứa trình tự axit amin MNTQFTAVGKEFN(H/K)LE(K/R) (SEQ ID NO: 8).

Theo một số phương án, trình tự axit amin nối gốc đầu tận cùng C của chuỗi xoắn A với gốc đầu tận cùng N của chuỗi xoắn CD, tức là vùng chứa gốc axit amin 402-418 của

HA của virus cúm của típ huyết thanh H1 (đánh số theo SEQ ID NO: 1) gồm trình tự axit amin

$X_1NTQX_2TAX_3GKEX_4N(H/K)X_5E(K/R)$ (SEQ ID NO: 52).

Theo một số phương án, các polypeptit này chứa một hoặc nhiều đột biến trong vùng HA2 của H1 như được thể hiện trong Bảng 1.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều axit amin ở vị trí 402, 406, 409, 413 và 416 (đánh số đề cập đến SEQ ID NO: 1), tức là, một hoặc nhiều axit amin X_1 , X_2 , X_3 , X_4 và X_5 đã được gây đột biến, tức là chứa axit amin không có ở các vị trí này trong virus cúm kiểu đại mà polypeptit vùng gốc dựa trên.

Theo một số phương án, axit amin được gây đột biến ở vị trí 402, tức là X_1 , là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm M, E, K, V, R và T.

Theo một số phương án, axit amin được gây đột biến ở vị trí 406, tức là X_2 , là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, T, H, L và Y, preferably I, L hoặc Y.

Theo một số phương án, axit amin được gây đột biến ở vị trí 409, tức là X_3 , là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm V, A, G, I, R, F và S, tốt hơn là A, I hoặc F.

Theo một số phương án, axit amin được gây đột biến ở vị trí 413, tức là X_4 , là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, E, K, M, và V, tốt hơn là I, Y, M hoặc V.

Theo một số phương án, axit amin được gây đột biến ở vị trí 416, tức là X_5 , là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm L, H, I, N, R, tốt hơn là I.

Cũng có thể là sự kết hợp của các đột biến này.

Theo một số phương án, đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1 gồm các gốc axit amin 1-52 của HA1, tốt hơn là các gốc axit amin 18-52 của HA1, và đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1 chứa các gốc axit amin 321-343 của HA1, trong đó axit amin ở vị trí 343, tức là R343, được làm đột biến và là axit amin không phải R, tốt hơn là glutamin (Q). Theo một số phương án, đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1 gồm các gốc axit amin 1-52 của HA1, tốt hơn là các gốc axit amin 18-52 của HA1, và đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1 gồm các gốc axit amin 321-343 của HA1.

Theo một số phương án, polypeptit liên kết có chọn lọc với kháng thể CR6261 và/hoặc CR9114. Theo một phương án, polypeptit không liên kết với kháng thể CR8057.

Theo một phương án, CR6261 chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 9 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của trình tự: 10; CR9114 chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 11 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của trình tự: 12. Theo một phương án, CR8057 chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 13 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của trình tự: 14.

Như được mô tả trên đây, polypeptit chứa vùng HA1 của hemagglutinin của virus cúm mà bao gồm đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1 được liên kết cộng hóa trị bằng trình tự nối gồm 0- 50 các gốc axit amin với đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1. Trình tự nối không có trong tự nhiên, hoặc kiểu đại, HA. Theo một số phương án, cầu nối là peptit mà bao gồm một gốc axit amin, hai gốc axit amin hoặc ít hơn, ba gốc axit amin hoặc ít hơn, bốn gốc axit amin hoặc ít hơn, năm gốc axit amin hoặc ít hơn, mười gốc axit amin hoặc ít hơn, 15 gốc axit amin hoặc ít hơn, hoặc 20 gốc axit amin hoặc ít hơn hoặc 30 gốc axit amin hoặc ít hơn hoặc 40 gốc axit amin hoặc ít hơn hoặc 50 gốc axit amin hoặc ít hơn. Theo phương án cụ thể, trình tự nối là trình tự được chọn từ nhóm bao gồm G, GS, GGG, GSG, GSA, GSGS, GSAG, GGGG, GSAGS, GSGSG, GSAGSA, GSAGSAG, và GSGSGSG.

Theo một số phương án, đoạn đầu tận cùng N của HA1 được liên kết trực tiếp với đoạn đầu tận cùng C của HA1, tức là các polypeptit này không chứa trình tự liên kết.

Theo sáng chế, việc loại bỏ vị trí cắt giữa HA1 và HA2 có thể đạt được bằng cách gây đột biến R (một số ít trường hợp là K) thành Q ở vị trí P1 (xem ví dụ Sun et al, 2010 để biết giải thích về danh pháp của vị trí cắt (vị trí 343 trong trình tự SEQ ID NO: 1). Gây đột biến thành Q được ưu tiên nhưng S, T, N, D hoặc E là các dạng thay thế.

Theo sáng chế, một hoặc nhiều cầu disulfit được đưa vào trong các polypeptit vùng gốc, tốt hơn là giữa các axit amin ở vị trí (hoặc tương đương) 324 và 436 của chủng A/Brisbane/59/2007 H1 (SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, các polypeptit này do đó còn chứa đột biến R324C trong vùng HA1 và T436C trong vùng HA2. Các vị trí tương đương có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực bằng cách sắp xếp và so sánh trình tự nhờ sử dụng thuật toán thích hợp như Clustal, Muscle etc. Cầu disulfit được thiết kế được tạo ra bằng cách gây đột biến ít nhất một (nếu gốc còn lại

là xystein rồi), nhưng thường là hai gốc gần nhau về không gian với xystein, mà sẽ tạo thành liên kết cộng hóa trị một cách tự phát hoặc bằng phản ứng oxi hóa hoạt hóa giữa các nguyên tử lưu huỳnh của các gốc này.

HA của virus cúm trong dạng tự nhiên của nó tồn tại dưới dạng trime trên màng tế bào hoặc virus. Theo một số phương án trình tự nội bào và xuyên màng được loại bỏ do đó polypeptit được tiết ra (hòa tan được) được sản sinh sau khi biểu hiện trong tế bào. Phương pháp để biểu hiện và tinh sạch các vùng ngoài của HA được tiết ra đã được mô tả (xem ví dụ Dopheide et al 2009; Ekiert et al 2009, 2011; Stevens et al 2004, 2006; Wilson et al 1981). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng các phương pháp này cũng có thể được áp dụng trực tiếp đối với polypeptit vùng gốc theo sáng chế để đạt được sự biểu hiện của polypeptit được tiết ra (hòa tan được). Do đó các polypeptit này cũng được bao hàm trong sáng chế.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa trình tự nội bào của HA và vùng xuyên màng. Theo các phương án khác, trình tự trong tế bào và xuyên màng, ví dụ trình tự axit amin từ vị trí (hoặc tương đương) 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 526, 528, 529, hoặc 530 của vùng HA2 đến đầu tận cùng C của vùng HA2 (đánh số theo SEQ ID NO: 1) đã được loại bỏ để tạo ra polypeptit hòa tan được sau khi biểu hiện trong tế bào.

Theo một số phương án, polypeptit hòa tan được theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách loại bỏ trình tự polypeptit từ gốc (tương đương) 514 đến đầu tận cùng C (đánh số theo SEQ ID NO: 1), Theo cách khác, các gốc bổ sung có thể được thêm vào polypeptit theo sáng chế, ví dụ bằng cách loại bỏ trình tự từ gốc 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523. Tùy ý, trình tự đuôi his (HHHHHH (SEQ ID NO: 20) hoặc HHHHHHH (SEQ ID NO: 21)) có thể được thêm vào, cho mục đích tinh chế, tùy ý được nối thông qua cầu nối. Tùy ý, cầu nối này có thể chứa vị trí phân cắt phân giải protein để loại bỏ nhờ enzym đuôi his sau khi tinh chế.

Theo một số phương án, polypeptit hòa tan được theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách loại bỏ trình tự polypeptit từ gốc (tương đương) 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531 hoặc 532 (đánh số theo SEQ ID NO: 1). Tùy ý, trình tự đuôi his (HHHHHH (SEQ ID NO: 20) hoặc HHHHHHH (SEQ ID NO: 21)) có thể được thêm vào, cho mục đích tinh

chế, tùy ý được nối thông qua cầu nối. Tùy ý, cầu nối có thể chứa vị trí cắt thủy phân protein để loại bỏ đuôi his sau khi tinh sạch.

Polypeptit hòa tan được có thể được làm ổn định hơn bằng cách đưa trình tự đã biết vào để tạo ra cấu trúc trime, như trình tự cuộn gấp (ví dụ như được mô tả ở đây). Các polypeptit thu được như được mô tả trên đây cũng được bao hàm trong sáng chế

HA tự nhiên tồn tại ở dạng trime trên bề mặt tế bào. Hầu hết tương tác nằm giữa các monome đơn mà giữ trime với nhau nằm ở vùng đầu trong khi sự trime hóa trong vùng gốc là do sự hình thành mô típ trime cuộn xoắn. Sau khi loại bỏ vùng đầu, cấu trúc bậc ba được khử ổn định và do đó các cải biến là cần thiết để làm tăng tính ổn định của protein. Bằng cách tăng cường xu hướng xoắn ốc của chuỗi xoắn CD, có thể tạo ra protein ổn định hơn. Theo một số phương án, trình tự MKQIEDKIEEIESKQ (SEQ ID NO: 5), có nguồn gốc từ GCN4 và còn được biết là để trime hóa được đưa vào ở (tương đương của) vị trí 419-433.

Theo một số phương án, các polypeptit này còn được làm ổn định hơn bằng cách đưa trình tự đã biết vào để tạo ra cấu trúc trime, tức là GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (SEQ ID NO: 3) at đầu tận cùng C của HA2, tùy ý được nối thông qua cầu nối. Cầu nối này có thể tùy ý chứa vị trí phân cắt để xử lý sau đó theo quy trình mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Để tạo thuận lợi cho quá trình tinh chế dạng hòa tan, có thể thêm vào trình tự đuôi, ví dụ đuôi his (HHHHHHH (SEQ ID NO: 20) hoặc HHHHHH (SEQ ID NO: 21)) hoặc đuôi FLAG (DYKDDDDK) (SEQ ID NO: 22) hoặc kết hợp các trình tự này, tùy ý được nối thông qua cầu nối ngắn. Cầu nối này có thể tùy ý chứa (một phần) vị trí phân cắt phân giải protein, ví dụ RSLVPR (SEQ ID NO: 23) (thrombin) hoặc IEGR (SEQ ID NO: 24) (Factor X) để xử lý sau đó theo quy trình chuẩn mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Các protein đã được xử lý cũng được bao hàm trong sáng chế.

Theo một số phương án, phần đầu tận cùng C của vùng HA2 từ vị trí 520-565 được loại bỏ (đánh số theo SEQ ID NO: 1) và thay bằng SGRDYKDDDDKLVPRGSPGSYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGHHHHH H (SEQ ID NO: 4).

Các tác giả sáng chế đã xác định trước đó các kháng thể trung hòa phổ rộng được phân lập từ tế bào B nguyên thủy của người từ những người đã được chủng ngừa, một vài trong số đó đặc hiệu đối với virus cúm nhóm 1 (ví dụ CR6261, như được mô tả trong WO 2008/028946) và một vài trong số đó đặc hiệu đối với virus cúm nhóm 2 (ví dụ CR8020 như được mô tả trong WO 2010/130636). Phân tích chi tiết các epitop của các kháng thể đơn dòng này đã cho thấy nguyên nhân của việc không có tính phản ứng chéo của các kháng thể đặc hiệu này. Trong cả hai trường hợp sự có mặt của các glycan trong các phân tử HA nhóm 1 và nhóm 2 ở các vị trí khác nhau ít nhất đã giải thích một phần rằng các kháng thể là đặc hiệu nhóm. Với việc nhận diện các kháng thể tương tự CR9114 mà phản ứng chéo với nhiều phân tử HA nhóm 1 và nhóm 2, như được mô tả dưới đây, đã rõ ràng rằng hệ miễn dịch của người có thể kích hoạt các kháng thể trung hòa phổ rộng kháng virus cúm. Tuy nhiên, nhu cầu được đưa ra đối với lịch chủng ngừa hàng năm các kháng thể này hầu như không hoặc chỉ được kích hoạt ở mức độ rất thấp sau khi nhiễm hoặc chủng ngừa bằng virus cúm (mùa) thuộc các típ phụ H1 và/hoặc H3.

Theo sáng chế các polypeptit được đề xuất bắt trước các epitop đặc hiệu của CR6261 và/hoặc CR9114, và do đó có thể được sử dụng làm các polypeptit gây miễn dịch, ví dụ để kích hoạt các kháng thể trung hòa chéo khi được sử dụng *in vivo*, riêng, hoặc kết hợp với các phép điều trị phòng bệnh và/hoặc chữa bệnh khác. Với “các kháng thể trung hòa chéo”, các kháng thể để chỉ rằng có khả năng trung hòa ít nhất là hai, tốt hơn ít nhất là ba, bốn, hoặc năm típ phụ khác nhau của virus cúm A thuộc nhóm phát sinh chủng loại 1, và/hoặc ít nhất là hai, tốt hơn ít nhất là ba, bốn, hoặc năm típ phụ khác nhau của virus cúm A thuộc nhóm phát sinh chủng loại 2, và/hoặc ít nhất là hai, típ phụ khác nhau của virus cúm B, cụ thể là ít nhất là tất cả các chủng virus mà được trung hòa bởi CR6261 và CR9114.

Polypeptit theo sáng chế không chứa HA1 chiều dài đủ. Theo một số phương án, các polypeptit gây miễn dịch hầu như nhỏ hơn HA0, tốt hơn không có toàn bộ hoặc hầu như toàn bộ vùng đầu hình cầu của HA. Tốt hơn, các polypeptit gây miễn dịch có chiều dài không nhiều hơn 360, tốt hơn là không nhiều hơn 350, 340, 330, 320, 310, 305, 300, 295, 290, 285, 280, 275, hoặc 270 axit amin. Theo một phương án, polypeptit gây miễn dịch có chiều dài từ 250 đến 350, tốt hơn là từ 260 đến 340, tốt hơn là từ 270 đến 330, tốt hơn là từ 270 đến 330 axit amin.

Theo một số phương án, polypeptit liên kết có chọn lọc với kháng thể CR6261 và/hoặc CR9114. Theo một số phương án, polypeptit không liên kết với kháng thể CR8057. CR6261 có vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của trình tự: 9 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của trình tự: 10; CR9114 chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 11 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của trình tự: 12; CR8020 có vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của trình tự: 17 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của trình tự: 18. CR8057 có vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của trình tự: 13 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin của trình tự: 14.

Như được mô tả trên đây, polypeptit chứa vùng HA1 của hemagglutinin của virus cúm mà bao gồm đoạn gốc đầu tận cùng N của HA1 được liên kết cộng hóa trị bằng trình tự nối gồm 0- 50 các gốc axit amin với đoạn gốc đầu tận cùng C của HA1. Trình tự liên kết, nếu có, không có trong tự nhiên, hoặc kiểu đại, HA. Theo một số phương án, cầu nối là peptit mà bao gồm một gốc axit amin, hai gốc axit amin hoặc ít hơn, ba gốc axit amin hoặc ít hơn, bốn gốc axit amin hoặc ít hơn, năm gốc axit amin hoặc ít hơn, mười gốc axit amin hoặc ít hơn, 15 gốc axit amin hoặc ít hơn, hoặc 20 gốc axit amin hoặc ít hơn hoặc 30 gốc axit amin hoặc ít hơn hoặc 40 gốc axit amin hoặc ít hơn hoặc 50 gốc axit amin hoặc ít hơn. Theo phương án cụ thể, trình tự nối là trình tự được chọn từ nhóm bao gồm G, GS, GGG, GSG, GSA, GSGS, GSAG, GGGG, GSAGS, GSGSG, GSAGSA, GSAGSAG, và GSGSGSG.

Theo một số phương án, các polypeptit này chứa trình tự axit amin:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSQGYAADQKSTQ
NAINGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYN
AELLVLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECM
ESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVSGRDYKDDDDKL VPRGSPGSGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGHHHHHH (SEQ ID NO: 53),

trong đó X₁ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, I, K, V, A, và T; X₂ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, F, N, S và Y;

X₃ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm D, F, V, Y, A, I, N, S, và T;

X₄ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, E, G và V;

X₅ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, K, M, V, R, và T;

X₆ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, H, và L;

X₇ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm A, G, I, R, T, V, F, và S;

X₈ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, G, E, K, M, và V; và

X₉ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm H, I, L, N, R, và S.

Theo một số phương án, các polypeptit này chứa trình tự axit amin:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHTSVNLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIAGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQ
NAINGITNKNVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYN
AELLVLENERLTDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECM
ESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDG (SEQ ID NO: 54),

trong đó X₁ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, I, K, V, A, và T; X₂ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, F, N, S và Y;

X₃ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm D, F, V, Y, A, I, N, S, và T;

X₄ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, E, G và V;

X₅ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, K, M, V, R, và T;

X₆ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, H, và L;

X₇ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm A, G, I, R, T, V, F, và S;

X₈ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, G, E, K, M, và V; và

X₉ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm H, I, L, N, R, và S.

Theo một số phương án, các polypeptit này chứa trình tự axit amin:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHTSVNLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIAGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQ
NAINGITNKNVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYN
AELLVLENERLTDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECM
ESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQIEG (SEQ ID NO: 70),

trong đó X₁ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, I, K, V, A, và T; X₂ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, F, N, S và Y;

X₃ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm D, F, V, Y, A, I, N, S, và T;

X₄ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, E, G và V;

X₅ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, K, M, V, R, và T;
 X₆ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, H, và L;
 X₇ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm A, G, I, R, T, V, F, và S;
 X₈ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, G, E, K, M và V; và
 X₉ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm H, I, L, N, R, và S.

Theo một số phương án, các polypeptit này chứa trình tự axit amin:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
 NX₁PSX₂QSQGLFGAIGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQ
 NAINGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYN
 AELLVLENERLTDFHDSNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECM
 ESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLG
 AISFWMCNGLSLQCRICI (SEQ ID NO: 71),

trong đó X₁ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, I, K, V, A, và T; X₂ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, F, N, S và Y;

X₃ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm D, F, V, Y, A, I, N, S, và T;

X₄ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, E, G và V;

X₅ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, K, M, V, R, và T;

X₆ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, H, và L;

X₇ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm A, G, I, R, T, V, F, và S;

X₈ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, G, E, K, M và V; và

X₉ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm H, I, L, N, R, và S.

Các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm này có thể được điều chế theo kỹ thuật bất kỳ được xem là phù hợp với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, bao gồm các kỹ thuật mô tả dưới đây.

Do đó, các polypeptit gây miễn dịch theo sáng chế có thể được tổng hợp dưới dạng trình tự ADN bằng các phương pháp chuẩn đã biết trong lĩnh vực và được tách dòng và sau đó được biểu hiện, *in vitro* hoặc *in vivo*, sử dụng enzym giới hạn và phương pháp phù hợp đã biết trong lĩnh vực. Do đó sáng chế cũng đề cập đến các phân tử axit nucleic mã hóa các polypeptit được mô tả trên đây. Sáng chế còn đề cập đến các vector chứa axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic theo sáng chế là một

phần của vector, ví dụ plasmid. Các vector này có thể được thao tác dễ dàng bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết, và có thể thể ví dụ được thiết kế để có khả năng sao chép trong tế bào nhân sơ và/hoặc tế bào nhân thật. Ngoài ra, nhiều vector có thể trực tiếp hoặc ở dạng phân đoạn mong muốn được phân lập từ đó được sử dụng để biến đổi tế bào nhân thật và sẽ tích hợp toàn bộ hoặc một phần trong bộ gen của các tế bào này, tạo ra tế bào chủ thích hợp chứa axit nucleic mong muốn trong bộ 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. Khi tế bào chủ được sử dụng, vector được ưu tiên là vector tích hợp. Theo cách khác, vector này có thể là vector sao chép thể bổ sung.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có khả năng lựa chọn các vector biểu hiện phù hợp, và chèn các trình tự axit nucleic theo sáng chế theo cách có chức năng. Để thu được sự biểu hiện của các trình tự axit nucleic mã hóa polypeptit, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết rằng các trình tự có khả năng điều khiển sự biểu hiện có thể được nối theo cách có chức năng với các trình tự axit nucleic mã hóa polypeptit, tạo thành các phân tử axit nucleic tái tổ hợp mã hóa protein hoặc polypeptit ở dạng biểu hiện được. Nhìn chung, trình tự trình tự khởi đầu phiên mã được đặt phía trước các trình tự cần được biểu hiện. Nhiều vật truyền biểu hiện có sẵn trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ hàng loạt vật truyền pcADN và pEF của hãng Invitrogen, pMSCV và pTK-Hyg của hãng BD Sciences, pCMV-Script của hãng Stratagene, v.v., có thể được sử dụng để thu được gen khởi đầu và/hoặc trình tự kết thúc phiên mã thích hợp, các trình tự polyA, và trình tự tương tự. Trong đó trình tự mã hóa polypeptit quan tâm được chèn vào thích hợp có dẫn đến các trình tự điều khiển quá trình phiên mã và dịch mã của polypeptit được mã hóa, cắt xét biểu hiện thu được có tác dụng sản sinh ra polypeptit quan tâm, được gọi là sự biểu hiện. Các trình tự điều khiển sự biểu hiện có thể bao gồm trình tự khởi đầu phiên mã, trình tự tăng cường và tương tự, và sự kết hợp của chúng. Các trình tự này có khả năng hoạt động trong tế bào chủ, qua đó điều khiển sự biểu hiện của các trình tự axit nucleic mà được nối theo cách có chức năng với chúng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nhận thấy rằng các trình tự khởi đầu phiên mã khác nhau có thể được sử dụng để thu được sự biểu hiện của gen trong tế bào 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. Sự biểu hiện

của các axit nucleic quan tâm có thể là từ trình tự khởi đầu phiên mã tự nhiên hoặc dẫn xuất của nó hoặc từ trình tự khởi đầu phiên mã hoàn toàn khác loài (Kaufman, 2000). Một số trình tự khởi đầu phiên mã đã biết và được sử dụng nhiều để biểu hiện trong tế bào nhân thật chứa các trình tự khởi đầu phiên mã có nguồn gốc từ virus, như adenovirus, ví dụ trình tự khởi đầu phiên mã của E1A, các trình tự khởi đầu phiên mã có nguồn gốc từ cytomegalovirus (CMV), như trình tự khởi đầu phiên mã từ CMV ngay ban đầu (immediate early-IE) (còn được gọi là trình tự khởi đầu phiên mã CMV) (có thể thu được chẳng hạn từ pcADN, Invitrogen), các trình tự khởi đầu phiên mã có nguồn gốc từ Virus Simian 40 (SV40) (Das et al, 1985), và tương tự. Các trình tự khởi đầu phiên mã thích hợp cũng có thể có nguồn gốc từ tế bào nhân thật, như các trình tự khởi đầu phiên mã methallothionein (MT), yếu tố kéo dài 1α (EF- 1α) trình tự khởi đầu phiên mã (Gill et al., 2001), trình tự khởi đầu phiên mã ubiquitin C hoặc UB6 (Gill et al., 2001), trình tự khởi đầu phiên mã actin, trình tự khởi đầu phiên mã globulin miễn dịch, các trình tự khởi đầu phiên mã sốc nhiệt, và tương tự. Thử nghiệm về chức năng và chiều dài của trình tự khởi đầu phiên mã là vấn đề thông thường đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, và nhìn chung có thể chẳng hạn bao gồm tách dòng gen thử nghiệm như lacZ, luxiferaza, GFP, etc. nằm sau trình tự trình tự khởi đầu phiên mã, và thử nghiệm về sự biểu hiện của gen thử nghiệm. Tất nhiên, các trình tự khởi đầu phiên mã có thể được làm thay đổi bằng cách loại bỏ, thêm, gây đột biến về trình tự trong đó, và được thử nghiệm về chức năng, để tìm ra các trình tự khởi đầu phiên mã mới, được làm yếu hoặc được cải thiện. Theo sáng chế, việc chọn lựa các trình tự khởi đầu phiên mã mạnh tạo ra mức độ phiên mã cao trong tế bào nhân thật được ưu tiên.

Các cấu trúc này có thể được chuyển nhiễm vào tế bào nhân thật (ví dụ tế bào thực vật, nấm, nấm men hoặc động vật) hoặc hệ biểu hiện nhân sơ phù hợp như *E. coli* bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Trong một số trường hợp trình tự “đuôi” thích hợp (ví dụ như, nhưng không chỉ giới hạn ở, đuôi his-, myc-, strep-, hoặc flag-) hoặc protein hoàn chỉnh (ví dụ như, nhưng không chỉ giới hạn ở, protein liên kết maltoza hoặc glutathion S transferaza) có thể được thêm vào các trình tự theo sáng chế để cho phép tinh chế và/hoặc nhận diện các polypeptit từ tế bào hoặc dịch nổi. Tùy ý, trình tự

chứa vị trí phân giải protein đặc hiệu có thể được bao gồm để sau đó loại bỏ đuôi bằng cách phân giải protein.

Các polypeptit tinh sạch có thể được phân tích bằng phương pháp quang phổ đã biết trong lĩnh vực (ví dụ phương pháp quang phổ lượng sắc vòng, phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier và phương pháp quang phổ NMR hoặc tinh thể học tia X) để kiểm tra sự có mặt của cấu trúc mong muốn như chuỗi cuộn xoắn và dải beta. ELISA, Octet và FACS và phương pháp tương tự có thể được sử dụng để kiểm tra liên kết của polypeptit theo sáng chế với các kháng thể trung hòa phổ rộng được mô tả trước (CR6261, CR9114, CR8057). Do đó, các polypeptit theo sáng chế có cấu hình chính xác có thể được chọn lọc.

Sáng chế còn đề cập đến các chế phẩm gây miễn dịch chứa lượng có hiệu quả điều trị bệnh của ít nhất một polypeptit và/hoặc các axit nucleic theo sáng chế. Theo một số phương án, chế phẩm chứa các polypeptit chứa vùng gốc hemagglutinin từ (hoặc dựa trên) HA của một típ phụ virus cúm, ví dụ dựa trên HA của virus cúm chứa HA của ví dụ típ phụ H1 hoặc H3. Theo một số phương án, chế phẩm chứa các polypeptit chứa vùng gốc hemagglutinin dựa trên HA của hai hoặc nhiều típ phụ virus cúm khác, ví dụ chế phẩm chứa cả polypeptit chứa vùng gốc hemagglutinin dựa trên HA thuộc típ phụ H1 và polypeptit chứa vùng gốc hemagglutinin dựa trên HA của típ phụ H3.

Tốt hơn, các chế phẩm gây miễn dịch còn chứa chất mang được dụng. Trong phạm vi của sáng chế, thuật ngữ "được dụng" có nghĩa là chất mang, với liều dùng và nồng độ được sử dụng, sẽ không gây ra các tác dụng không mong muốn hoặc có hại cho đối tượng dùng các chất mang này. 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 và 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]). Thuật ngữ "chất mang" chỉ chất pha loãng, chất bổ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc mà được sử dụng cùng với chế phẩm. Dung dịch nước muối và dung dịch nước dextroza và dung dịch glyxerol có thể ví dụ được sử dụng làm chất mang lỏng, cụ thể là làm các dung dịch tiêm được. Dạng bào chế chính xác cần phải phù hợp với đường sử dụng. Polypeptit và/hoặc các phân tử axit nucleic tốt hơn là được bào chế và sử dụng dưới dạng dung dịch vô trùng. Dung

dịch vô trùng được điều chế bằng cách lọc vô trùng hoặc bằng các phương pháp khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Dung dịch này sau đó có thể được làm đông khô hoặc được nạp vào các vật chứa phân liều được phẩm. Độ pH của dung dịch thường nằm trong khoảng pH 3,0 đến 9,5, ví dụ pH 5,0 đến 7,5.

Sáng chế còn đề cập đến polypeptit vùng gốc HA của virus cúm, các phân tử axit nucleic và/hoặc vật truyền như được mô tả trên đây được sử dụng để gây đáp ứng miễn dịch kháng lại protein HA của virus cúm. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp gây đáp ứng miễn dịch ở đối tượng, phương pháp này bao gồm sử dụng cho đối tượng, polypeptit, phân tử axit nucleic và/hoặc chế phẩm gây miễn dịch như được mô tả trên đây. Đối tượng theo sáng chế tốt hơn là động vật có vú mà có thể được gây nhiễm bằng tác nhân gây bệnh lây nhiễm, cụ thể là virus cúm, hoặc theo cách khác có thể có lợi từ việc gây đáp ứng miễn dịch, đối tượng này chẳng hạn là loài gặm nhấm, ví dụ chuột nhắt, chồn, hoặc vật nuôi trong nhà hoặc trang trại, hoặc động vật linh trưởng không phải người, hoặc người. Tốt hơn, đối tượng này là đối tượng người. Do đó sáng chế đề xuất các phương pháp gây đáp ứng miễn dịch đối với hemagglutinin (HA) của virus cúm, cụ thể là virus cúm A thuộc nhóm 1 và/hoặc nhóm 2, như virus cúm chứa HA thuộc típ phụ H1, H2, H3, H4, H5, H7 và/hoặc H10, và/hoặc của virus cúm B, ở đối tượng sử dụng polypeptit, các axit nucleic và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch được mô tả ở đây. Theo một số phương án, đáp ứng miễn dịch được gây ra có hiệu quả phòng ngừa và/hoặc điều trị nhiễm virus cúm do típ phụ của virus cúm A thuộc nhóm 1 và/hoặc nhóm 2 và/hoặc virus cúm B gây ra. Theo một số phương án, đáp ứng miễn dịch được gây ra bởi polypeptit, các axit nucleic và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch được mô tả ở đây có hiệu quả phòng ngừa và/hoặc điều trị nhiễm virus cúm A và/hoặc B gây ra bởi hai, ba, bốn, năm hoặc sáu típ phụ của virus cúm A và/hoặc B.

Bởi vì đã biết rằng các protein và/hoặc các phân tử axit nucleic nhỏ luôn luôn không gây ra một cách hiệu quả đáp ứng miễn dịch có hiệu lực, có thể cần thiết để làm tăng tính gây miễn dịch của polypeptit và/hoặc các phân tử axit nucleic bằng cách bổ sung tá dược. Theo một số phương án, các chế phẩm gây miễn dịch được mô tả ở đây chứa, hoặc được sử dụng kết hợp với, tá dược. Tá dược để sử dụng kết hợp với chế phẩm được mô tả ở đây có thể được sử dụng trước, đồng thời, hoặc sau khi sử dụng chế phẩm này. Ví dụ về tá dược phù hợp bao

gồm các muối nhôm như nhôm hydroxit và/hoặc nhôm phosphat; chế phẩm dầu-nhũ tương (hoặc chế phẩm dầu trong nước), bao gồm nhũ tương squalen-nước, như MF59 (xem ví dụ WO 90/14837); chế phẩm saponin, như ví dụ QS21 và phức hợp kích thích miễn dịch (ISCOMS) (xem ví dụ US 5,057,540; WO 90/03184, WO 96/11711, WO 2004/004762, WO 2005/002620); các chất dẫn xuất từ vi khuẩn hoặc vi sinh vật, ví dụ về các chất này là monophosphoryl lipit A (MPL), 3-O-deaxylat MPL (3dMPL), oligonucleotit chứa môtip CpG, độc tố vi khuẩn ADP-ribosyl hóa hoặc thể đột biến của nó, như độc tố trong ruột LT không bền nhiệt của *E. coli*, độc tố vi khuẩn tả CT, độc tố ho gà PT, hoặc độc tố uốn ván TT, M nền (Isconova). Ngoài ra, các kỹ thuật làm cho có khả năng miễn dịch đã biết có thể được sử dụng, như dung hợp polypeptit theo sáng chế với các protein đã biết trong lĩnh vực để tăng cường đáp ứng miễn dịch (ví dụ độc tố uốn ván, CRM197, rCTB, flagellin từ vi khuẩn hoặc các protein khác) hoặc bao gồm polypeptit trong virosom, hoặc kết hợp các kỹ thuật này. Các ví dụ không giới hạn khác có thể được sử dụng là các ví dụ được bộc lộ bởi Coffman et al. (2010).

Theo một phương án, các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm này theo sáng chế được kết hợp vào vectơ dạng hạt tương tự virus (VLP). VLP thường chứa (các) polypeptit của virus thông thường có nguồn gốc từ (các) polypeptit cấu trúc của virus. Tốt hơn, VLP không có khả năng sao chép. Theo một số phương án, VLP có thể không có bộ gen hoàn chỉnh của virus hoặc chứa một phần của bộ gen virus. Theo một số phương án, VLP không có khả năng gây nhiễm tế bào. Theo một số phương án, VLP biểu hiện trên bề mặt của chúng một hoặc nhiều gốc đích của virus (ví dụ, glycoprotein bề mặt của virus) hoặc không phải của virus (ví dụ, kháng thể hoặc protein) mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết.

Theo phương án cụ thể, polypeptit theo sáng chế được kết hợp vào virosom. Virosom chứa polypeptit theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Ví dụ, virosom có thể được tạo ra bằng cách phá vỡ virus tinh sạch, tách biệt bộ gen, và lắp ghép lại các hạt bằng các protein của virus (ví dụ, polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm) và lipit để tạo ra các hạt lipit chứa các protein của virus.

Sáng chế còn đề cập đến các polypeptit được mô tả trên đây, các axit nucleic và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch để gây đáp ứng miễn dịch ở đối tượng kháng HA của virus cúm, cụ thể là được sử dụng làm vaccin. Các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm này, các axit nucleic mã hóa các polypeptit này, hoặc các vectơ chứa các axit nucleic này hoặc các polypeptit được mô tả ở đây do đó có thể được sử dụng để kích hoạt các kháng thể trung hòa kháng virus cúm, ví dụ, kháng vùng gốc của virus cúm hemagglutinin. Cụ thể, sáng chế đề cập đến các polypeptit, các axit nucleic, và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch như được mô tả trên đây được sử dụng làm vaccin trong việc phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh lý gây ra bởi virus cúm A thuộc nhóm phát sinh chủng loại 1 và/hoặc nhóm phát sinh chủng loại 2 và/hoặc virus cúm B. Theo một phương án, vaccin có thể được sử dụng trong việc phòng ngừa và/hoặc điều trị các bệnh gây ra bởi hai, ba, bốn, năm, sáu hoặc nhiều hơn típ phụ khác nhau của nhóm phát sinh chủng loại 1 và/hoặc 2 và/hoặc virus cúm B. Polypeptit theo sáng chế có thể được sử dụng sau tổng hợp *in vitro* hoặc trong hệ biểu hiện tế bào thích hợp, bao gồm tế bào vi khuẩn và tế bào nhân thật, hoặc theo cách khác, có thể được biểu hiện *in vivo* ở đối tượng cần, bằng cách biểu hiện axit nucleic mã hóa polypeptit gây miễn dịch. Vaccin axit nucleic này có thể ở dạng bất kỳ, bao gồm và trần, plasmit, hoặc các vectơ virus bao gồm các vectơ adenovirus.

Việc sử dụng polypeptit, các phân tử axit nucleic, và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch theo sáng chế có thể được thực hiện bằng các đường sử dụng tiêu chuẩn. Các ví dụ không giới hạn bao gồm sử dụng ngoài đường tiêu hóa, như trong mạch, trong da, qua da, trong cơ, dưới da, v.v., hoặc sử dụng ở niêm mạc, ví dụ trong mũi, miệng và tương tự. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể xác định các khả năng khác nhau để sử dụng polypeptit, các phân tử axit nucleic, và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch theo sáng chế, để gây đáp ứng miễn dịch. Theo một số phương án, polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc chế phẩm gây miễn dịch (hoặc vaccin) được sử dụng nhiều hơn một lần, tức là trong phác đồ được gọi là khơi mào-thúc đẩy cùng loài. Theo một số phương án trong đó polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc chế phẩm gây miễn dịch được sử dụng nhiều hơn một lần, việc sử dụng liều thứ hai có thể được thực hiện sau một khoảng thời gian, ví dụ, một tuần hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, hai tuần hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, ba tuần hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, một tháng hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, sáu

tuần hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, hai tháng hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, 3 tháng hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, 4 tháng hoặc lâu hơn sau khi sử dụng liều thứ nhất, v.v., đến vài năm sau khi sử dụng liều thứ nhất của polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc chế phẩm gây miễn dịch. Cũng có thể sử dụng vacxin nhiều hơn hai lần, ví dụ ba lần, bốn lần, v.v., do đó việc sử dụng khơi mào đầu tiên được theo sau bởi nhiều hơn một lần sử dụng tăng cường. Theo các phương án khác, polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc chế phẩm gây miễn dịch theo sáng chế được sử dụng chỉ một lần.

Polypeptit, các phân tử axit nucleic, và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch cũng có thể được sử dụng, hoặc ở dạng khơi mào, hoặc ở dạng tăng cường, trong phác đồ khơi mào-tăng cường khác loài.

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh do virus cúm ở đối tượng sử dụng polypeptit, các axit nucleic và/hoặc các chế phẩm được mô tả ở đây. Theo phương án cụ thể, phương pháp phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh do virus cúm ở đối tượng bao gồm việc sử dụng cho đối tượng cần điều trị lượng có hiệu quả của polypeptit, axit nucleic và/hoặc chế phẩm gây miễn dịch, như được mô tả trên đây. Lượng có hiệu quả điều trị chỉ lượng polypeptit, axit nucleic, và/hoặc chế phẩm như được xác định ở đây, mà có hiệu quả phòng ngừa, làm thuyên giảm và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh lý bắt nguồn từ việc nhiễm virus cúm A nhóm 1 hoặc 2, và/hoặc virus cúm B. Phòng ngừa bao gồm việc làm ức chế hoặc làm giảm sự phát tán của virus cúm hoặc ức chế hoặc làm giảm sự khởi phát, phát triển hoặc tiến triển của một hoặc nhiều triệu chứng đi kèm với nhiễm virus cúm. Việc làm thuyên giảm như được sử dụng ở đây có thể chỉ việc làm thuyên giảm các triệu chứng bệnh nhìn thấy được hoặc quan sát được, sự xâm nhiễm và phát triển trong máu của virus (viremia), hoặc sự biểu hiện khác có thể đánh giá được của nhiễm virus cúm.

Những người cần điều trị bao gồm những người đã bị nhiễm có tình trạng bệnh lý do nhiễm virus cúm A nhóm 1 hoặc nhóm 2, hoặc virus cúm B, cũng như những người đã được phòng ngừa lây nhiễm virus cúm. Polypeptit, các axit nucleic và/hoặc các chế phẩm theo sáng chế do đó có thể được sử dụng cho đối tượng chưa từng phơi nhiễm, tức là, đối tượng không mắc bệnh gây ra bởi nhiễm virus cúm hoặc chưa từng và hiện nay không bị nhiễm virus cúm, hoặc cho đối tượng hiện nay đã và/hoặc đã từng nhiễm virus cúm.

Theo một phương án, phòng ngừa và/hoặc điều trị có thể hướng đến nhóm người bệnh dễ bị nhiễm virus cúm. Các nhóm người bệnh này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở ví dụ, người già (ví dụ ≥ 50 tuổi, ≥ 60 tuổi, và tốt hơn ≥ 65 tuổi), người trẻ (ví dụ ≤ 5 tuổi, ≤ 1 tuổi), người bệnh nằm viện và người bệnh đã từng được điều trị bằng hợp chất kháng virus nhưng có biểu hiện đáp ứng kháng virus không đầy đủ.

Theo phương án khác, polypeptit, các axit nucleic và/hoặc các chế phẩm gây miễn dịch có thể được sử dụng cho đối tượng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hoạt tính khác, như vaccin cúm hiện có hoặc trong tương lai, kháng thể đơn dòng và/hoặc tác nhân kháng virus, và/hoặc tác nhân kháng khuẩn, và/hoặc tác nhân điều biến miễn dịch. Một hoặc nhiều tác nhân hoạt tính khác có thể có lợi trong điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh do virus cúm hoặc có thể làm thuyên giảm triệu chứng hoặc tình trạng bệnh lý đi kèm với bệnh do virus cúm. Theo một số phương án, một hoặc nhiều tác nhân hoạt tính khác là thuốc giảm đau, thuốc chống sốt, hoặc các thuốc điều trị làm giảm hoặc hỗ trợ thở.

Chế độ liều dùng của polypeptit và/hoặc các phân tử axit nucleic theo sáng chế có thể được điều chỉnh để mang lại đáp ứng tối ưu mong muốn (ví dụ, đáp ứng điều trị bệnh). Khoảng liều dùng thích hợp có thể chẳng hạn là từ 0,1-100 mg/kg khối lượng cơ thể, tốt hơn là từ 1-50 mg/kg khối lượng cơ thể, tốt hơn là từ 0,5-15 mg/kg khối lượng cơ thể. Liều dùng chính xác của polypeptit và/hoặc các phân tử axit nucleic để được sử dụng sẽ ví dụ phụ thuộc vào đường sử dụng, và mức độ trầm trọng của tình trạng nhiễm hoặc bệnh gây ra bởi nhiễm virus, và phải được quyết định theo hướng dẫn của bác sĩ và tình trạng của đối tượng. Ví dụ, liều có hiệu quả phụ thuộc nhiều vào vị trí đích, trạng thái sinh lý của người bệnh (bao gồm độ tuổi, khối lượng cơ thể, sức khỏe), và việc điều trị là dự phòng hoặc chữa bệnh. Thông thường, người bệnh là người nhưng cũng có thể là động vật có vú không phải người bao gồm động vật có vú chuyển gen cũng có thể được sử dụng. Liều điều trị được chuẩn độ tối ưu để tối ưu hiệu lực và độ an toàn.

Polypeptit theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để xác nhận liên kết của kháng thể đơn dòng được xác định là ứng viên có tiềm năng chữa bệnh. Ngoài ra, polypeptit theo sáng chế có thể được sử dụng làm công cụ chẩn đoán, ví dụ để kiểm tra tình trạng miễn dịch của cá thể bằng cách chứng minh liệu có kháng thể trong huyết thanh của các thể này có khả năng liên kết với polypeptit theo sáng chế. Do đó, sáng chế còn đề xuất phương pháp chẩn đoán in

vitro để phát hiện sự có mặt của nhiễm virus cúm ở người bệnh, phương pháp này bao gồm các bước sau a) cho mẫu sinh học thu được từ người bệnh này tiếp xúc với polypeptit theo sáng chế; và b) phát hiện sự có mặt của phức hợp kháng thể-kháng nguyên.

Polypeptit theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để nhận diện các phân tử liên kết mới hoặc cải thiện các phân tử liên kết hiện có, như kháng thể đơn dòng và tác nhân kháng virus.

Sáng chế được minh họa cụ thể hơn bằng các ví dụ và hình vẽ sau đây. Các ví dụ không nhằm làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế theo cách bất kỳ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Các polypeptit trên cơ sở chế phẩm vùng gốc mới

PCT/EP2012/073706 bộc lộ các polypeptit vùng gốc hemagglutinin của virus cúm, chế phẩm và vacxin và phương pháp sử dụng chúng trong lĩnh vực phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh cúm. Ở đây, các tác giả mô tả các trình tự polypeptit vùng gốc khác có nguồn gốc từ HA chiều dài đủ của chủng A/Brisbane/59/2007 H1N1 (SEQ ID NO: 1). Polypeptit vùng gốc mới thu được bằng cách gây đột biến điểm định hướng H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4 (SEQ ID NO: 2) và trình diện epitop trung hòa virus phổ rộng của CR6261 (Throsby et al, 2009; Ekiert et al 2010) và/hoặc CR9114.

H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4 (SEQ ID NO: 2) có nguồn gốc từ HA chiều dài đủ của chủng A/Brisbane/59/2007 H1N1 (SEQ ID NO: 1) bằng cách thực hiện các bước sau:

1. Loại bỏ vị trí phân cắt trong HA0. Sự phân cắt HA kiểu đại ở vị trí này tạo ra HA1 và HA2. Có thể đạt được sự loại bỏ này bằng cách gây đột biến R đến Q ở vị trí P1 (xem ví dụ Sun et al, 2010 về việc giải thích danh pháp của vị trí phân cắt (vị trí 343 trong SEQ ID NO: 1).
2. Việc loại bỏ vùng đầu hình cầu bằng cách loại bỏ các axit amin từ 53 đến 320 từ SEQ ID NO; 1. Các phần còn lại đầu tận cùng N và đầu tận cùng C của trình tự này được nối bằng cầu nối linh hoạt gồm 4 gốc, GGGG.
3. Làm tăng độ hòa tan của vòng (giữa chuỗi cuộn xoắn A và chuỗi cuộn xoắn CD) được tạo thành bởi (trung ương của) các gốc 402 đến 418 trong chủng H1 A/Brisbane/59/2007 (SEQ ID NO: 1) Để vừa làm tăng độ ổn định của cấu trúc trước dung hợp và vừa khử ổn định cấu trúc sau dung hợp của HA được cải biến. Trong H1-

mini2-cụm1+5+6-GCN4 (SEQ ID NO: 2) các đột biến F406S, V409T, F413G và L416S (đánh số đề cập đến SEQ ID NO: 1) được đưa vào

4. Đưa vào cầu disulfit giữa axit amin ở vị trí 324 và 436 trong chủng A/Brisbane/59/2007 H1; điều này đạt được bằng cách đưa vào các đột biến R324C và Y436C. (đánh số đề cập đến SEQ ID NO: 1)
5. Đưa trình tự MKQIEDKIEEIESKQ (SEQ ID NO: 5) có nguồn gốc từ GCN4, được biết là dễ trime hóa, ở vị trí 419-433 (đánh số đề cập đến SEQ ID NO: 1).

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa trình tự nội bào của HA và vùng xuyên màng. Theo các phương án khác, trình tự vùng xuyên màng và vùng nội bào được loại bỏ từ vị trí (hoặc tương đương của nó, như được xác định từ việc so sánh trình tự) 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 526, 527, 528, 529, hoặc 530 của HA2 đến đầu tận cùng C của HA2 (đánh số theo SEQ ID NO: 1) do đó polypeptit (hòa tan được) được tiết ra được tạo ra sau khi biểu hiện trong tế bào. Polypeptit hòa tan được có thể được làm ổn định hơn bằng cách đưa trình tự đã biết để tạo ra cấu trúc trime, tức là trình tự cuộn gấp AYVRKDGEWVLL (SEQ ID NO: 3), tùy ý được nối thông qua cầu nối ngắn, như được mô tả trên đây. Cầu nối này có thể tùy ý chứa vị trí phân cắt để xử lý sau đó theo quy trình mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Để làm thuận lợi cho quá trình tinh chế và dò dạng hòa tan được, trình tự đuôi tùy ý có thể được thêm vào, ví dụ đuôi histidin (HHHHHHH (SEQ ID NO: 20) hoặc HHHHHH (SEQ ID NO: 21) hoặc đuôi FLAG (DYKDDDDK; SEQ ID NO: 22) hoặc kết hợp các đuôi này, tùy ý được nối thông qua các cầu nối ngắn. Cầu nối này có thể tùy ý chứa (một phần của) vị trí phân cắt phân giải protein, ví dụ LVPRGS (SEQ ID NO: 23) (thrombin) hoặc IEGR (SEQ ID NO: 24) (Yếu tố X) để xử lý sau đó theo quy trình đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Protein được xử lý cũng được bao hàm trong sáng chế.

Ví dụ về trình tự đầu tận cùng C kết hợp đuôi FLAG, vị trí cắt của thrombin, vùng cuộn gấp, và trình tự His là SEQ ID NO: 4 FLAG- thrombin-vùng cuộn gấp-His. Trình tự này được kết hợp với dạng hòa tan được của H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4 trình tự (SEQ ID NO: 2) tạo ra trình tự gốc (SEQ ID NO: 6) được sử dụng để tạo ra các polypeptit mới theo sáng chế bằng phương pháp gây đột biến. Trình tự này không chứa trình tự dẫn đầu tương ứng với các axit amin từ 1-17 của trình tự: 1 và 2.

Các polypeptit vùng gốc được tạo ra bằng cách loại bỏ một phần của trình tự hemagglutinin mã hóa vùng đầu của phân tử và nối lại các phần đầu tận cùng N và đầu tận cùng C của trình tự về phía cắt thông qua cầu nối như được mô tả trong PCT/2012/073706 và trên đây. Việc loại bỏ vùng đầu hình cầu để lại phần phân tử mà trước đó được che chắn từ dung môi chứa nước được để lộ, có khả năng khử ổn định cấu trúc polypeptit theo sáng chế. Vì lý do này, các gốc trong vòng B (cụ thể là gốc axit amin 406 (F và S trong SEQ ID NO: 1 và 2, tương ứng), 409 (V và T) 413 (F và G) và 416 (L và S) được gây đột biến trong nhiều dạng kết hợp khác nhau nhờ sử dụng trình tự gốc SEQ ID NO: 6 là điểm bắt đầu. SEQ ID NO: 6 được tạo ra từ H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4 (SEQ ID NO: 2) bằng cách loại bỏ trình tự dẫn đầu, và thay thế các gốc 520-565 bằng trình tự Flag-thrombin-vùng cuộn gấp--his (SEQ ID NO: 4).

Tương tự, trong vùng xung quanh peptit dung hợp, một số gốc kỵ nước được tiếp xúc với dung môi, do thực tế là, không giống như HA nguyên thể chiều dài đủ, polypeptit theo sáng chế không thể được phân cắt và trải qua biến đổi cấu hình liên quan mà che giấu peptit dung hợp kỵ nước bên trong protein. Để giải quyết vấn đề này, một số hoặc tất cả các gốc I337, I340, F352 và I353 trong SEQ ID NO: 2 đều được gây đột biến.

Chuỗi xoắn A của HA là một phần quan trọng của epitop của các epitop trung hòa phổ rộng CR6261, CR9114 và FI6.v3. Gốc axit amin M402 (đánh số đề cập đến SEQ ID NO: 1) nằm ở đầu tận cùng C của chuỗi xoắn này, và để làm ổn định hơn nữa cấu trúc xoắn ốc, gốc này cũng là mục tiêu để tạo các polypeptit mới theo sáng chế. Hai tập hợp khác nhau gồm các polypeptit đột biến được bộc lộ trong Bảng 1.

Bảng 1: Các đột biến được tạo ra trong SEQ ID NO: 6. Các axit amin tương ứng trong SEQ ID NO: 1 (chiều dài đủ, với HA) và SEQ ID NO: 6 cũng được thể hiện.

Tập Hợp 1

Vị trí	Gốc		Axit amin được đưa vào
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 6	
337	I	I	E, I, K, V
340	I	I	I, K, R, T
352	F	F	D, F, V, Y
353	I	I	I, K, R, T
402	M	M	E, K, M, V
406	F	S	F, I, N, T, Y, S

409	V	T	A, G, I, R, T, V
413	F	G	F, I, N, S, T, Y, G
416	L	S	H, I, L, N, R, S

Tập hợp 2

Vị trí	Gốc		Axit amin được đưa vào
	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 6	
337	I	I	A, E, I, K, T, V
340	I	I	F, I, N, S, T, Y
352	F	F	A, D, F, I, N, S, T, V, Y
353	I	I	E, G, I, K, R, V
402	M	M	M, R, T
406	F	S	F, H, L, Y,
409	V	T	F, I, S, T
413	F	G	E, K, M, V
416	L	S	I, L, R, S

Ví dụ 2. Thăm dò sự biểu hiện của polypeptit và liên kết với kháng thể trung hòa phổ rộng

Các trình tự ADN mã hóa polypeptit theo sáng chế được biến nạp vào *Pichia pastoris* hoặc được chuyển nhiễm vào tế bào HEK293F nhờ sử dụng quy trình đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Các cấu trúc được sử dụng để biểu hiện trong tế bào động vật có vú chứa trình tự dẫn đầu HA (gốc 1-17 trong SEQ ID NO: 1 và 2), trong khi trong các cấu trúc được sử dụng để biểu hiện trong *P. Pastoris*, trình tự dẫn đầu HA được thay thế bằng trình tự dẫn đầu yếu tố alpha của nấm men (SEQ ID NO: 7). Theo cách này, protein được biểu hiện hướng tới môi trường nuôi cấy tế bào do đó cho phép liên kết và biểu hiện được xác định mà không cần tinh chế polypeptit theo sáng chế thêm. Tất cả các trình tự chứa FLAG-vùng cuộn gấp-trình tự HIS đầu tận cùng C (SEQ ID NO: 4).

Kháng thể đơn dòng (CR6261, CR9114, CR8020) liên kết với các polypeptit theo sáng chế được xác định bằng ELISA. Để đạt được mục đích này, các đĩa ELISA được xử lý qua đêm bằng dung dịch kháng thể đơn dòng 2 µg/ml (20 µl/lỗ) ở 4 °C. Sau khi loại bỏ dung dịch kháng thể, bề mặt còn lại được phong bế bằng dung dịch bột sữa khô tách béo 4% trong PBS trong ít nhất 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi rửa các đĩa này, 20 µl môi trường nuôi cấy (nguyên chất hoặc được pha loãng) được bổ sung vào mỗi lỗ và được ủ trong ít nhất 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các đĩa ELISA sau đó được rửa và 20 µl dung dịch kháng thể kháng-FLAG-HRP (Sigma A8952, được pha loãng 2000 lần trong sữa bột

tách béo 4% trong PBS-Tween) được bổ sung. Sau khi ủ (1 tiếng ở nhiệt độ trong phòng) rửa đĩa một lần nữa, và 20 μ l cơ chất phát quang (Thermoscientific C#34078) được bổ sung vào để phát tín hiệu. Theo cách khác, phương pháp thăm dò so màu có thể được sử dụng để phát tín hiệu.

Sự biểu hiện của các polypeptit theo sáng chế được xác định từ thử nghiệm huỳnh quang phân giải theo thời gian đồng nhất (để biết mô tả tổng quan, xem ví dụ Degorce et al., Curr. Chem. Genomics 2009 3: 22-32). Để thực hiện phương pháp này, hỗn hợp gồm kháng thể đơn dòng kháng-FLAG được đánh dấu bằng Terbium (Tb) (chất cho) và kháng thể đơn dòng kháng-His được đánh dấu bằng Alexa488 (chất nhận) (dung dịch HTRF) được điều chế bằng cách bổ sung 210,5 μ l kháng-FLAG-TB (dung dịch gốc 26 μ g/ml) và 1,68 ml kháng-HIS-488 (dung dịch gốc 50 μ g/ml) vào 80 ml hỗn hợp có tỷ lệ 1 : 1 gồm môi trường nuôi cấy và 50 mM HEPES + 0,1% BSA. 19 μ l dung dịch HTRF được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa ELISA và 1 μ l môi trường nuôi cấy được bổ sung. Khi kích thích và sau khi làm chậm để cho phép gây nhiễu tín hiệu nền sống ngắn phát ra từ các hợp chất khác (protein, các thành phần môi trường, v.v.) để phân rã, tỷ số phát huỳnh quang ở bước sóng 520 và 665nm được xác định. Đây là phép đo hàm lượng protein tổng số trong mẫu và được sử dụng để chuẩn hóa các tín hiệu liên kết với mAb giữa các thử nghiệm khác nhau.

Polypeptit theo sáng chế được nêu trong Bảng 4 và 5 được biểu hiện trong P.Pastoris theo quy trình đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Môi trường nuôi cấy được thu gom và liên kết với CR6261 và sự biểu hiện của các polypeptit vùng gốc được xác định như được mô tả trên đây. Bởi vì đáp ứng trong quy mô thử nghiệm liên kết với nồng độ của protein được biểu hiện, tín hiệu liên kết ELISA được chuẩn hóa đối với sự biểu hiện của protein bằng cách so sánh tỷ lệ tín hiệu liên kết so với tín hiệu trong thử nghiệm HTRF đối với mỗi trình tự được biểu hiện. Tất cả protein được biểu hiện thể hiện tỷ lệ của CR626 liên kết với tín hiệu HTRF cao hơn so với trình tự gốc của trình tự: 6.

Polypeptit theo sáng chế được nêu trong Bảng 6 được biểu hiện trong tế bào HEK293F theo quy trình đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Môi trường nuôi cấy được thu gom và liên kết với CR6261 và sự biểu hiện của các polypeptit vùng gốc được xác định như được mô tả trên đây. Tỷ số giữa liên kết CR6261 với các tín hiệu HTRF được tính và so sánh với tỷ số tính được đối với trình tự gốc SEQ

ID NO: 6. Các kết quả được nêu trong Bảng 6; tất cả protein được biểu hiện thể hiện tỷ số cao hơn, chứng tỏ rằng polypeptit vùng gốc theo sáng chế thể hiện tăng liên kết của CR6261.

Ví dụ 3. Tinh chế và xác định đặc tính của các polypeptit theo sáng chế

Để xác định đặc tính khác của các polypeptit theo sáng chế, các chất gây miễn dịch 127H1 (SEQ ID NO: 55), 86B4 (SEQ ID NO: 56), 74H9 (SEQ ID NO: 57), 6E12 (SEQ ID NO: 58) và 55G7 (SEQ ID NO: 59) được nuôi cấy và tinh chế đến mức đồng nhất. Để thu được chế phẩm có độ tinh khiết cao của polypeptit theo sáng chế, tế bào HEK293F được chuyển nhiễm với vật truyền biểu hiện pcDNA2004 chứa gen mã hóa các dạng hòa tan được của 127H1 (SEQ ID NO: 55), 86B4 (SEQ ID NO: 56), 74H9 (SEQ ID NO: 57), 6E12 (SEQ ID NO: 58) và 55G7 (SEQ ID NO: 59). Dạng hòa tan được được tạo ra trong trường hợp này bằng cách thay thế gốc 519-565 (đánh số đề cập đến SEQ ID NO: 1) bằng trình tự RSLVPRGSPGHHHHHH (SEQ ID NO: 69). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực cần phải hiểu rằng trình tự dẫn đầu (hoặc trình tự tín hiệu) mà điều khiển sự vận chuyển protein trong quá trình sản sinh (tương ứng với axit amin 1-17 của trình tự SEQ ID NO: 1) sẽ không có mặt trong polypeptit cuối cùng được tiết ra. Trình tự axit amin của protein tiết ra hòa tan được được nêu trong SEQ ID NO: 65 đến 69.

Để tạo ra polypeptit theo sáng chế $1,0 \times 10^6$ vc/mL được tạo hạt bằng cách quay xoáy xuống tế bào HEK293F (Invitrogen) ở tốc độ 300g trong 5 phút và tạo huyền phù lại trong 300mL môi trường Freestyle™ đã được làm ấm trước mỗi bình SF1000. Dịch nuôi cấy này được ủ trong 1 giờ ở 37 °C, 10% CO₂ ở tốc độ 110 rpm trong thiết bị ủ multitron. Sau 1 giờ, và plasmit được hút nhỏ giọt bằng pipet vào 9,9 mL môi trường Optimem để nồng độ đạt 1,0 µg/mL trong 300 mL thể tích dịch nuôi cấy. Song song, 440 µL 293fectin® được hút bằng pipet trong 9,9 mL môi trường Optimem và ủ trong 5 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau 5 phút, hỗn hợp ADN plasmit/Optimem được bổ sung vào hỗn hợp 293fectin®/Optimem và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút. Sau khi ủ, hỗn hợp ADN plasmit/293fectin® được bổ sung nhỏ giọt vào huyền phù tế bào. Dịch nuôi cấy được chuyển nhiễm được ủ ở 37 °C, 10% CO₂ và 110 rpm trong thiết bị ủ multitron. Vào ngày 7 tế bào được tách ra từ môi trường nuôi cấy bằng cách ly tâm (30 phút ở tốc độ 3000 g),

trong khi đó dịch nổi chứa polypeptit hòa tan được theo sáng chế được lọc trên màng lọc kích thước 0,2 μm miệng chai để xử lý tiếp theo.

Cho mục đích tinh chế, ca 1400 ml dịch nổi nuôi cấy từ tế bào được chuyển nhiễm gen mã hóa dạng hòa tan (như được mô tả trên đây) các polypeptit theo sáng chế 127H1 (SEQ ID NO: 55), 86B4 (SEQ ID NO: 56), 74H9 (SEQ ID NO: 57), 6E12 (SEQ ID NO: 58) hoặc 55G7 (SEQ ID NO: 59) được nạp lên cột 24 ml Ni Sepharosa HP, được cân bằng trước trong dung dịch đệm rửa (20 mM TRIS, 500 mM NaCl, pH 7,8). Sau bước rửa bằng 10 mM Imidaze trong dung dịch đệm rửa, các polypeptit được liên kết theo sáng chế được rửa giải bằng gradien từng bước của imidazol 300 mM trong dung dịch đệm rửa. Các đỉnh rửa giải được thu lại, trao đổi đệm, cô đặc, và nạp lên cột loại trừ theo kích thước để tinh chế thêm (Superdex 200). Các phân đoạn được thu gom trong quá trình rửa giải và được phân tích hàm lượng protein bằng phương pháp SDS-PAGE và Western Blot (sử dụng kháng thể đơn dòng đặc hiệu đuôi histidin). Các phân đoạn chứa các polypeptit tinh sạch theo sáng chế được thu gom và sử dụng cho các phân tích sau. Độ tinh khiết được xác định bằng phương pháp sắc ký loại trừ theo kích thước và đạt trên 90% trong tất cả các trường hợp. Đặc trưng của quy trình tinh chế được nêu trong Bảng 8.

Để phân tích phản ứng liên kết giữa các polypeptit theo sáng chế và để xác nhận sự có mặt của các epitop cấu trúc của CR6261 và CR9114, phức hợp của các kháng thể này với protein tinh sạch được nghiên cứu bằng phương pháp giao thoa lớp sinh học (Octet Red³⁸⁴, Forte Bio). Để đạt được mục đích này, CR6261, CR9114 được biotinyl hóa được cố định trên bộ cảm biến được phủ streptavidin, sau đó được cho tiếp xúc đầu tiên với dung dịch chứa polypeptit tinh sạch theo sáng chế để đo tỷ lệ liên kết và sau đó với dung dịch rửa để đo tỷ lệ phân ly. Cả CR6261 và CR9114 được cố định đều nhận ra polypeptit theo sáng chế như được chứng minh bằng đáp ứng rõ ràng sau khi tiếp xúc với dạng hòa tan được của các polypeptit theo sáng chế. Để đánh giá hệ số phân ly đối với tương tác liên kết, tiến hành chuẩn độ nhờ sử dụng dãy pha loãng 2 lần. Bộ cảm biến chứa CR6261 được cố định được cho tiếp xúc với các dung dịch chứa các polypeptit hòa tan theo sáng chế ở các nồng độ 750, 375, 163, 81, 40, 20 và 10 nM, tương ứng, ngoại trừ trường hợp s55G7 tinh sạch (SEQ ID NO: 68) trong đó khoảng nồng độ là 2000, 1000, 500, 250, 125, 63 và 31 nM được sử dụng. Tương tự, bộ cảm biến chứa CR9114 được cố định được cho tiếp xúc với

các dung dịch chứa các polypeptit hòa tan theo sáng chế ở các nồng độ 300, 150, 75, 38, 19, 9 và 5 nM, tương ứng. Trong tất cả các trường hợp, đáp ứng cuối cùng sau 4000 giây được ghi lại, lập sơ đồ dưới dạng hàm số của nồng độ polypeptit, và phù hợp với trạng thái ổn định, mô hình liên kết 1:1 được thực hiện để tính hệ số phân ly bề ngoài K_d (xem hình vẽ 2A đến E). Các trị số được xác định theo cách này được nêu trong Bảng 8.

Liên kết giữa các polypeptit theo sáng chế s127H1 (SEQ ID NO: 66), s86B4 (SEQ ID NO: 67), s74H9 (SEQ ID NO: 65), s6E12 (SEQ ID NO: 69) và s55G7 (SEQ ID NO: 68) và các phân đoạn Fab của CR6261, CR9114 và là đối chứng CR8020 được nghiên cứu bằng phương pháp phân tích sắc ký loại trừ theo kích thước kết hợp với tán xạ ánh sáng đa góc (SEC-MALS). Kỹ thuật này cho phép việc tách và ước tính đồng thời kích thước phân tử đối với các loại và/hoặc các phức phân tử khác nhau. Các kết quả được thể hiện trên hình vẽ 3A đến E, và tổng kết trong Bảng 9. Dữ liệu này chứng minh rằng polypeptit theo sáng chế là monome và tạo phức tỷ lệ 1:1 với các đoạn Fab của CR6261 và CR9114, nhưng không tạo phức với CR8020. Điều này phù hợp với tính đặc hiệu của phản ứng liên kết của các đoạn Fab, bởi vì CR6261 và CR9114 liên kết với nhóm 1 có nguồn gốc từ HA, trong khi đó CR8020 thì không.

Kết luận, các tác giả sáng chế đã thể hiện rằng các dạng hòa tan được của các polypeptit theo sáng chế 127H1 (SEQ ID NO: 55), 86B4 (SEQ ID NO: 56), 74H9 (SEQ ID NO: 57), 6E12 (SEQ ID NO: 581) và 55G7 (SEQ ID NO: 59) có thể được tạo ra và được tinh chế đến mức độ đồng nhất. Các polypeptit tinh sạch hòa tan theo sáng chế có khả năng liên kết với các kháng thể đơn dòng trung hòa phổ rộng CR6261 và CR9114 với ái lực cao, xác nhận sự có mặt của epitop trung hòa tương ứng trong các polypeptit vùng gốc này. Ví dụ 4. Đánh giá hiệu quả bảo vệ của các polypeptit theo sáng chế trong mô hình thử thách gây chết bằng virus cúm

Để đánh giá hiệu quả bảo vệ của các polypeptit theo sáng chế trong mô hình thử thách gây chết bằng virus cúm, nhóm gồm 10 con chuột cái BALB/c (6-8 tuần tuổi) được gây miễn dịch 3 lần với khoảng cách thời gian 3 tuần bằng 30 μ g s86B4 tinh sạch (SEQ ID NO: 67) và s74H9 (SEQ ID NO: 65) cùng tá dược là 10 μ g Matrix-M. CR6261 (15mg/kg) được dùng qua đường trong cơ làm đối chứng dương cho mô hình thử thách này. Một ngày trước khi thử thách, việc gây miễn dịch trắng bằng PBS dùng làm đối chứng âm. Bốn tuần

sau lần gây miễn dịch sau cùng, các con chuột được thử thách bằng 25xLD50 virus thử thách khác loài (H1N1 A/NL/602/09) và được theo dõi hàng ngày (sống sót, cân nặng, điểm lâm sàng) trong thời gian 3 tuần. Huyết thanh trước khi thử thách được kiểm tra trong thử nghiệm ELISA về liên kết với polypeptit theo sáng chế được sử dụng để gây miễn dịch (để xác nhận việc gây miễn dịch đúng), liên kết với dạng hòa tan của HA chiều dài đủ của A/Brisbane/59/07 H1N1 và cạnh tranh liên kết với HA chiều dài đủ kháng thể trung hòa phổ rộng kháng thể đơn dòng CR9114 (để xác định liệu các kháng thể được gây cảm ứng có liên kết ở vị trí lân cận gần với epitop của CR9114 trung hòa phổ rộng). Các kết quả được thể hiện trên Hình vẽ 4A và B.

Các kết quả thể hiện rằng thử nghiệm này là có căn cứ bởi vì tất cả các con chuột trong nhóm đối chứng dùng PBS chết do nhiễm virus vào hoặc trước ngày 8 sau thử thách, trong khi đó, nhóm đối chứng dương (15mg/kg CR6261, 1 ngày trước thử thách) được bảo vệ hoàn toàn. Trái ngược với các con chuột được xử lý bằng PBS, 4 trong số 10 con chuột được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế s86B4 (SEQ ID NO: 67) hoặc s74H9 (SEQ ID NO: 65) sống sót sau thử thách gây chết. Điều này dẫn đến tăng thời gian sống sót và giảm điểm số lâm sàng đối với nhóm được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế so với nhóm đối chứng dùng PBS.

Dữ liệu ELISA (xem Hình vẽ 4B) sử dụng kháng nguyên cùng nguồn gốc (tức là hoặc s86B4 hoặc s74H9) hoặc HA chiều dài đủ giống kháng nguyên cho thấy rằng cả hai polypeptit theo sáng chế s74H9 và s86B4 đều gây miễn dịch và cảm ứng các kháng thể có khả năng nhận diện HA chiều dài đủ.

Để tìm hiểu thêm về đáp ứng miễn dịch đối với việc gây miễn dịch, tiến hành thử nghiệm ELISA liên kết cạnh tranh. Để đạt được mục đích này, HA chiều dài đủ được gắn trên đĩa được ủ với các mẫu huyết thanh được pha loãng theo dãy, sau đó bổ sung CR9114-biotin ở nồng độ xác định trước vào. Sau khi ủ thêm, đo lượng CR9114-biotin liên kết. Phân tích dữ liệu nhờ sử dụng using phương pháp hồi quy tuyến tính OD với loga độ pha loãng, được biểu thị dưới dạng 'đường dốc OD' (ΔOD /độ pha loãng 10 lần). Dữ liệu thể hiện rằng các kháng thể có khả năng cạnh tranh liên kết với kháng thể trung hòa phổ rộng CR9114 được gây cảm ứng bằng cách gây miễn dịch bằng các polypeptit theo sáng chế. Để so sánh, mức độ được gây cảm ứng bằng CR9114 không được đánh dấu (tức là sự tự cạnh tranh) và

kháng thể đơn dòng không liên kết CR8020, cả hai được pha loãng theo dãy từ 5 µg/ml nồng độ đầu tiên được thể hiện trong một đồ thị riêng.

Kết luận là, dữ liệu này thể hiện rằng việc gây miễn dịch bằng các polypeptit theo sáng chế s86B4 (SEQ ID NO: 67) hoặc s74H9 (SEQ ID NO: 65) có thể bảo vệ các con chuột kháng lại việc nhiễm virus cúm gây chết. Cả hai polypeptit đều gây miễn dịch, cảm ứng các kháng thể mà có thể liên kết với HA chiều dài đủ và ít nhất một phần của các kháng thể này liên kết vào, hoặc gắn vào, epitop trung hòa phổ rộng của kháng thể đơn dòng CR9114.

Ví dụ 5. Đánh giá hiệu quả bảo vệ của polypeptit khác theo sáng chế trong mô hình thử thách gây chết bằng virus cúm

Để đánh giá hiệu quả bảo vệ của polypeptit khác theo sáng chế s127H1 (SEQ ID NO: 66) trong mô hình thử thách gây chết bằng virus cúm, nhóm gồm 10 con chuột cái BALB/c (6-8 tuần tuổi) được gây miễn dịch 3 lần với khoảng cách thời gian 3 tuần bằng 10 µg s127H1 tinh sạch với tá dược 10 µg Matrix-M. Làm đối chứng dương cho mô hình thử thách này, kháng thể trung hòa phổ rộng kháng thể đơn dòng CR6261 (15 mg/kg) được sử dụng qua đường trong cơ. 1 ngày trước khi thử thách, đồng thời gây miễn dịch bằng PBS để làm đối chứng âm. Bốn tuần sau lần gây miễn dịch sau cùng, các con chuột được thử thách bằng 25xLD₅₀ virus thử thách khác loài (H1N1 A/Puerto Rico/8/34) và theo dõi hàng ngày (sống sót, cân nặng, điểm lâm sàng) trong 3 tuần. Huyết thanh trước khi thử thách được kiểm tra trong thử nghiệm ELISA về liên kết với polypeptit theo sáng chế s127H1 mà được sử dụng để gây đáp ứng miễn dịch (để xác nhận việc gây miễn dịch đúng), liên kết với HA chiều dài đủ hòa tan được của A/Brisbane/59/07 H1N1 và cạnh tranh liên kết với HA chiều dài đủ với kháng thể trung hòa phổ rộng kháng thể đơn dòng CR9114 (để xác định liệu các kháng thể được gây cảm ứng có liên kết vào, gắn vào epitop trung hòa phổ rộng CR9114). Các kết quả được thể hiện trên Hình vẽ 5A và B.

Các kết quả thể hiện rằng thử nghiệm này là có căn cứ bởi vì tất cả các con chuột trong nhóm đối chứng dùng PBS chết do nhiễm virus vào ngày 7 sau thử thách, trong khi đó, nhóm đối chứng dương (15mg/kg CR6261, 1 ngày trước thử thách) được bảo vệ hoàn toàn. Trái ngược với các con chuột được xử lý bằng PBS, 7 trong số 10 con chuột được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế s127H1 (SEQ ID NO: 66) sống sót sau thử

thách gây chết. Điều này dẫn đến tăng tỷ lệ sống sót, tăng thời gian sống sót và giảm điểm số lâm sàng đối với nhóm được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế s127H1 so với nhóm đối chứng dùng PBS.

Dữ liệu ELISA sử dụng s127H1 hoặc HA chiều dài đủ hòa tan được giống kháng nguyên cho thấy rằng polypeptit theo sáng chế s127H1 gây miễn dịch và cảm ứng các kháng thể có khả năng nhận diện HA chiều dài đủ (xem hình vẽ 5B). Để tìm hiểu thêm về đáp ứng miễn dịch đối với việc gây miễn dịch, tiến hành thử nghiệm ELISA liên kết cạnh tranh. Để đạt được mục đích này, HA chiều dài đủ được gắn trên đĩa được ủ với các mẫu huyết thanh được pha loãng theo dãy, sau đó bổ sung CR9114-biotin ở nồng độ xác định trước vào. Sau khi ủ thêm, đo lượng CR9114-biotin liên kết nhờ sử dụng peroxidase củ cải ngựa liên hợp với streptavin theo quy trình đã biết trong lĩnh vực này. Phân tích dữ liệu nhờ sử dụng using phương pháp hồi quy tuyến tính OD với loga độ pha loãng, được biểu thị dưới dạng ‘đường dốc OD’ (ΔOD /độ pha loãng 10 lần). Dữ liệu thể hiện rằng các kháng thể có khả năng cạnh tranh liên kết với kháng thể trung hòa phổ rộng CR9114 được gây cảm ứng bằng cách gây miễn dịch bằng các polypeptit theo sáng chế, như được thể hiện bởi mức độ cạnh tranh gia tăng quan sát được trên hình vẽ 5B. Để so sánh, mức độ được gây cảm ứng bằng CR9114 không được đánh dấu (tức là sự tự cạnh tranh) và kháng thể đơn dòng không liên kết CR8020, cả hai được pha loãng theo dãy từ 5 $\mu\text{g/ml}$ nồng độ đầu tiên được thể hiện trong một đồ thị riêng.

Kết luận là, các tác giả sáng chế đã chứng minh rằng việc gây miễn dịch bằng các polypeptit theo sáng chế s127H1 (SEQ ID NO: 66) có thể bảo vệ các con chuột kháng lại việc nhiễm virus cúm gây chết. Các polypeptit này gây miễn dịch, cảm ứng các kháng thể mà có thể liên kết với HA chiều dài đủ và ít nhất một phần của các kháng thể này liên kết vào, hoặc gần vào, epitop trung hòa phổ rộng của kháng thể đơn dòng CR9114.

Ví dụ 6. Phân tích các chất liên kết CR6261 từ tập hợp 1 và tập hợp 2.

Để tìm hiểu thêm, các trình tự này có thể dẫn đến tăng liên kết của CR6261 so với trình tự gốc SEQ ID NO: 6, các trình tự được liệt kê trong Bảng 4 và 5 được phân tích thêm. Để đạt được mục đích này, đối với mỗi vị trí đích, tần suất tương đối của mỗi axit amin biến đổi có trong tập hợp các chất liên kết được cải thiện được tính và so sánh với tần suất theo lý thuyết xem liệu không có sự ưu tiên đối với axit amin bất kỳ trong số các axit amin

biến đổi (xem hình vẽ 6 và 8 về các trình tự của tập hợp tập hợp 1 và 2, tương ứng). Dữ liệu thể hiện rằng một số axit amin thường xuất hiện hơn ở các vị trí nhất định trong các trình tự mà thể hiện liên kết CR6261 được cải thiện.

Cả hai trong tập hợp 1 và 2, quan sát thấy sự xuất hiện với tần suất cao đối với Met ở vị trí 402 (đánh số đề cập đến SEQ ID NO: 1) trong các trình tự có liên kết được cải thiện, mặc dù trong tập hợp tập hợp 1 Val cũng được quan sát trong một số trường hợp. Tương tự, ở vị trí 352 sự xuất hiện với tần suất cao của các axit amin thơm Phe và Tyr, ở vị trí 416 sự xuất hiện gia tăng của Ser (mặc dù không phải rất nhiều trong tập hợp 1), và đối với vị trí 337 sự xuất hiện gia tăng của Lys được quan sát thấy ở cả hai tập hợp. Cần lưu ý rằng Ser ở vị trí 416 đưa vị trí N-glycosyl hóa giả định vào Asn414. Hơn nữa, ở vị trí 340 Asn xuất hiện với tần suất cao trong chất liên kết CR6261 được cải thiện trong tập hợp 2, trong khi trong tập hợp 1 Thr xuất hiện nhiều hơn; cả hai đột biến đưa vào vị trí glycosyl hóa giả định ở vị trí 340: Asn dẫn đến vị trí N-glycosyl giả định, trong khi Thr dẫn đến vị trí O-glycosyl giả định. Ở vị trí 353 Thr xuất hiện với tần suất cao trong chất liên kết được cải thiện từ tập hợp 1, trong khi đó trong chất liên kết được cải thiện từ tập hợp 2 Val là axit amin xuất hiện nhiều nhất. Ở các vị trí 406 và 409 các axit amin xuất hiện nhiều nhất trong chất liên kết CR6261 được cải thiện là kỵ nước: ở vị trí 406 Ile và Phe (tập hợp 1) và Phe và Leu (tập hợp 2) là xuất hiện nhiều nhất, ở vị trí 409 Ile và Val (tập hợp 1) và Phe và Ile (tập hợp 2) xuất hiện nhiều nhất. Cuối cùng, ở vị trí 413 Phe là axit amin xuất hiện nhiều nhất trong các chất liên kết CR6261 được cải thiện từ tập hợp 1, trong khi đó Glu xuất hiện nhiều nhất trong các chất liên kết từ tập hợp 2.

Các trình tự của các chất liên kết CR6261 được cải thiện được phân tích tiếp để xác định liệu một số sự kết hợp của các axit amin có xuất hiện nhiều hơn trong các chất liên kết CR6261 được cải thiện so với các axit amin khác. Để đạt được mục đích này, số lượng các trình tự chất liên kết được cải thiện chứa tổ hợp đặc biệt của axit amin được đếm và vẽ sơ đồ như thể hiện trên Hình vẽ 7A, B (các chất liên kết được cải thiện từ tập hợp 1) và Hình vẽ 9A,B (tập hợp 2). Dữ liệu được tổ chức theo các miền khác nhau được hướng vào tập hợp thể đột biến của các polypeptit, tức là miền peptit dung hợp (gốc số 337, 340, 352 và 353; Hình vẽ 7A và 9A đối với các chất liên kết từ tập hợp 1 và 2, tương ứng) và vòng B (gốc số 406, 409, 413 và 416; hình vẽ 7B và 9B). Xem xét sự xuất hiện rất nhiều của Met

ở vị trí 402, vị trí này không được bao gồm trong phân tích để phát hiện các tổ hợp thường xuất hiện giống như gần như tất cả các tổ hợp của các vị trí khác với vị trí 402 chứa Met.

Trong số các chất liên kết CR6261 được cải thiện từ tập hợp 1, các tổ hợp của Phe hoặc Tyr ở vị trí 352 với Ile hoặc Thr ở vị trí 353 là xuất hiện nhiều nhất (miền đóng khung trên Hình vẽ 7A). Về các tổ hợp của các axit amin trong miền vòng B, Ile ở vị trí 406 được kết hợp với Phe hoặc Tyr (tức là axit amin thơm) ở vị trí 413 và Tyr ở vị trí 406 được kết hợp với N ở vị trí 413 thể hiện sự xuất hiện tăng lên trong các chất liên kết CR6261 được cải thiện (miền đóng khung trên Hình vẽ 7B).

Để phân tích các trình tự của các chất liên kết CR6261 được cải thiện trong số các polypeptit này từ tập hợp 2 tập trung vào miền peptit dung hợp, chỉ các trình tự chứa hoặc Phe hoặc Tyr ở vị trí 352 được xem xét. Sự xuất hiện nhiều nhất trong các chất liên kết CR6261 được cải thiện với Phe hoặc Tyr ở vị trí 352 là các trình tự với Asn ở vị trí 340 (xem miền đóng khung trên Hình vẽ 9A). Đối với các trình tự miền vòng B với Phe, Leu hoặc Tyr ở vị trí 406, kết hợp với Glu, Met hoặc Val ở vị trí 413 (miền đóng khung trên Hình vẽ 9B) là xuất hiện nhiều nhất trong các chất liên kết CR6261 được cải thiện.

Kết luận là, phân tích này chứng tỏ rằng trong miền peptit dung hợp, việc đưa Thr ở vị trí 353, cụ thể là kết hợp với gốc thơm (Phe hoặc Tyr) ở vị trí 352 có thể cải thiện liên kết của CR6261 với các polypeptit hòa tan theo sáng chế. Hơn nữa, Lys ở vị trí 337 hoặc đưa vào vị trí N-glycosyl giả định bằng cách đưa Asn vào vị trí 340 cũng có thể góp phần làm cải thiện liên kết của CR6261. Trong miền vòng B, gốc kỵ nước lớn (Phe, Tyr, Leu hoặc Ile) có thể góp phần cải thiện liên kết với CR6261. Cụ thể là, Phe, Leu, hoặc Tyr ở vị trí 406 kết hợp với Glu, Met, hoặc Val ở vị trí 413 có thể cải thiện liên kết của CR6261. Các polypeptit theo sáng chế chứa các gốc này ở vị trí được mô tả là các phương án ưu tiên của sáng chế.

Bảng 2. Các axit amin chuẩn, các chữ viết tắt và đặc tính

Axit amin	3-Chữ cái	1-Chữ cái	Tính phân cực của chuỗi bên	Điện tích của chuỗi bên (pH 7,4)
alanin	Ala	A	không phân cực	Trung hòa
arginin	Arg	R	cực	Dương tính
asparagin	Asn	N	cực	Trung tính
axit aspartic	Asp	D	cực	Âm tính
xystein	Cys	C	không phân cực	Trung hòa

axit glutamic	Glu	E	cực	Âm tính
glutamin	Gln	Q	cực	Trung tính
glycin	Gly	G	không phân cực	Trung hòa
histidin	His	H	cực	Điện tích dương (10%) trung tính (90%)
isoleuxin	Ile	I	không phân cực	Trung hòa
leuxin	Leu	L	không phân cực	Trung hòa
lysin	Lys	K	cực	Dương tính
methionin	Met	M	không phân cực	Trung hòa
phenylalanin	Phe	F	không phân cực	Trung hòa
prolin	Pro	P	không phân cực	Trung hòa
serin	Ser	S	cực	Trung tính
threonin	Thr	T	cực	Trung tính
tryptophan	Trp	W	không phân cực	Trung hòa
tyrosin	Tyr	Y	cực	Trung tính
valin	Val	V	không phân cực	Trung hòa

Bảng 3. Sắp xếp và so sánh trình tự của các trình tự H1 theo các phương án cụ thể theo sáng chế

1. A/Solomon Islands/6/2003 (H1N1)	(SEQ ID NO: 25)
2. A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	(SEQ ID NO: 1)
3. A/New Caledonia/20/1999(H1N1)	(SEQ ID NO: 26)
4. A/California/07/2009 (H1N1)	(SEQ ID NO: 27)
5. A/swine/Hubei/S1/2009(H1N1)	(SEQ ID NO: 28)
6. A/swine/Haseluenne/IDT2617/2003(H1N1)	(SEQ ID NO: 29)
7. A/NewYork/8/2006(H1N1)	(SEQ ID NO: 30)
8. A/SolomonIslands/3/2006(H1N1)	(SEQ ID NO: 31)
9. A/NewYork/146/2000(H1N1)	(SEQ ID NO: 32)
10. A/NewYork/653/1996(H1N1)	(SEQ ID NO: 33)
11. A/Beijing/262/1995(H1N1)	(SEQ ID NO: 34)
12. A/Texas/36/1991(H1N1)	(SEQ ID NO: 35)
13. A/Singapore/6/1986(H1N1)	(SEQ ID NO: 36)
14. A/Chile/1/1983(H1N1)	(SEQ ID NO: 37)
15. A/Baylor/11515/1982(H1N1)	(SEQ ID NO: 38)
16. A/Brazil/11/1978(H1N1)	(SEQ ID NO: 39)
17. A/USSR/90/1977(H1N1)	(SEQ ID NO: 40)
18. A/NewJersey/8/1976(H1N1)	(SEQ ID NO: 41)
19. A/Denver/1957(H1N1)	(SEQ ID NO: 42)
20. A/Albany/4835/1948(H1N1)	(SEQ ID NO: 43)
21. A/FortMonmouth/1/1947(H1N1)	(SEQ ID NO: 44)
22. A/Cameron/1946(H1N1)	(SEQ ID NO: 45)
23. A/Weiss/1943(H1N1)	(SEQ ID NO: 46)
24. A/Iowa/1943(H1N1)	(SEQ ID NO: 47)
25. A/Bellamy/1942(H1N1)	(SEQ ID NO: 48)
26. A/PuertoRico/8/1934(H1N1)	(SEQ ID NO: 49)
27. A/WSN/1933(H1N1)	(SEQ ID NO: 50)
28. A/SouthCarolina/1/1918(H1N1)	(SEQ ID NO: 51)

1. MKVKLLVLLC TFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCL 60
2. MKVKLLVLLC TFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
ENSHNGKLCL 60
3. MKAKLLVLLC TFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCL 60
4. MKAILVLLY TFATANADTL CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDKHNGKLCK 60

5. MEAKLFLVFC AFTALKADTF CVGYHANYST HTVDTILEKN VTVTHSVNLL
ENSHNGKLCS 60
6. MEAKLFLVFC AFTALKADTI CVGYHANNST DTVDTILEKN VTVTHSVNLL
ENNHNGKLCS 60
7. MKVKLLVLLC TFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCL 60
8. MKVKLLVLLC TFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCL 60
9. MKAKLLVLLC AFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
10. MKAKLLVLLC AFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
11. MKAKLLVLLC TFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCL 60
12. MKAKLLVLLC AFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
13. MKAKLLVLLC AFTATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
14. MKAKLLVLLC ALSATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDNHNGKLCK 60
15. MKAKLLVLLC ALSATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
16. MKAKLLVLLC ALSATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
17. MKAKLLVLLC ALSATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
18. MKAKLLVLLC AFTATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
19. MKAKLLVLLC ALSATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
20. MKAKLLVLLC ALSATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
21. MKAKLLVLLC ALTATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
22. MKAKLLVLLC ALSATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
23. MKARLLVLLC ALAATDADTI CIGYHANNST DTVDTILEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
24. MKARLLVLLC ALAATDADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60
25. MKARLLVLLC AIAATDADTI CIGYHANNST DTVDTILEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60

26. MKANLLVLLC ALAAADADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCR 60

27. MKAKLLVLLY AFVATDADTI CIGYHANNST DTVDTIFEKN VAVTHSVNLL
EDRHNGKLCK 60

28. MEARLLVLLC AFAATNADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL
EDSHNGKLCK 60

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

1. LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPECELLISR ESWSYIVEKP NPENGTCYPG
HFADYEELRE 120

2. LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPECELLISK ESWSYIVEKP NPENGTCYPG
HFADYEELRE 120

3. LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPECELLISK ESWSYIVETP NPENGTCYPG
YFADYEELRE 120

4. LRGVAPLHLG KCNIAGWILG NPECESLSTA SSWSYIVETP SSDNGTCYPG
DFIDYEELRE 120

5. LNGKIPLQLG NCSVAGWILG NPKCDLLTA NSSSYIETS KSKNGACYPG
EFADYEELKE 120

6. LNGKAPLQLG NCSVAGWILG NPECDLLTV DSWSYIETS NSKNGACYPG
EFADYEELRE 120

7. LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPECELLISK ESWSYIVETP NPENGTCYPG
YFADYEELRE 120

8. LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPECELLISR ESWSYIVEKP NPENGTCYPG
HFADYEELRE 120

9. LKGTAPLQLG NCSIAGWILG NPECESLFSK ESWSYIAETP NPKNGTCYPG
YFADYEELRE 120

10. LKGTAPLQLG NCSVAGWILG NPECESLFSK ESWSYIAETP NPENGTCYPG
YFADYEELRE 120

11. LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPECESLISK ESWSYIVETP NPENGTCYPG
YFADYEELRE 120

12. LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPKCESLFSK ESWSYIAETP NPENGTCYPG
YFADYEELRE 120

13. LKGIAPLQLG NCSIAGWILG NPECESLFSK KSWSYIAETP NSENGTCYPG
YFADYEELRE 120

14. LKGIAPLQLG KCSIAGWILG NPECESLFSK KSWSYIAETP NSENGTCYPG
YFADYEELRE 120

15. LKGIAPLQLG KCSIAGWILG NPECESLFSK KSWSYIAETP NSENGTCYPG
YFADYEELRE 120

16. LKGIAPLQLG KCSIAGWILG NPECESLFSK KSWSYIAETP NSENGTCYPG
YFADYEELRE 120

17. LKGIAPLQLG KCNIAGWILG NPECESLFSK KSWSYIAETP NSENGTCYPG
YFADYEELRE 120

18. LKGIAPLQLG NCSIAGWILG NPECESLFSK KSWSYIAETP NSENGTCYPG
YFADYEELRE 120

19. LKGKAPLQLG NCNIAGWVLG NPECESLLSN RSWSYIAETP NSENGTCYPG
DFADYEELRE 120
20. LKGIAPLQLG KCNIAGWILG NPECESLFSK KSWSYIAETP NSENGTCYPG
YFADYEELRE 120
21. LKGIAPLQLG KCNIAGWILG NPECESLLSK RSWSYIAETP NSENGACYPG
DFADYEELRE 120
22. LKGIAPLQLG KCNIAGWILG NPECESLLSK RSWSYIAETP NSENGACYPG
DFADYEELRE 120
23. LKGIAPLQLG KCNIAGWILG NPECESLLSE RSWSYIVEIP NSENGTCYPG
DFTDYEELRE 120
24. LKGIAPLQLG KCNIAGWILG NPECESLLSE RSWSYIVETP NSENGTCYPG
DFIDYEELRE 120
25. LKGIAPLQLG KCNIAGWILG NPECESLLSE RSWSYIVETP NSENGTCYPG
DFIDYEELRE 120
26. LKGIAPLQLG KCNIAGWLLG NPECDLLPV RSWSYIVETP NSENGICYPG
DFIDYEELRE 120
27. LKGIAPLQLG KCNITGWLLG NPECDSLLPA RSWSYIVETP NSENGACYPG
DFIDYEELRE 120
28. LKGIAPLQLG KCNIAGWLLG NPECDLLTA SSWSYIVETS NSENGTCYPG
DFIDYEELRE 120

. ***.** .*.***.* **.*.* . *****.*** ***** * *****

1. QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTTT-GVS ASCSHNGESS FYKNLLWLTG
KNGLYPNLSK 179
2. QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTVT-GVS ASCSHNGESS FYRNLLWLTG
KNGLYPNLSK 179
3. QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTVT-GVS ASCSHNGKSS FYRNLLWLTG
KNGLYPNLSK 179
4. QLSSVSSFER FEIFPKTSSW PNHDSNKGVT AACPHAGAKS FYKNLIWLK
KGNSYPKLSK 180
5. QLSTVSSFER FEIFPKAISW PDHDATRGTT VACSHSGVNS FYRNLLSTVK
KGNSYPKLSK 180
6. QLSTVSSFER FEIFPKATSW PNHDTTRGTT ISCSHSGANS FYRNLLWIVK
KGNSYPKLSK 180
7. QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTVT-GVS ASCSHNGKSS FYRNLLWLTG
KNGLYPNLSK 179
8. QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTTT-GVS ASCSHNGESS FYKNLLWLTG
KNGLYPNLSK 179
9. QLSSVSSFER FEIFPKDSSW PNHTVTKGVT ASCSHNGKSS FYKNLLWLTE
KNGLYPNLSK 180
10. QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTVTKGVT ASCSHNGKSS FYKNLLWLTE
KNGLYPNLSK 180
11. QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTVT-GVT ASCSHNGKSS FYRNLLWLTE
KNGLYPNLSN 179

- | | | | | | |
|----------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| 12. | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHTVTKGVT | TSCSHNGKSS | FYRNLLWLTK |
| KNGLYPNVSK 180 | | | | | |
| 13. | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHTVTKGVT | ASCSHKGRSS | FYRNLLWLTK |
| KNGSYPNLSK 180 | | | | | |
| 14. | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PKHNVTKGVT | AACSHKGKSS | FYRNLLWLTE |
| KNGSYPNLSK 180 | | | | | |
| 15. | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PKHSVTRGVT | ASCSHKGKSS | FYRNLLWLTE |
| KNGSYPNLSK 180 | | | | | |
| 16. | QLSSVSSFER | FEIFPKERSW | PKHNITRGVT | ASCSHKGKSS | FYRNLLWLTE |
| KNGSYPNLSK 180 | | | | | |
| 17. | QLSSVSSFER | FEIFPKERSW | PKHNVTRGVT | ASCSHKGKSS | FYRNLLWLTE |
| KNGSYPNLSK 180 | | | | | |
| 18. | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHTVTKGVT | ASCSHKGRSS | FYRNLLWLTK |
| KNGSYPNLSK 180 | | | | | |
| 19. | QLSSVSSFER | FEIFPKERSW | PNHTTR-GVT | AACPHARKSS | FYKNLVWLTE |
| ANGSYPNLSR 179 | | | | | |
| 20. | QLSSVSSFER | FEIFPKERSW | PKHNITRGVT | AACSHKGKSS | FYRNLLWLTE |
| KNGSYPNLNK 180 | | | | | |
| 21. | QLSSVSSFER | FEIFPKERSW | PKHNITRGVT | AACSHAGKSS | FYKNLLWLTE |
| TDGSYPKLSK 180 | | | | | |
| 22. | QLSSVSSFER | FEIFPKGRSW | PEHNIDIGVT | AACSHAGKSS | FYKNLLWLTE |
| KDGSYPNLNK 180 | | | | | |
| 23. | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PKHNTARGVT | AACSHAGKSS | FYRNLLWLTE |
| KDGSYPNLKN 180 | | | | | |
| 24. | QLSSVSSFER | FEIFSKESSW | PKHTTG-GVT | AACSHAGKSS | FYRNLLWLTE |
| KDGSYPNLNN 179 | | | | | |
| 25. | QLSSVTSFER | FEIFPKETSW | PKHNTTKGVT | AACSHAGKCS | FYRNLLWLTE |
| KDGSYPNLNN 180 | | | | | |
| 26. | QLSSVSSFER | FEIFPKESSW | PNHNTN-GVT | AACSHEGKSS | FYRNLLWLTE |
| KEGSYPKLKN 179 | | | | | |
| 27. | QLSSVSSLER | FEIFPKESSW | PNHTFN-GVT | VSCSHRGKSS | FYRNLLWLTK |
| KGDSYPKLTN 179 | | | | | |
| 28. | QLSSVSSF EK | FEIFPKTSSW | PNHETTKGVT | AACSYAGASS | FYRNLLWLTK |
| KGSSYPKLSK 180 | | | | | |

* * * * *. * . * * * * * * * * . * * . * * . * * * * * * * * .

.
.
.
.
.

1. SYANNKEKEV LVLWGVHHPP NIGDQRALYH KENAYVSVVS SHYSRKFTPE
IAKRPKVRDQ 239
2. SYANNKEKEV LVLWGVHHPP NIGNQKALYH TENAYVSVVS SHYSRKFTPE
IAKRPKVRDQ 239
3. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPP NIGNQRALYH TENAYVSVVS SHYSRRFTPE
IAKRPKVRDQ 239
4. SYINDKGKEV LVLWGIHHPS TSADQQSLYQ NADAYVFGVS SRYSKKFKPE
IAIRPKVRXX 240

5. SYTNNKGKEV LVIWGVHHPP TDSVQQTLYQ NKHTYVSVGS SKYYKRFTPE
IVARPKVRGQ 240
6. SYTNNKGKEV LVIWGVHHPP TDSDQQTLYQ NNHTYVSVGS SKYYQRFTPE
IVTRPKVRGQ 240
7. SYANNKEKEV LVLWGVHHPP NIGDQRALYH TENAYVSVVS SHYSRRFTPE
IAKRPKVRDQ 239
8. SYANNKEKEV LVLWGVHHPP NIGDQRALYH KENAYVSVVS SHYSRKFTPE
IAKRPKVRDQ 239
9. SYVNNKGKEV LVLWGVHHPS NMGDQRAIYH KENAYVSVLS SHYSRRFTPE
IAKRPKVRDQ 240
10. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIGDQRAIYH TENAYVSVVS SHYSRRFTPE
ITKRPKVRDQ 240
11. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIRDQRAIYH TENAYVSVVS SHYSRRFTPE
IAKRPKVRGQ 239
12. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIGDQRAIYH TENAYVSVVS SHYSRRFTPE
IAKRPKVRDQ 240
13. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIGDQRAIYH TENAYVSVVS SHYNRRFTPE
IAKRPKVRDQ 240
14. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIEDQKTIYR KENAYVSVVS SHYNRRFTPE
IAKRPKVRNQ 240
15. SYVNDKEKEV LVLWGVHHPS NIEDQKTIYR KENAYVSVVS SHYNRRFTPE
IAKRPKVRDQ 240
16. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIEDQKTIYR KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAKRPKVRGQ 240
17. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIEDQKTIYR KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAERP KVRGQ 240
18. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIGDQRAIYH TENAYVSVVS SHYNRRFTPE
IAKRPKVRDQ 240
19. SYVNNQEKEV LVLWGVHHPS NIEEQRALYR KDNAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAKRPKVRDQ 239
20. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIEDQKTLYR KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAERP KVRGQ 240
21. SYVNNKEKEV LVLWGVHHPS NIEDQKTLYR KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAERP KVRGQ 240
22. SYVNNKEKEV LILWGVHHPP NIENQKTLYR KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAERP KVRGQ 240
23. SYVNNKGKEV LVLWGVHHPS SIKEQQTLYQ KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAERP KVRDQ 240
24. SYVNNKGKEV LVLWGVHHPS NIKDQQTLYQ KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAERP KVRGQ 239
25. SYVNNKGKEV LVLWGVHHPS NIKDQQTLYQ KENAYVSVVS SNYNRRFTPE
IAERP KVRGQ 240
26. SYVNNKGKEV LVLWGIHHPP NSKEQQNLYQ NENAYVSVVT SNYNRRFTPE
IAERP KVRDQ 239

27. SYVNNKGKEV LVLWGVHHPS SSDEQQSLYS NGNAYVSVAS SNYNRRFTPE
IAARPKVKDQ 239

28. SYVNNKGKEV LVLWGVHHPP TGTDQQSLYQ NADAYVSVGS SKYNRRFTPE
IAARPKVRDQ 240

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

1. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPRY AFALSRGFGS GIINSNAPMD
ECDAKCQTPQ 299

2. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPRY AFALSRGFGS GIINSNAPMD
KCDAKCQTPQ 299

3. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNAPMD
ECDAKCQTPQ 299

4. EGRMNYWTL VEPGDKITFE ATGNLVVPRY AFAMERNAGS GIISDTPVH
DCNTTCQTPK 300

5. AGRMNYWTL FDQGDTITFE ATGNLIAPWH AFALKKGSSS GIMLSDAQVH
NCTTKCQTPH 300

6. AGRMNYWTL LDQGDTITFE ATGNLIAPWH AFALNKGPS GIMISDAHVH
NCTTKCQTPH 300

7. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPRF AFALSRGFGS GIITSNAPMD
ECDAKCQTPQ 299

8. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPRY AFALSRGFGS GIINSNAPMD
ECDAKCQTPQ 299

9. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIISNASMG
ECDAKCQTPQ 300

10. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMG
ECDAKCQTPQ 300

11. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNAPMN
ECDAKCQTPQ 299

12. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMD
ECDAKCQTPQ 300

13. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMD
ECDAKCQTPQ 300

14. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMD
ECDAKCQTPQ 300

15. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNVSM
ECDAKCQTPQ 300

16. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMD
ECDTKCQTPQ 300

17. AGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWH AFALNRGFGS GIITSNASMD
ECDTKCQTPQ 300

18. EGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMD
ECDAKCQTPQ 300

19. SGRMNYWTL LEPGDTIIFE ATGNLIAPWY AFALSRGPGS GIITSNAPLD
ECDTKCQTPQ 299

20. AGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWH AFALSRGFGS GIITSNASMD
ECDTKCQTPQ 300
21. AGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRDFGS GIITSNASMD
ECDTKCQTPQ 300
22. AGRINYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALNRGIGS GIITSNASMD
ECDTKCQTPQ 300
23. AGRMNYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMH
ECDTKCQTPQ 300
24. AGRINYYWTL LKPGDTIMFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMH
ECDTKCQTPQ 299
25. AGRMNYYWTL LEPGDTIIFE ANGNLIAPWY AFALSRGFGS GIITSNASMH
ECNTKCQTPQ 300
26. AGRMNYYWTL LKPGDTIIFE ANGNLIAPMY AFALRRGFGS GIITSNASMH
ECNTKCQTPQ 299
27. HGRMNYYWTL LEPGDTIIFE ATGNLIAPWY AFALSRGFES GIITSNASMH
ECNTKCQTPQ 299
28. AGRMNYYWTL LEPGDTITFE ATGNLIAPWY AFALNRGSGS GIITSDAPVH
DCNTKCQTPH 300

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

1. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRS AKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 359
2. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRS AKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 359
3. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRS AKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 359
4. GAINSSLPFQ NIHPITIGKC PKYVKSTKLR LATGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 360
5. GALKNNLPLQ NVHLFTIGEC PKYVKSTQLR MATGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 360
6. GALKSNLPLQ NVHPSTIGEC PKYVKSTQLR MATGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 360
7. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRS AKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 359
8. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRS AKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 359
9. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRSTKLR MVTGLRNVPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 360
10. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRSTKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 360
11. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRSTKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 359
12. GAINSSLPFQ NVHPVTIGEC PKYVRSTKLR MVTGLRNIPS IQSRGLFGAI
AGFIEGGWTG 360

13. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NVHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
14. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NVHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
15. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NVHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
16. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NVHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
17. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
18. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NVHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
19. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 359	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	VQSRGLFGAI
20. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
21. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NIHPVTIGEC	PKYVKSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
22. GAINSSLPFQ AGFIEGGWDG 360	NIHPFTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
23. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
24. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 359	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
25. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
26. GAINSSLPYQ AGFIEGGWTG 359	NIHPVTIGEC	PKYVRSAKLR	MVTGLRNIPS	IQSRGLFGAI
27. GSINSLPFQ AGFIEGGWTG 359	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MVTGLRNIPS	IQYRGLFGAI
28. GAINSSLPFQ AGFIEGGWTG 360	NIHPVTIGEC	PKYVRSTKLR	MATGLRNIPS	IQSRGLFGAI

*.**.**.* **.** *.*.* *.***.* *****.**.* ***..**.* .*****.*.* *.* ***** *

1. MVDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 419
2. MVDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 419
3. MVDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 419
4. MVDGWYGYHH QNEQGSGYAA DLKSTQNAID EITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNHLEKR 420
5. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQIAID GINNKANSVI GKMNIQLTSV
GKEFNSLEKR 420

6. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQIAID GINNKVNSII EKMNTQFTSV
GKEFNDLEKR 420
7. MVDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 419
8. MVDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 419
9. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSII EKMNTQFTAV
GKEFNKLEKR 420
10. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAID GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 420
11. MMDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI
EKMNTQFTAV GKEFNKLERR 419
12. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 420
13. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 420
14. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSII EKMNTQFTAV
GKEFNKLEKR 420
15. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLEKR 420
16. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLEKR 420
17. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLEKR 420
18. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLERR 420
19. MMDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI
EKMNTQFTAV GKEFNKLEKR 419
20. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLEKR 420
21. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN WITNKVNSVI
EKMNTQFTAV GKEFNKLEKR 420
22. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNKLEKR 420
23. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNNLEKR 420
24. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNNLEKR 419
25. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNNLEKR 420
26. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNIQFTAV
GKEFNKLEKR 419
27. MIDGWYGYHH QNEQGSGYAA DQKSTQNAIN GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNNLEKR 419

28. MIDGWYGYHH QNEQSGYAA DQKSTQNAID GITNKVNSVI EKMNTQFTAV
GKEFNRLERR 420

[illegible]

1. MENLNKKVDD GFIDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
2. MENLNKKVDD GFIDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
3. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
4. IENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDYHDSNVK NLYEKVRSQ
KNNAKEIGNG 480
5. KENLNKTVDD RFLDVWTFNA ELLVLLENQR TLEFHDLNIK SLYEKVKSHL
RNNDKEIGNG 480
6. IENLNKKVDD GFLDVWTYNA ELLILLENER TLDFHDFNVK NLYEKVKSQ
RNNAKEIGNG 480
7. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
8. MENLNKKVDD GFIDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
9. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDLNVK NLYEKVKNQ
KNNAKEIGNG 480
10. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKTQ
KNNAKEIGNG 480
11. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
12. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENGR TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480
13. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480
14. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480
15. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480
16. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480
17. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480
18. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480
19. MENLNKKVDD GFMDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK
NLYEKVKNQL RNNAKELGNG 479
20. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480

21. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKNQL
RNNAKEIGNG 480
22. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKNQL
RNNAKEIGNG 480
23. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLILLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
RNNAKEIGNG 480
24. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKNQL
RNNAKEIGNG 479
25. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
RNNAKEIGNG 480
26. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDFHDSNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
27. MENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDFHDLNVK NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 479
28. IENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDFHDSNVR NLYEKVKSQ
KNNAKEIGNG 480

.*****.***** **.****** *****.***** * *****.*** **.* *****.*** **.* *****.*****

1. CFEFYHKCND ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 539
2. CFEFYHKCND ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 539
3. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 539
4. CFEFYHKCDN TCMESVKNGT YDYPKYSEEA KLNREEIDGV KLESTRIYQI
LAIYSTVASS 540
5. CFEFYHKRDN ECLECVKNGT YNYPKYSEES KFNREEIVGV KLESMGIHQI
LAIYSTVASS 540
6. CFEFYHKCDN ECMESVKNGT YNYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVHQI
LAIYSTVASS 540
7. CFEFYHKCND ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNRRERIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 539
8. CFEFYHKCND ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 539
9. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSKES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
10. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
11. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 539
12. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNRGKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
13. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540

14. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
15. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
16. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
17. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
18. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
19. CFEFYHKCDN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYRI
LAIYSTVASS 539
20. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
21. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
22. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKFSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
23. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
24. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTAASS 539
25. CFEFYHKCNN ECMESVKNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540
26. CFEFYHKCDN ECMESVRNGT YDYPKYSEES KLNREKVDGV KLESMGIYQI
LAIYSTVASS 539
27. CFEFYHKCDN ECMESVRNGT YDYPKYSEES KLNREKIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 539
28. CFEFYHKCDD ACMESVRNGT YDYPKYSEES KLNREEIDGV KLESMGVYQI
LAIYSTVASS 540

*****.

1. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
2. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
3. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
4. LVLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
5. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRVCI 566
6. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
7. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
8. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
9. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
10. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
11. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
12. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566

13. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
14. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
15. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
16. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
17. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
18. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
19. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
20. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
21. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
22. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
23. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
24. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
25. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566
26. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
27. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 565
28. LVLLVSLGAI SFWMCSNGSL QCRICI 566

.** ***** *****

Bảng 4. Các polypeptit được biểu hiện trong *P. pastoris*.

Sự biểu hiện và liên kết của CR6261 được xác định như được mô tả và tỷ lệ của liên kết và các tín hiệu biểu hiện được tính.

Phần 1					vùng peptit dung hợp				vòng B				
đồng	tín hiệu liên kết CR6261	tín hiệu HTRF	tỷ lệ	sự lãng tỷ lệ cuộn gấp so với H1 mini-HA gốc	337	340	352	353	402	406	409	413	416
					E, I, K, V	I, K, R, T	D, F, V, Y	I, K, R, T	E, K, M, V	F, I, N, S, T, Y	A, G, I, R, T, V	F, I, N, S, T, Y	H, I, L, N, R, S
239E11	1076944	1492	721,81	121,52	K	I	Y	T	M	F	I	N	R
127H1	800024	6572	121,73	20,49	K	K	F	T	M	Y	I	Y	S
171E5	879704	11508	76,44	12,87	K	T	F	T	M	I	A	F	S
239D2	570424	9279	61,47	10,35	K	K	F	T	M	I	V	F	N
247B2	414984	7583	54,73	9,21	K	I	Y	T	V	Y	I	F	S
253D4	395824	7546	52,45	8,83	K	T	F	T	M	Y	A	Y	H
252F5	421824	8621	48,93	8,24	V	K	Y	T	M	Y	V	Y	N
220C9	1086064	22606	48,04	8,09	K	T	F	T	M	F	T	Y	L
125D3	139824	2937	47,61	8,02	K	K	F	T	M	Y	G	T	H
137C11	416504	9167	45,44	7,65	V	K	F	T	M	Y	I	N	H
131B5	844344	20419	41,35	6,96	K	T	F	T	M	I	V	Y	H
233F11	583024	14389	40,52	6,82	K	K	Y	T	M	T	I	G	S
234C5	377864	9465	39,92	6,72	I	I	Y	T	M	F	T	N	L
115A1	1176904	30389	38,73	6,52	K	K	Y	T	M	I	V	Y	I
185G7	505864	13560	37,31	6,28	K	K	Y	T	M	I	V	I	S
275D4	327344	9030	36,25	6,10	K	K	Y	T	M	T	T	S	S
244B8	273744	7757	35,29	5,94	I	T	Y	T	M	Y	A	I	S
252B8	284984	8252	34,54	5,81	K	I	Y	T	M	S	I	N	L
213C11	667024	20624	32,34	5,44	V	K	Y	T	M	I	V	F	H
174G3	491184	15320	32,06	5,40	K	T	Y	K	V	S	G	Y	L
125D10	133904	4241	31,57	5,31	K	I	Y	T	M	Y	V	N	R
127A7	233064	7498	31,08	5,23	E	T	Y	T	M	I	I	I	L
304G11	110504	3588	30,8	5,19	K	K	Y	K	M	F	T	F	S
162A11	364024	11939	30,49	5,13	V	K	Y	T	M	F	A	F	I
271F10	315304	10348	30,47	5,13	I	K	Y	T	M	I	A	I	L
218G11	958504	33710	28,43	4,79	I	T	Y	I	M	I	I	I	N
251C8	269544	9634	27,98	4,71	K	T	Y	K	M	Y	I	N	L
258A6	165624	6004	27,59	4,64	I	T	Y	T	M	Y	T	F	H
134A4	456304	17366	26,28	4,42	K	I	Y	I	M	I	A	Y	N
214C11	317904	12120	26,23	4,42	E	I	Y	T	M	Y	V	S	S
182G8	399864	15262	26,2	4,41	K	K	Y	T	M	T	V	I	I
113E7	966064	38018	25,41	4,28	K	K	F	T	M	Y	T	I	H
230G9	854584	34093	25,07	4,22	K	K	Y	T	M	Y	T	F	R
222G4	419064	16996	24,66	4,15	K	T	F	I	V	I	I	Y	L
182D7	418944	17096	24,51	4,13	I	T	Y	T	M	I	I	F	N
272H2	263264	10844	24,28	4,09	K	T	Y	T	M	S	A	N	H
191C8	309064	12753	24,23	4,08	I	T	Y	T	V	I	A	F	I
123C10	237824	9843	24,16	4,07	K	I	Y	K	M	F	A	T	L
284B9	1663504	70812	23,49	3,95	K	T	Y	R	M	I	R	T	L
134A3	531784	23414	22,71	3,82	K	K	F	I	M	I	I	N	S
188F4	287384	12886	22,3	3,75	K	K	Y	T	M	S	V	T	H
189B7	336344	15207	22,12	3,72	E	T	F	T	M	Y	V	F	N
148D5	329144	14994	21,95	3,70	E	T	Y	I	M	F	G	S	H
194C8	242304	11113	21,8	3,67	I	T	F	T	M	F	V	F	I
188A8	279144	13001	21,47	3,61	K	T	Y	K	M	F	V	S	I
162B3	279584	13159	21,25	3,58	V	T	Y	T	M	Y	T	N	N
204C5	832784	39330	21,17	3,56	V	K	F	T	V	I	I	Y	L
216E5	334904	15873	21,1	3,55	V	T	F	T	M	F	R	Y	R
129C2	199464	9486	21,03	3,54	V	R	Y	I	M	I	I	Y	S
286E8	158704	7662	20,71	3,49	E	I	F	T	M	F	I	Y	S
264G4	180504	8751	20,63	3,47	K	R	Y	T	V	I	V	F	S
214C4	302264	14709	20,55	3,46	I	I	F	T	V	F	A	S	S
125A8	212224	10327	20,55	3,46	K	I	F	T	V	I	V	Y	I

Phần 1					vùng peptit dung hợp				vùng B				
dòng	tín hiệu liên kết CR6261	tín hiệu HTRF	tỷ lệ	sự tăng tỷ lệ cuộn gấp so với H1 mini-HA gốc	337 E, I, K, V	340 I, K, R, T	352 D, F, V, Y	353 I, K, R, T	402 E, K, M, V	406 F, I, N, S, T, Y	409 A, G, I, R, T, V	413 F, I, N, S, T, Y	416 H, I, L, N, R, S
123G2	498584	24442	20,4	3,43	I	T	Y	I	M	Y	T	F	L
187C6	345464	16932	20,4	3,43	E	K	Y	K	M	F	I	I	H
134H10	591704	29253	20,23	3,41	K	T	Y	T	V	I	T	F	I
187H10	299224	15289	19,57	3,29	K	T	Y	I	M	I	G	F	L
101D4	336584	17243	19,52	3,29	I	K	Y	I	M	I	I	S	N
193B6	206904	10650	19,43	3,27	K	K	Y	R	M	F	I	S	N
137C5	295944	15406	19,21	3,23	I	R	F	T	V	I	I	N	N
112F3	449824	24169	18,61	3,13	V	R	F	I	M	I	I	Y	S
176A5	193104	10476	18,43	3,10	I	T	F	T	V	F	I	F	I
213B2	131704	7178	18,35	3,09	K	K	Y	T	M	T	V	F	L
307A10	114984	6348	18,11	3,05	I	K	F	T	M	Y	G	Y	H
126C3	219944	12413	17,72	2,98	E	T	F	I	M	F	G	T	I
263B6	151184	8800	17,18	2,89	I	T	Y	I	M	S	T	Y	I
138F11	147864	8788	16,83	2,83	E	R	Y	R	M	F	V	F	L
134D3	303504	18129	16,74	2,82	E	R	F	I	M	Y	T	F	S
131D5	344504	20857	16,52	2,78	V	T	Y	I	V	I	A	F	S
138F8	347704	21081	16,49	2,78	K	T	Y	I	M	Y	A	F	H
301F11	116904	7108	16,45	2,77	V	T	F	T	V	Y	I	S	H
112G6	543944	33149	16,41	2,76	V	R	Y	I	M	F	I	S	I
245C9	180024	10980	16,4	2,76	V	R	F	T	V	F	V	T	L
123E2	477064	29184	16,35	2,75	V	T	Y	T	V	F	V	F	S
266A11	90584	5696	15,9	2,68	V	T	Y	T	M	Y	I	T	R
104C4	521224	34458	15,13	2,55	V	K	Y	I	M	F	G	F	N
194E4	408584	27424	14,9	2,51	E	K	F	T	M	I	T	F	I
206B11	358744	24697	14,53	2,45	V	R	Y	T	M	F	T	I	L
192C4	343184	23932	14,34	2,41	K	T	Y	K	M	I	V	T	N
125H3	317384	22785	13,93	2,35	I	T	F	T	M	I	A	Y	R
145C9	182344	13108	13,91	2,34	I	T	F	I	V	Y	I	S	N
243D6	132144	9596	13,77	2,32	I	R	F	T	M	N	V	Y	R
182D3	142664	10487	13,6	2,29	I	T	Y	R	M	F	A	G	S
181H9	310504	23153	13,41	2,26	V	K	F	I	M	F	V	F	N
163E3	183544	14033	13,08	2,20	E	K	Y	K	M	I	V	I	L
145E7	122224	10312	12,82	2,16	I	T	F	K	V	I	I	F	S
275G3	115104	9180	12,54	2,11	V	T	Y	I	M	T	A	S	S
191D5	123824	10048	12,32	2,07	I	R	F	T	M	T	G	F	S
188G10	142504	11593	12,29	2,07	V	T	Y	I	V	I	A	F	S
171F6	140464	11555	12,16	2,05	K	T	Y	T	M	S	T	Y	L
125C2	83624	7009	11,93	2,01	I	I	F	T	V	I	T	S	S
206B8	285824	24166	11,83	1,99	V	I	Y	T	M	I	T	F	H
145F2	498504	42457	11,74	1,98	I	K	F	T	M	F	R	F	S
199F3	328504	29850	11,01	1,85	K	T	Y	T	M	N	G	S	S
181H11	186664	17205	10,85	1,83	V	T	Y	T	M	I	I	N	R
188C8	113344	10520	10,77	1,81	I	K	Y	T	M	S	T	Y	L
189E10	188864	18252	10,35	1,74	K	T	Y	T	M	S	G	S	S
146G7	533864	52422	10,18	1,71	V	T	Y	I	M	Y	T	T	I
182H2	109624	10976	9,99	1,68	K	I	F	T	V	I	I	T	L
262B9	94744	9584	9,89	1,66	I	K	Y	T	M	F	R	F	R
145E8	211504	21732	9,73	1,64	E	K	F	K	V	I	V	F	I
249B11	145184	14995	9,68	1,63	K	K	F	T	M	S	T	G	H
182C6	92944	9939	9,35	1,57	K	R	D	I	M	F	I	N	N
SEQ ID NO: 6 AV + 2SD													
SEQ ID NO: 6 AV													
	238077	40100	5,94	1,00									

Bảng 5. Các polypeptit được biểu hiện trong *P. pastoris*.

Sự biểu hiện và liên kết của CR6261 được xác định như được mô tả và tỷ lệ của liên kết và các tín hiệu biểu hiện được tính.

Phần 2					vùng peptit dung hợp				vòng B				
dòng	tín hiệu liên kết CR6261	tín hiệu HTRF	tỷ lệ	sự tăng tỷ lệ cuộn gấp so với trình tự SEQ ID NO:6 gốc	337	340	352	353	402	406	409	413	416
					A, E, I, K, T, V	F, I, N, S, T, Y	A, D, F, I, N, S, T, V, Y	E, G, I, K, R, V	M, R, T	F, H, L, Y	F, I, S, T	E, K, M, V	I, L, R, S
86B4	1077144	13862	77,7	13,08	K	N	Y	K	M	F	I	M	I
7A7	987824	13452	73,43	12,36	T	N	Y	V	M	Y	F	E	R
55G7	616184	8767	70,28	11,83	K	N	Y	V	M	Y	I	M	L
71H2	1109984	16750	66,27	11,16	K	N	F	K	M	L	I	V	S
86B3	900904	14448	62,35	10,50	K	N	Y	K	M	L	I	V	R
71A4	1064144	17597	60,47	10,18	T	N	Y	V	M	Y	F	E	R
51G3	460304	7773	59,22	9,97	T	I	F	V	M	L	F	E	S
84B8	582144	10091	57,69	9,71	K	N	Y	I	M	F	F	M	S
79C2	364184	7116	51,18	8,62	T	N	Y	R	M	F	T	V	S
69G8	481344	9479	50,78	8,55	I	N	F	R	M	L	I	V	L
79D5	702584	13981	50,25	8,46	A	N	F	K	M	L	F	V	L
54H4	291744	5857	49,81	8,39	K	I	Y	K	M	L	I	E	L
11H6	427384	9146	46,73	7,87	K	N	Y	E	M	F	T	E	S
90A9	413664	9025	45,84	7,72	K	S	Y	V	M	Y	T	V	S
75G5	1011384	26695	37,89	6,38	E	S	Y	V	M	L	F	E	R
8A10	360104	9630	37,39	6,29	K	N	Y	V	M	L	I	V	R
72D4	329944	8881	37,15	6,25	V	N	F	R	M	F	S	M	S
74H9	1283144	35494	36,15	6,09	K	N	F	K	M	Y	F	M	S
88C5	471424	13355	35,3	5,94	K	N	Y	R	M	L	I	V	R
61A9	383064	10864	35,26	5,94	T	N	F	R	M	F	F	E	L
86H9	457344	13340	34,28	5,77	K	N	F	G	M	F	T	V	S
71D3	1573024	46711	33,68	5,67	I	S	Y	V	M	F	I	V	L
9C6	270984	8235	32,91	5,54	K	T	Y	V	M	Y	T	K	I
81F11	317824	9964	31,9	5,37	K	I	F	V	M	F	F	V	S
84E10	255064	7996	31,9	5,37	I	N	F	R	M	F	S	V	S
71C4	1350144	44339	30,45	5,13	K	N	F	G	M	F	I	V	S
84D3	84424	2920	28,91	4,87	E	N	F	K	M	L	I	E	S
96H8	205904	7224	28,5	4,80	K	Y	Y	K	M	F	I	M	S
85A7	235704	8416	28,01	4,72	K	N	Y	E	M	L	F	V	R
50G10	264144	9470	27,89	4,70	T	N	F	E	M	F	F	V	S
6A1	299824	10912	27,48	4,63	A	N	F	R	M	F	F	M	S
91C4	1157424	44837	25,81	4,35	K	N	F	G	M	L	I	M	R
2C4	258264	10139	25,47	4,29	I	N	F	V	M	F	I	V	L
63C3	188184	7625	24,68	4,15	E	T	Y	K	M	L	F	V	L
850	196024	8115	24,16	4,07	K	N	V	G	M	F	F	V	I
67C10	306104	12907	23,72	3,99	E	T	F	V	M	F	F	M	L
10F9	165984	7113	23,34	3,93	I	I	Y	V	M	Y	F	E	R
4C1	385504	16548	23,3	3,92	K	N	S	V	M	F	I	E	I
86G3	183944	7995	23,01	3,87	T	S	Y	V	M	F	T	V	L
51G10	215264	9727	22,13	3,73	A	N	Y	R	M	F	I	K	S
58A5	90744	4142	21,91	3,69	V	T	F	R	M	L	I	M	S
56F8	235344	10823	21,74	3,66	I	N	F	E	M	F	T	E	L
67C11	209184	9856	21,22	3,57	K	Y	Y	I	M	F	F	E	I
91C8	333584	16012	20,83	3,51	K	N	F	G	M	L	I	K	S
48B11	302864	14946	20,26	3,41	I	N	A	G	M	L	I	E	S
78F11	84104	4155	20,24	3,41	I	I	F	R	M	Y	F	E	I

Phần 2

dòng	tín hiệu liên kết CR6261	tín hiệu HTRF	tỷ lệ	sự tăng tỷ liên kết gấp so với trình tự SEQ ID NO 6 gốc	vùng peptit dung hợp				vòng B				
					337	340	352	353	402	406	409	413	416
					A, E, I, K, T, V	F, I, N, S, T, Y	A, D, F, I, N, S, T, V, Y	E, G, I, K, R, V	M, R, T	F, H, L, Y	F, I, S, T	E, K, M, V	I, L, R, S
76A10	136984	6841	20,02	3,37	I	Y	F	V	M	Y	F	E	I
55H2	58104	2984	19,47	3,28	I	I	Y	V	M	F	F	V	S
74D7	358784	18453	19,44	3,27	K	N	A	G	M	F	I	M	S
11B4	166464	8679	19,18	3,23	T	S	F	V	M	Y	T	V	S
56F4	185984	9740	19,09	3,21	T	T	F	E	M	F	S	M	S
71E7	202704	10688	18,97	3,19	K	N	S	R	M	Y	I	E	S
48B10	102904	5480	18,78	3,16	I	F	F	K	M	L	F	M	S
48D11	120584	6807	17,71	2,98	E	Y	Y	V	M	F	T	V	S
35H3	106224	6092	17,44	2,94	V	S	F	V	M	L	S	M	R
53G10	107784	6188	17,42	2,93	T	N	F	V	M	L	T	V	S
86F1	158624	9145	17,35	2,92	I	I	F	V	M	Y	I	V	I
9C10	114144	6595	17,31	2,91	I	I	Y	V	M	H	S	V	S
6E12	372504	22044	16,9	2,85	E	N	F	I	M	L	F	V	L
2D9	316024	19245	16,42	2,76	K	N	N	I	M	Y	F	E	L
27B10	187344	11465	16,34	2,75	K	N	N	V	M	L	F	E	S
79F8	185264	11801	15,7	2,64	I	N	V	I	M	F	T	E	S
11F4	150824	9996	15,09	2,54	I	Y	F	V	M	Y	F	V	L
60A2	92664	6166	15,03	2,53	E	N	Y	V	M	F	S	E	L
58C8	277144	18603	14,9	2,51	A	S	Y	I	M	L	S	E	L
12C6	289184	20023	14,44	2,43	I	N	S	V	M	L	I	E	L
89F11	84824	5908	14,36	2,42	T	I	Y	I	M	L	S	V	S
96G5	108264	7589	14,27	2,40	V	N	F	I	M	Y	F	M	S
29C2	177904	12921	13,77	2,32	K	N	F	G	M	Y	F	M	R
56D2	145624	10658	13,66	2,30	E	T	F	I	M	F	F	K	S
66C8	184544	13591	13,58	2,29	K	N	V	I	M	L	F	V	L
69D2	445704	34266	13,01	2,19	V	F	F	V	M	Y	T	E	S
75E9	134504	10422	12,91	2,17	I	I	F	G	M	F	S	E	I
97G10	253104	20061	12,62	2,12	E	S	F	I	M	F	F	E	I
36E4	196104	15917	12,32	2,07	I	N	N	K	M	F	F	V	L
7D9	77824	6320	12,31	2,07	K	N	F	V	M	F	F	M	L
1F2	148544	12244	12,13	2,04	K	N	Y	V	M	F	F	M	I
76D10	113664	9729	11,68	1,97	T	N	A	K	M	L	T	E	S
36H2	171144	14761	11,59	1,95	T	N	Y	K	M	H	F	M	R
86G2	69704	6069	11,49	1,93	E	N	F	V	M	L	I	E	R
63D3	145784	13100	11,13	1,87	K	N	I	G	M	F	T	E	L
96A7	83304	7575	11	1,85	V	I	F	V	M	F	S	V	S
36D6	71304	6569	10,85	1,83	I	N	A	G	M	F	T	E	I
91F10	14784	1394	10,6	1,78	T	N	Y	G	M	F	I	E	R
80F10	90864	8609	10,55	1,78	I	S	V	V	M	L	I	E	S
75H8	103304	10074	10,25	1,73	A	N	N	V	M	F	F	M	S
57B8	58384	5800	10,07	1,70	K	I	Y	I	M	F	F	V	I
8D7	73424	7324	10,03	1,69	K	N	F	V	M	L	F	E	L
58A11	53264	5363	9,93	1,67	V	T	Y	I	M	F	T	V	S
7B6	50384	6137	9,84	1,66	K	I	S	E	M	F	I	M	S
87H5	78104	7994	9,77	1,64	E	I	F	I	M	F	F	V	S
70F6	418624	43334	9,66	1,63	K	N	I	G	M	L	T	E	R
26H1	79744	8268	9,64	1,62	E	N	F	I	M	L	S	V	I
78G2	56704	6055	9,36	1,58	V	I	Y	G	M	L	F	E	S
SEQ ID NO: 6 AV + 2SD				9,28	1,56								
SEQ ID NO: 238077				40100	5,94	1,00							

Bảng 6. Các polypeptit được biểu hiện trong HEK293F.

Sự biểu hiện và liên kết của CR6261 được xác định như được mô tả và tỷ lệ của liên kết và các tín hiệu biểu hiện được tính. Các đột biến được bao gồm trong mỗi dòng được thể hiện trong Bảng 4 và 5.

dòng	tín hiệu liên kết CR6261	tín hiệu HTRF	tỷ lệ	sự tăng tỷ lệ cuộn gấp so với trình tự SEQ ID NO:6 gốc
127H1	24150000	327363	73,77	4,25
86B4	19970680	334887	59,63	3,44
171E5	6625080	235511	28,13	1,62
7A7	6191080	242461	25,53	1,47
71H2	21080360	336346	62,67	3,61
220C9	8493560	162872	52,15	3,00
131B5	5725640	139561	41,03	2,36
115A1	9557640	175377	54,50	3,14
74H9	26144240	344988	75,78	4,37
71C4	6413600	214495	29,90	1,72
91C4	8442400	245138	34,44	1,98
113E7	13005960	260748	49,88	2,87
6E12	15326000	309443	49,53	2,85
181H9	11892520	324690	36,63	2,11
SEQ ID NO: 6 AV	5661550	326077	17,36	1,00

Bảng 7. Biến đổi trình tự có trong tự nhiên ở vị trí được chỉ ra ở dạng tỷ lệ % của tổng số các trình tự cho mỗi típ phụ

Vị trí	axit amin	H1	H3	H5	H7
337	V	67	99	19	100
	I	32	1	2	
	T	0,8		3	
	S			73	
	Y			0,1	
	N			0,5	
	A			2	
	G			0,1	
340	I	99		21	98
	V	0,43			
	T	0,03	0,5		
	K		97		
	R		2	47	
	G			29	
	E			0,3	
	S				2
352	F	100	100	100	100
353	I	99,9	100	100	100
402	L	0,1			
	M	100		100	
	T		99,8		100
	S		0,02		

Bảng 8. Tinh chế và độ bền của liên kết mAb của các polypeptit theo sáng chế

	SEQ ID NO:	Thể tích dịch nồi (ml)	Hiệu suất (mg/l dịch nuôi cấy)	Tinh chế từ HP- SEC (%)	Kdapp CR6261 (nM)	Kdapp CR9114 (nM)
s127H1	35	1376	9,0	100,0	130	10
s86B4	36	1380	9,0	96,0	150	13
s55G7	37	1460	18,1	100,0	150	9
s74H9	34	1335	11,3	99,7	130	10
s6E12	38	1479	13,1	90,8	390	34

Bảng 9. Khối lượng phân tử như được xác định bằng SEC-MALS đối với các polypeptit theo sáng chế và các phức hợp của chúng với các đoạn Fab của CR6261 và CR9114. Các trị số theo lý thuyết (theo lý thuyết) được ước tính dựa trên trình tự của polypeptit theo sáng chế (cho là monome) và sự đóng góp thêm của khoảng 10 kDa từ glycan được gắn vào. Khối lượng phân tử của các đoạn Fab của CR6261, CR9114 và CR8020 cũng được xác định bằng SEC-MALS, và lần lượt là 48, 49 và 47 kDa.

	SEQ ID NO:	MW(kDa)		Phức hợp MW với CR6261 (kDa)		Phức hợp MW với CR9114 (kDa)	
		Theo lý thuyết	Quan sát được	Theo lý thuyết	Quan sát được	Theo lý thuyết	Quan sát được
s127H1	35	40	39	87	74	86	83
s86B4	36	40	40	88	75	87	83
s55G7	37	40	40	90	66	87	80
s74H9	34	40	41	89	72	88	83
s6E12	38	40	40	88	67	87	80

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit vùng gốc hemagglutinin (HA) của virus cúm chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 53, 54, 70 hoặc 71:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIAGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQ
NAINGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCY
NAELLVLLNERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDEC
MESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVSGRDYKDDDDKLVPRGSPGSGYIPEA
PRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGHHHHHH (SEQ ID NO: 53),

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIAGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQ
NAINGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCY
NAELLVLLNERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDEC
MESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDG (SEQ ID NO: 54),

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIAGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQ
NAINGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCY
NAELLVLLNERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDEC
MESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQIEG (SEQ ID NO: 70),

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIAGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQ
NAINGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCY
NAELLVLLNERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDEC
MESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSL
GAISFWMCSNGSLQCRICI (SEQ ID NO: 71),

trong đó X₁ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, I, K, V, A, và T;

X₂ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, F, N, S và Y;

X₃ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm D, F, V, Y, A, I, N, S, và T;

X₄ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm I, K, R, T, E, G và V;

X₅ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, K, M, V, R, và T;

X₆ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, H, và L;

X₇ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm A, G, I, R, T, V, F, và S;

X₈ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm F, I, N, S, T, Y, G, E, K, M, và V; và

X₉ là axit amin được chọn từ nhóm bao gồm H, I, L, N, R, và S.

2. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 1, trong đó polypeptit chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 54:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLRN
X₁PSX₂QSQGLFGAIGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADQKSTQNA
INGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYNAEL
LVLLLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKLNNAKEIGNGCFFYHKCNDECMESVK
NGTYDYPKYSEESKLNREKIDG (SEQ ID NO: 54).

3. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 1, trong đó polypeptit chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLRN
X₁PSX₂QSQGLFGAIGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADQKSTQNA
INGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYNAEL
LVLLLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKLNNAKEIGNGCFFYHKCNDECMESVK
NGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQIEG.

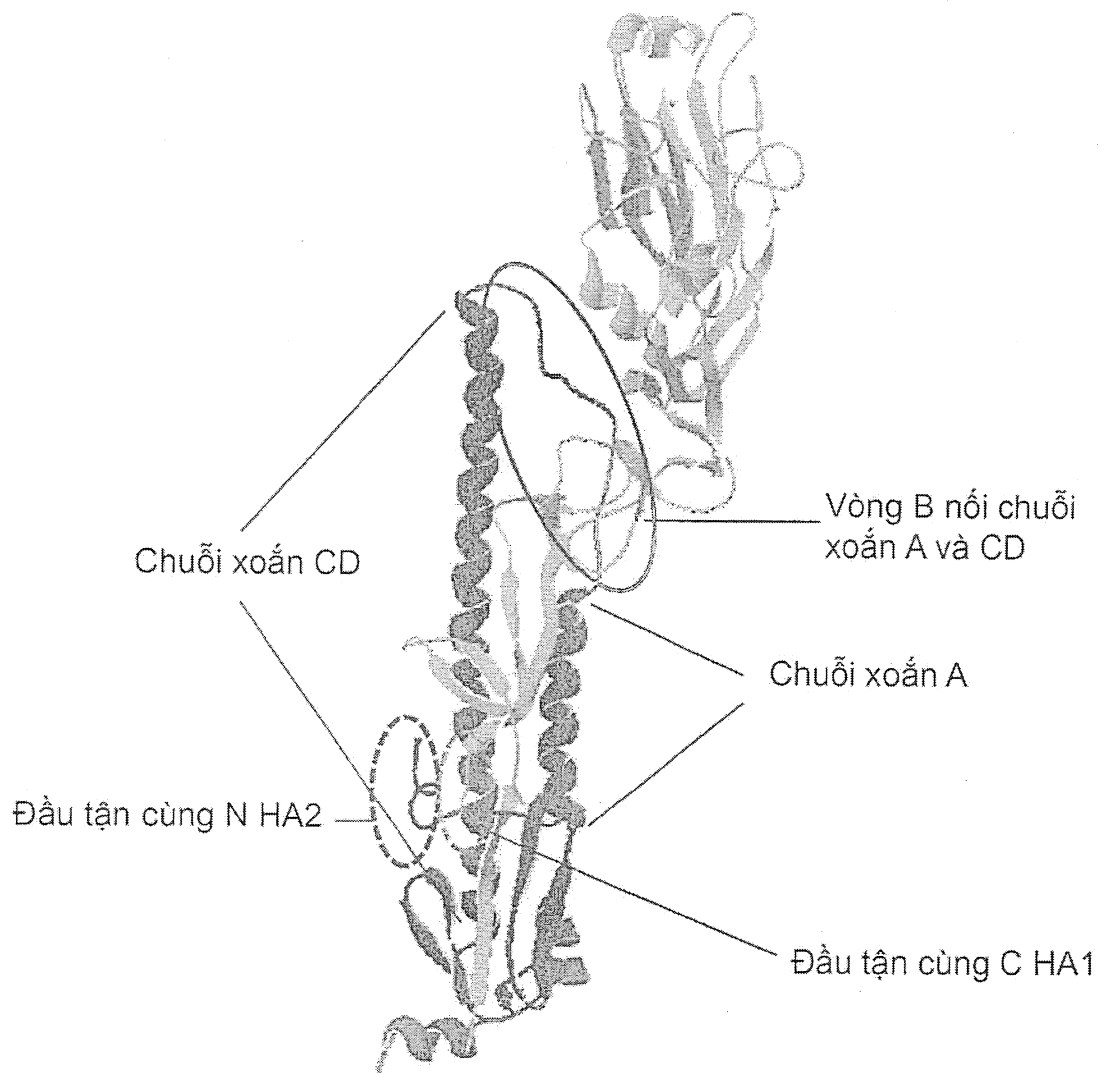
4. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 1, trong đó polypeptit chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71:

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLRN
X₁PSX₂QSQGLFGAIGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADQKSTQNA
INGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYNAEL
LVLLLENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQKLNNAKEIGNGCFFYHKCNDECMESVK
NGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFW
MCSNGSLQCRICI.

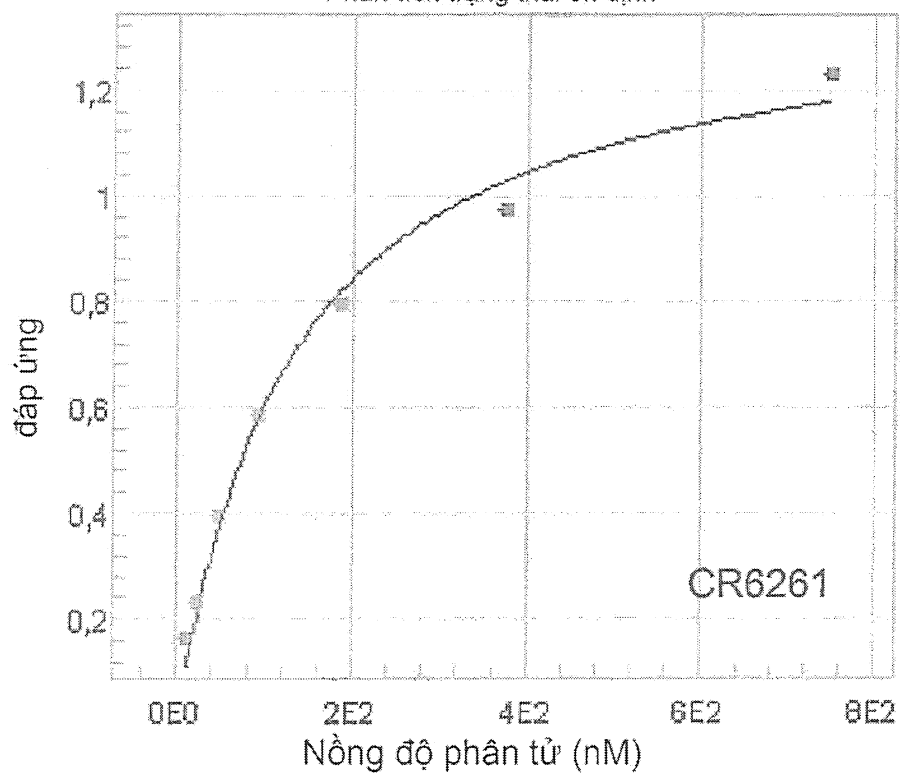
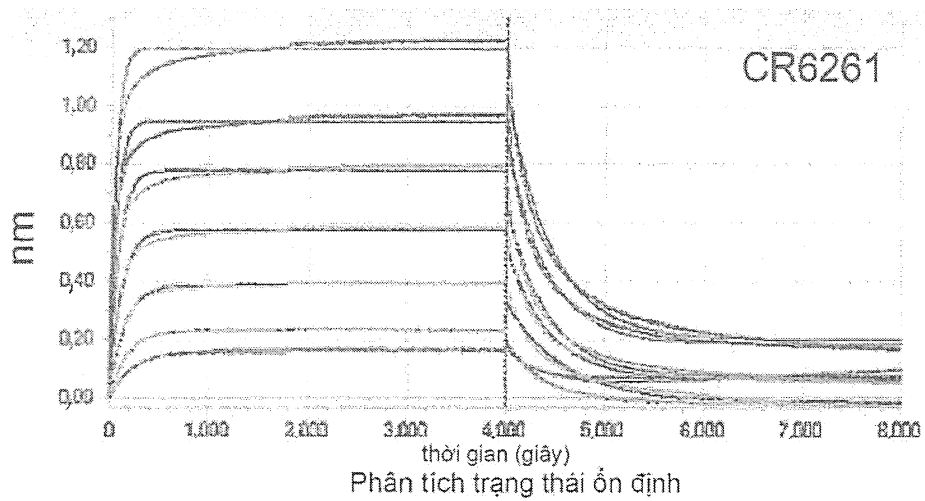
5. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm, trong đó các polypeptit này chứa peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 55-76.

6. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm, trong đó các polypeptit này chứa peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 66 và SEQ ID NO: 73.
7. Phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit theo điểm 1.
8. Vật truyền chứa phân tử axit nucleic theo điểm 7.
9. Chế phẩm chứa polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 1.
10. Vaccine chứa lượng hữu hiệu polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 1.
11. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 6, trong đó polypeptit chứa SEQ ID NO: 55.
12. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 6, trong đó polypeptit chứa SEQ ID NO: 66.
13. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 6, trong đó polypeptit chứa SEQ ID NO: 73.
14. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 1, trong đó polypeptit chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53:
DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLR
NX₁PSX₂QSQGLFGAIGX₃X₄EGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQ
NAINGITNKVNSVIEKX₅NTQX₆TAX₇GKEX₈NKX₉ERMKQIEDKIEEIESKQIWCYN
AELLVLENERLTDFHDSNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFFYHKCNDECM
ESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVSGRDYKDDDDKLVRGSPGSGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWLLSTFLGHHHHHH.
15. Chế phẩm chứa polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 5.
16. Chế phẩm chứa polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 6.
17. Polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 1, trong đó polypeptit vùng gốc HA chứa vùng HA1 của virus cúm và vùng HA2 của virus cúm, và polypeptit vùng gốc HA kháng với sự phân cắt bằng proteaza ở chỗ nối giữa vùng HA1 và vùng HA2.
18. Phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 5.
19. Vật truyền chứa phân tử axit nucleic theo điểm 18.
20. Phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 6.
21. Vật truyền chứa phân tử axit nucleic theo điểm 20.
22. Vaccine chứa lượng hữu hiệu polypeptit vùng gốc HA của virus cúm theo điểm 5.

23. Vacxin chứa lượng hữu hiệu polypeptit vùng gốc HA của virut cúm theo điểm 6.

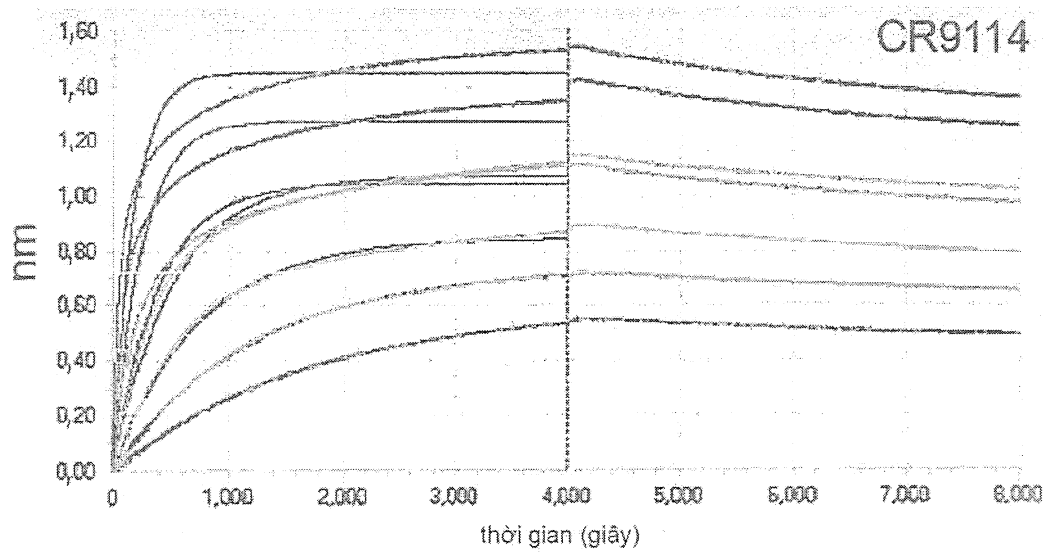


Hình 1

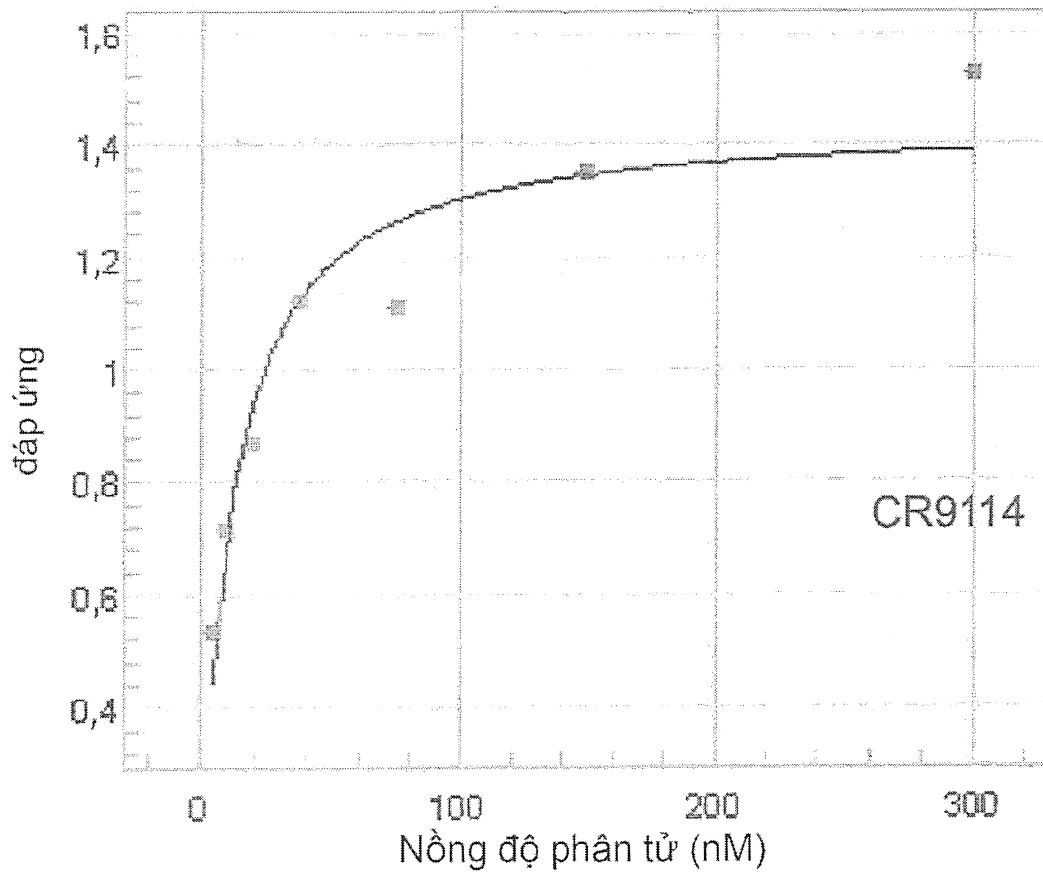


Hình 2A

s127H1 SEQ ID NO: 66

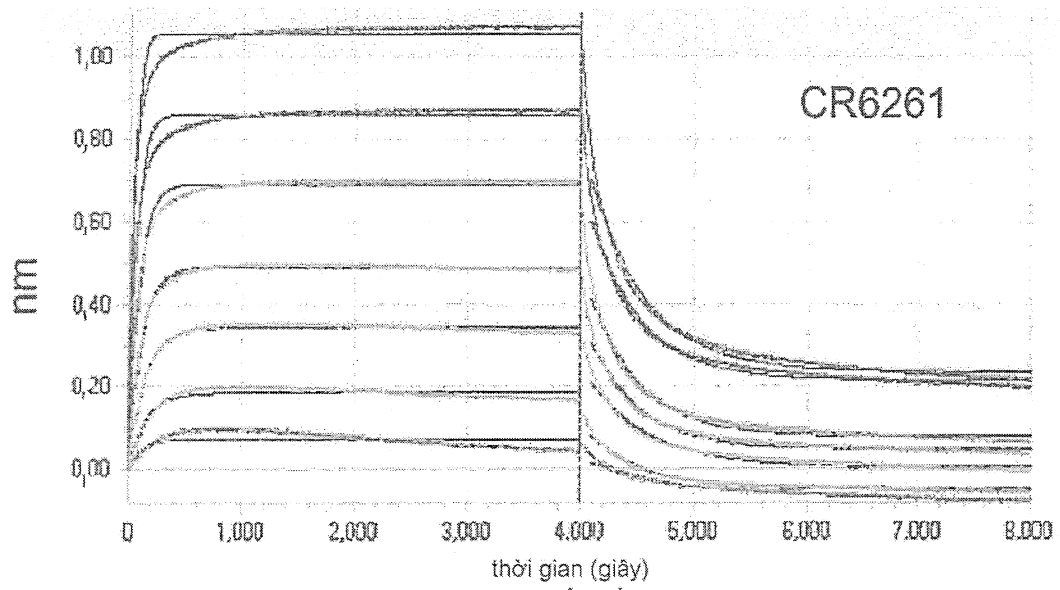


Phân tích trạng thái ổn định

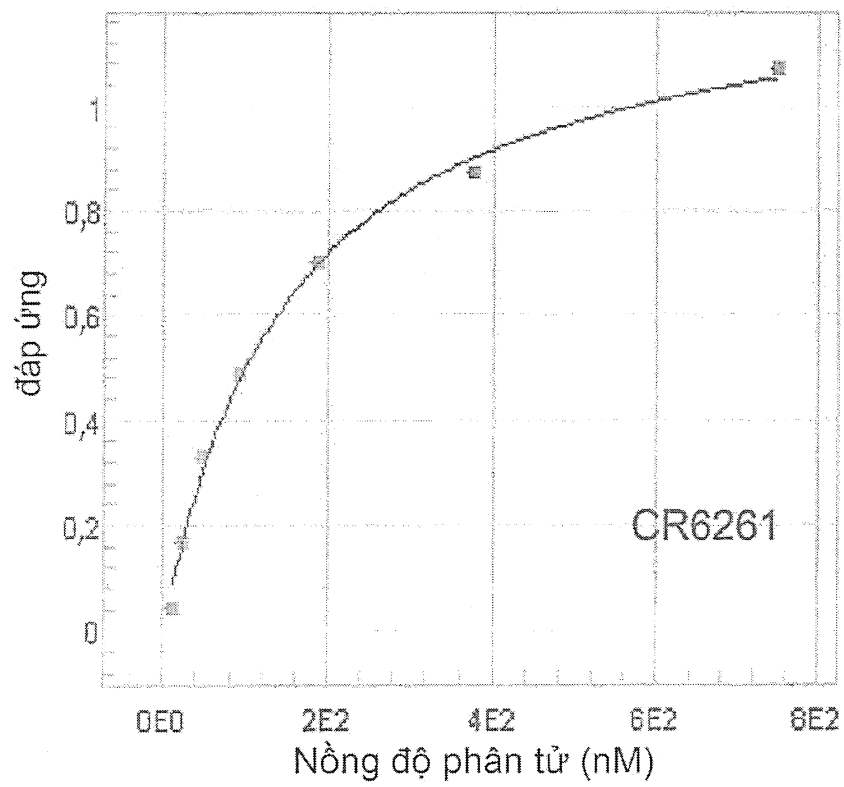


Hình 2A - tiếp

s127H1 SEQ ID NO: 66

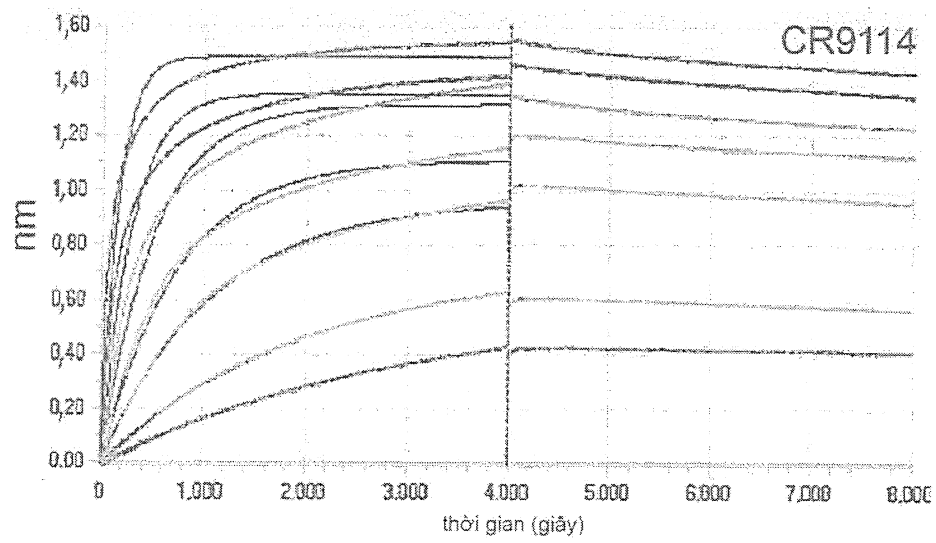


Phân tích trạng thái ổn định

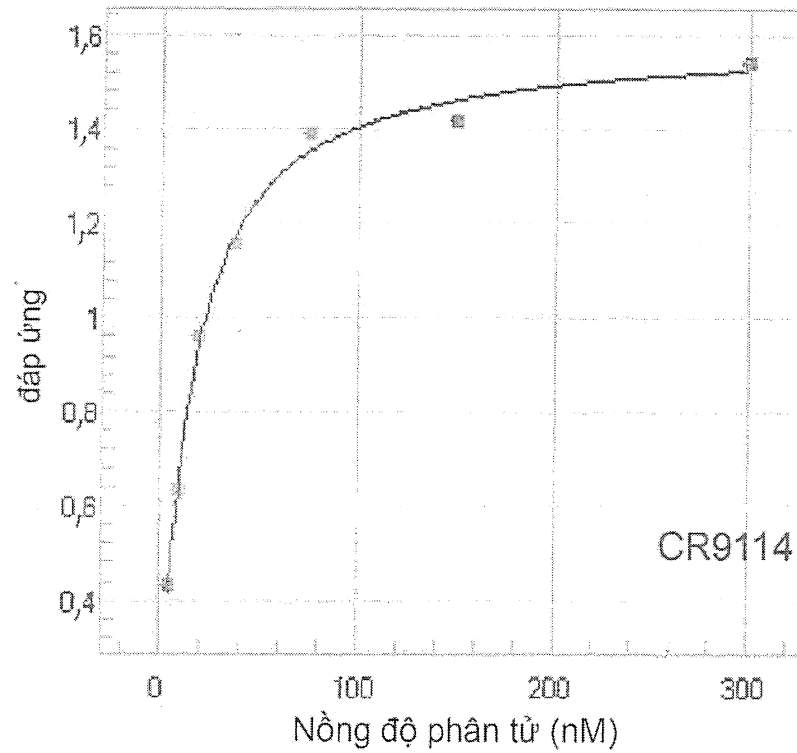


Hình 2B

s86B4 SEQ ID NO: 67

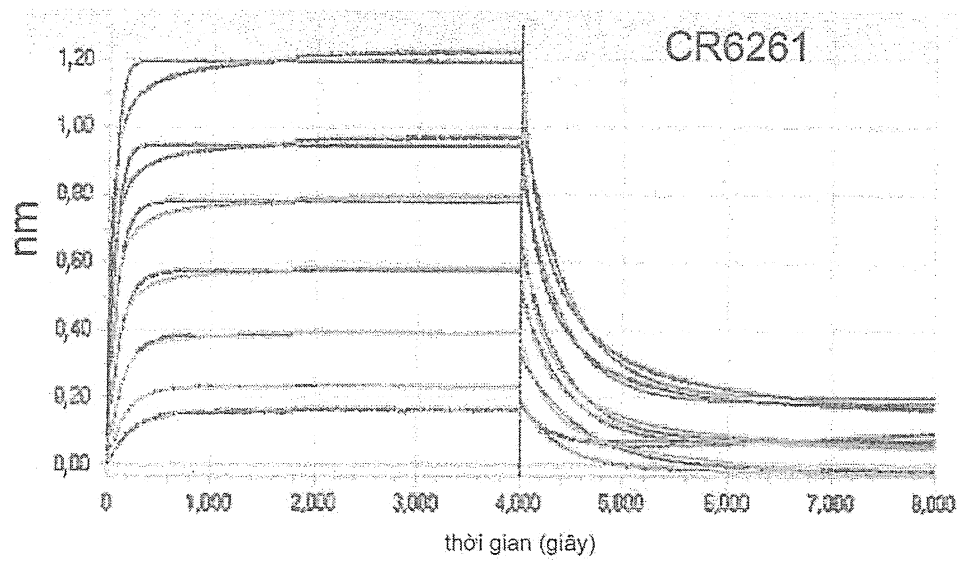


Phân tích trạng thái ổn định

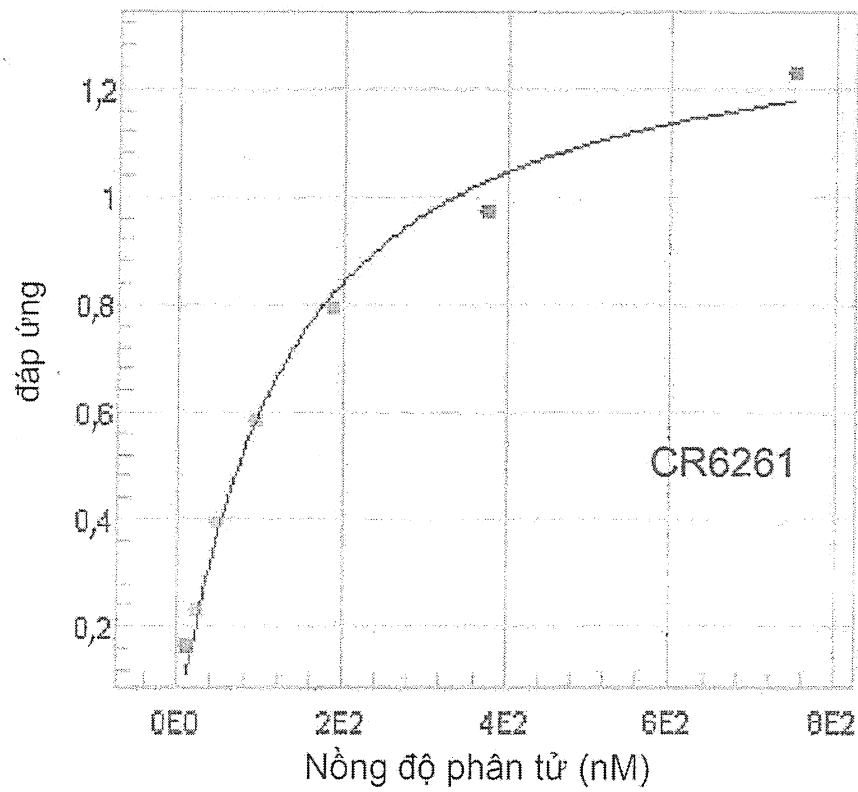


Hình 2B - tiếp

s86B4 SEQ ID NO: 67

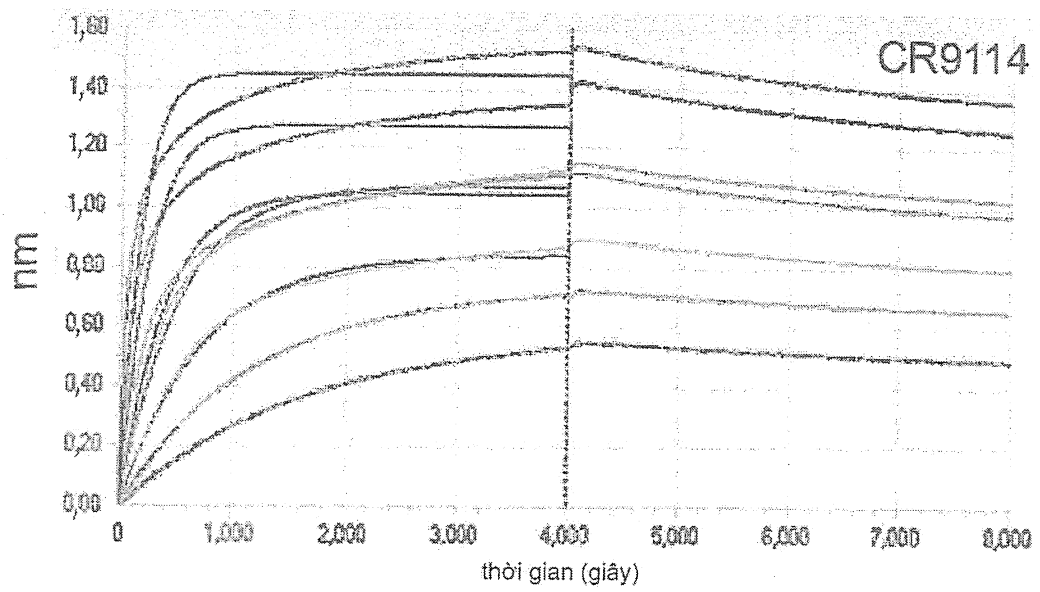


Phân tích trạng thái ổn định

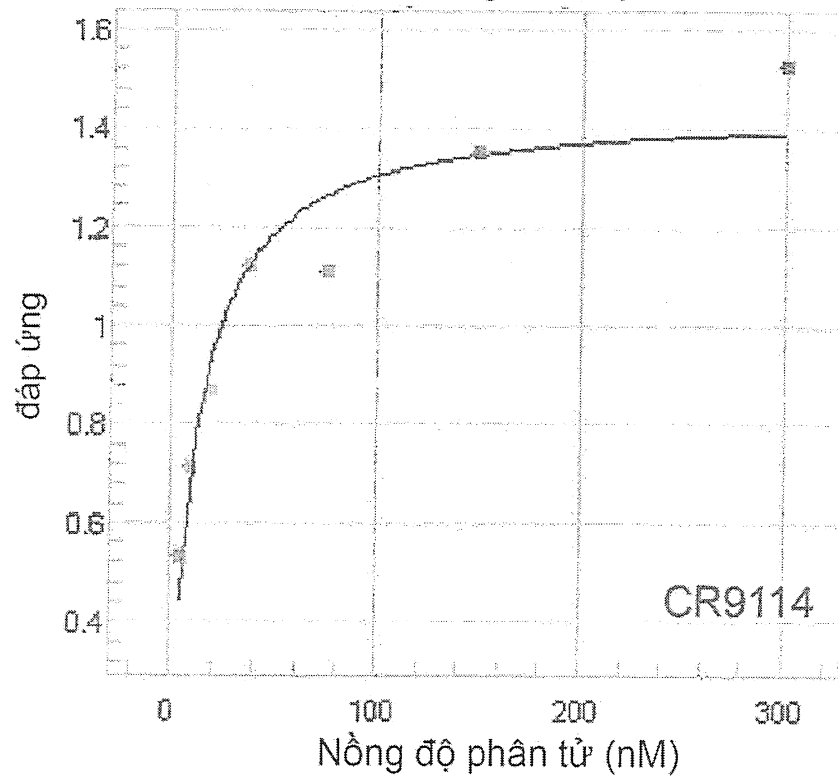


Hình 2C

s74H9 SEQ ID NO: 65

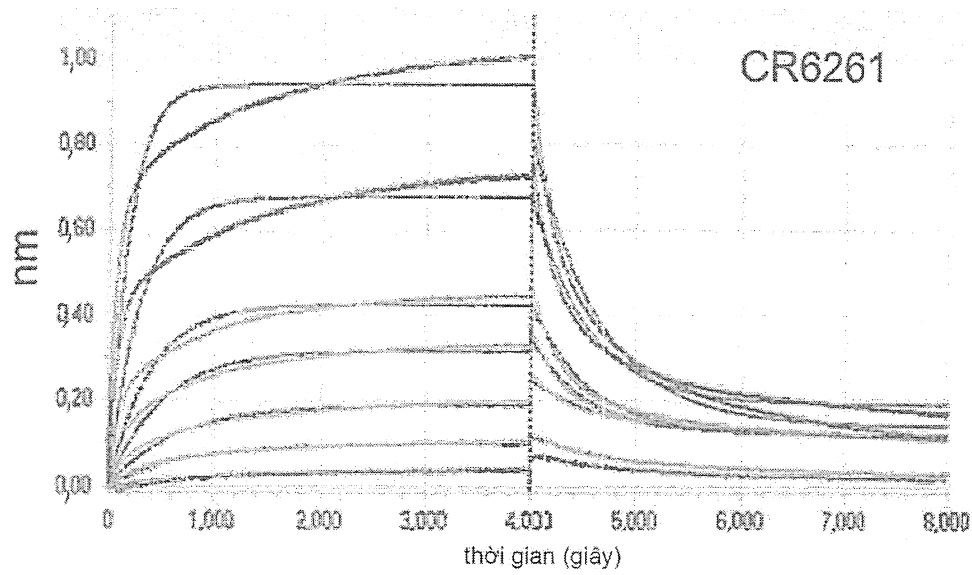


Phân tích trạng thái ổn định

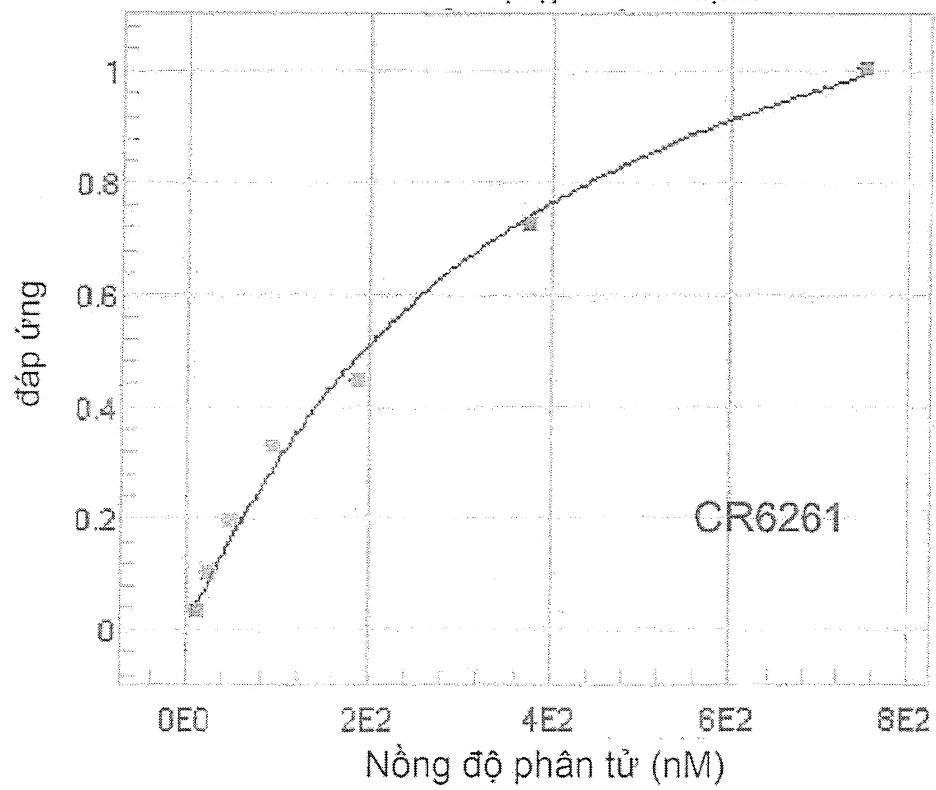


Hình 2C - tiếp

s74H9 SEQ ID NO: 65

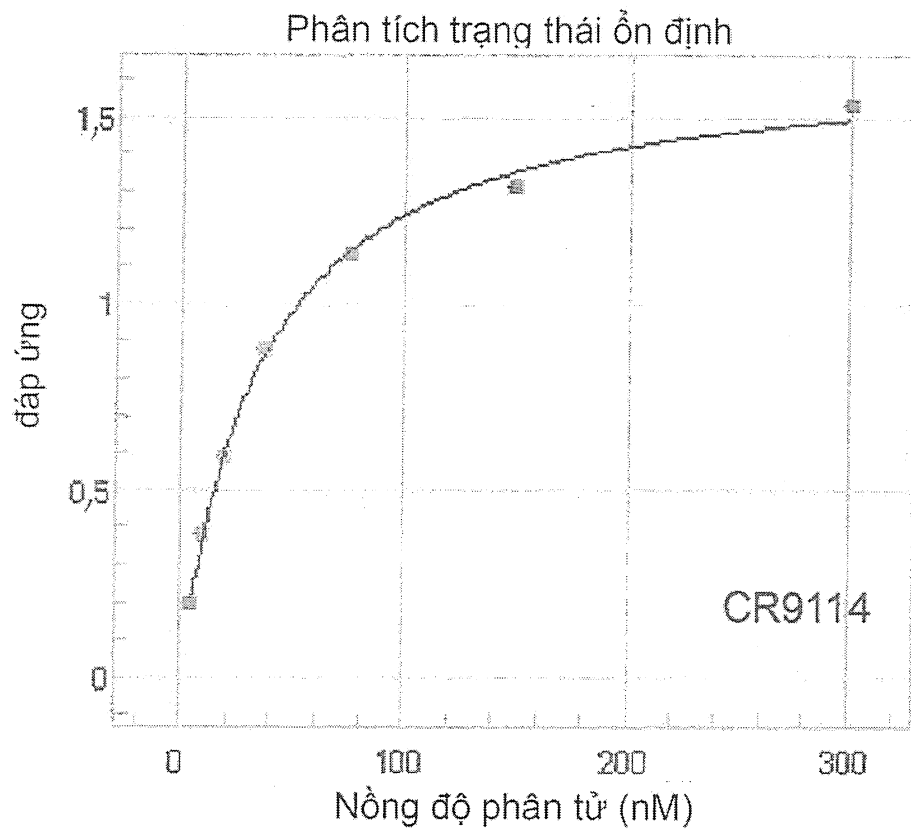
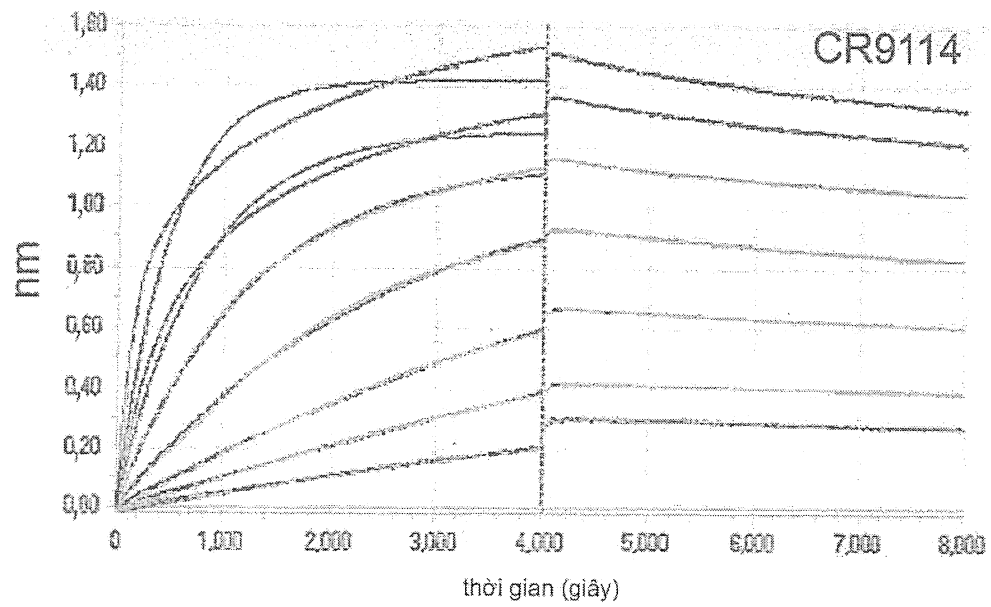


Phân tích trạng thái ổn định



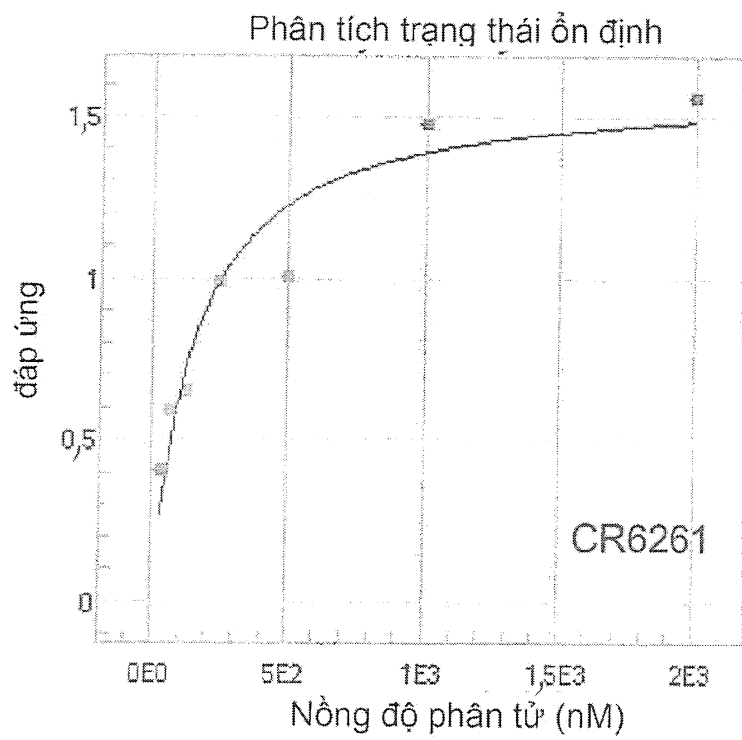
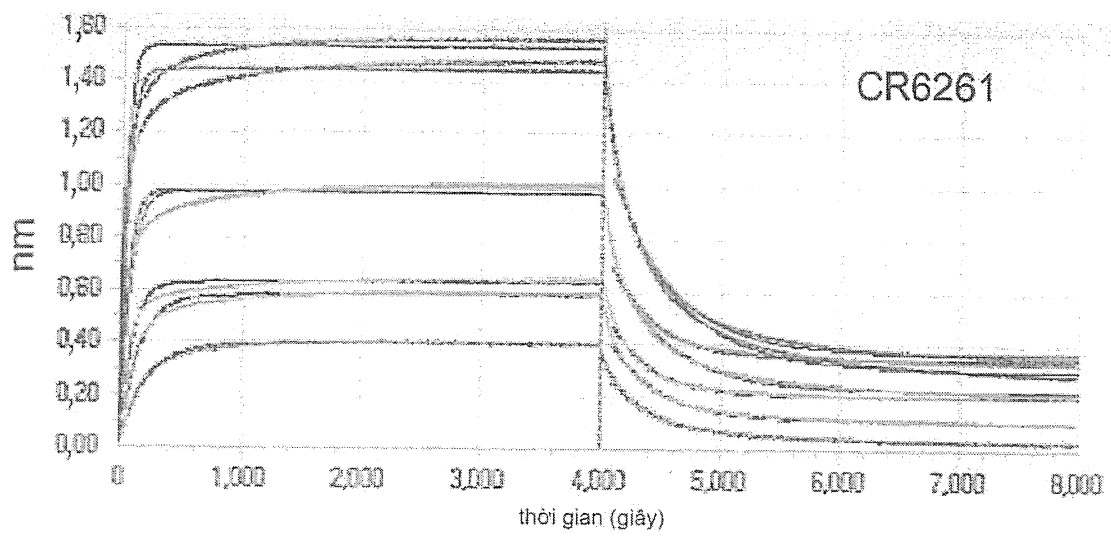
Hình 2D

s6E12 SEQ ID NO: 69



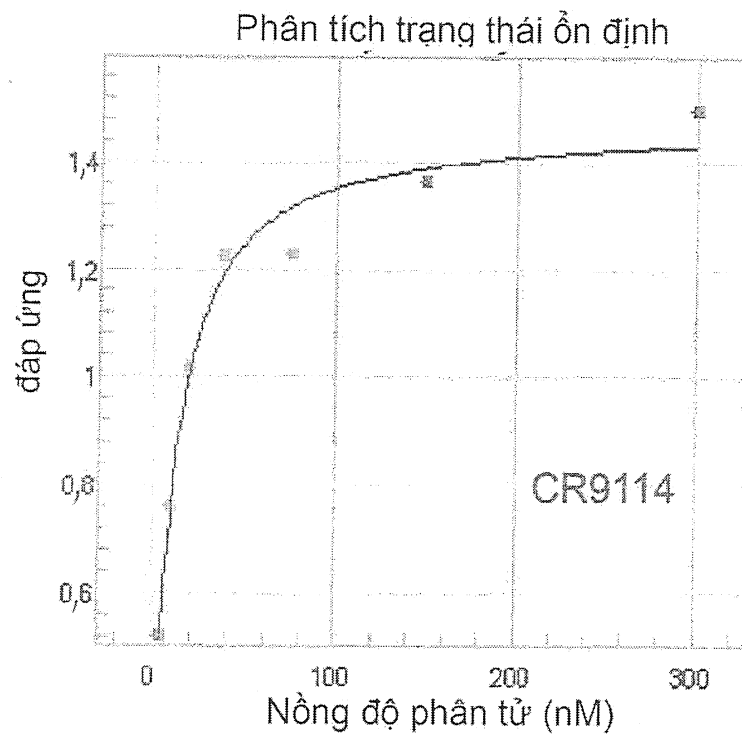
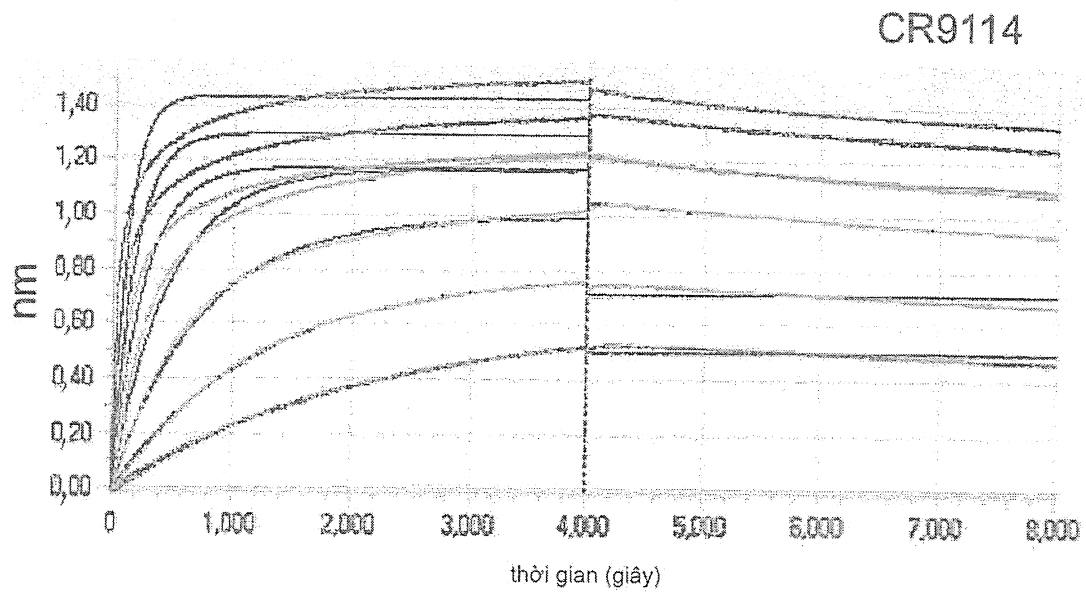
Hình 2D - tiếp

s6E12 SEQ ID NO: 69



Hình 2E

s55G7 SEQ ID NO: 68

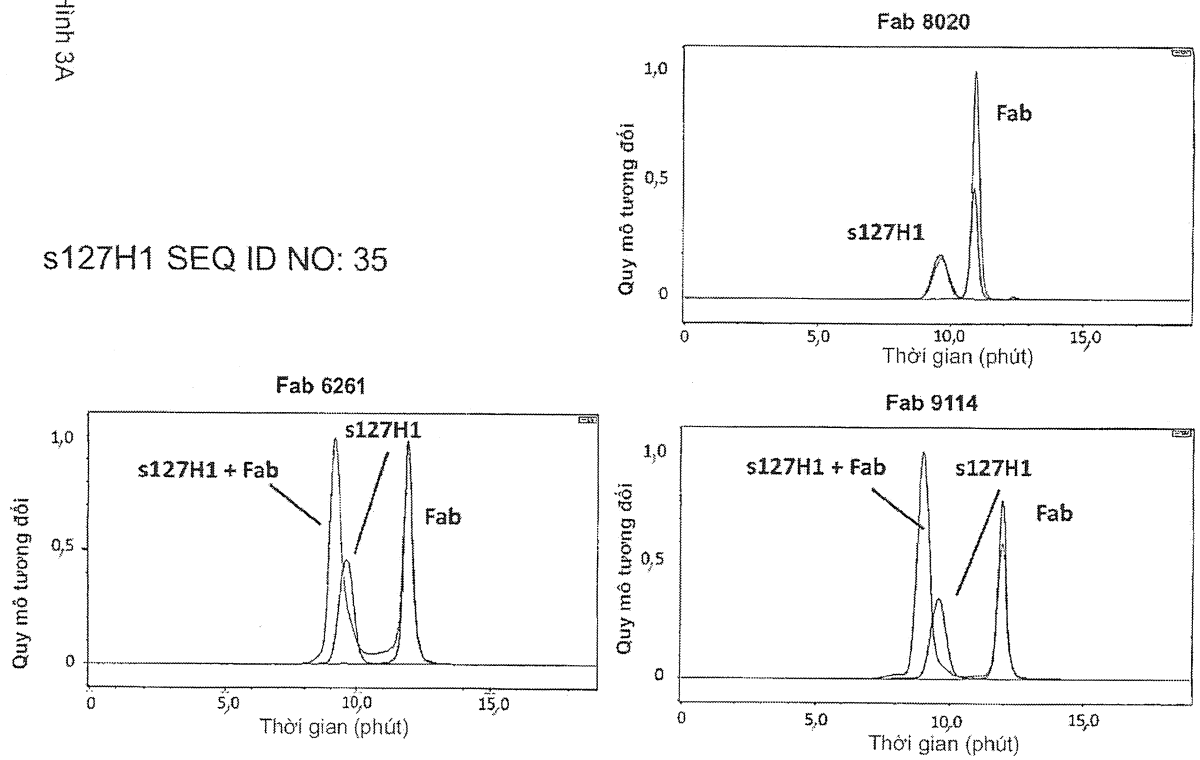


Hình 2E - tiếp

s55G7 SEQ ID NO: 68

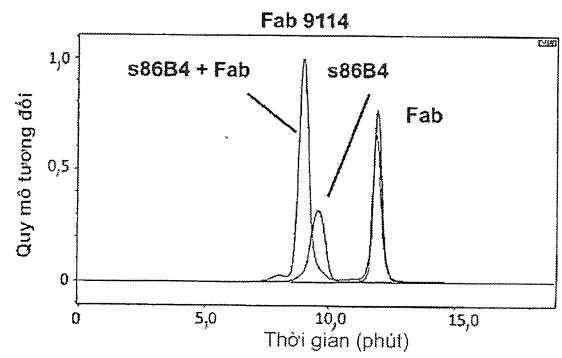
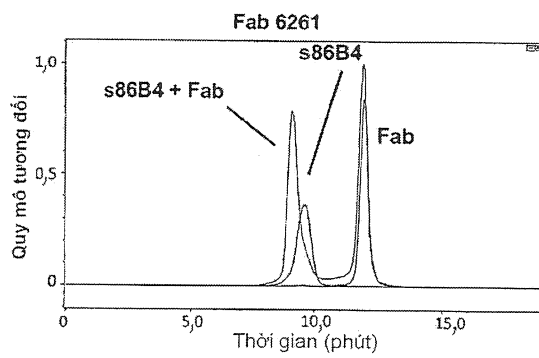
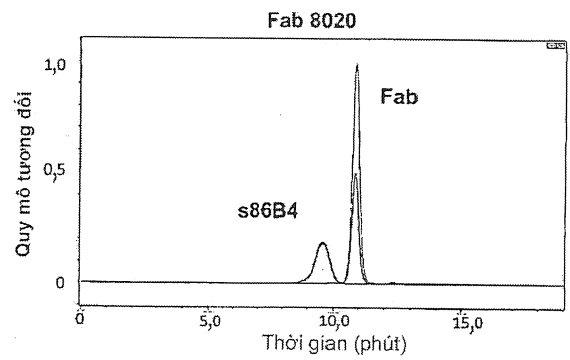
Hình 3A

s127H1 SEQ ID NO: 35



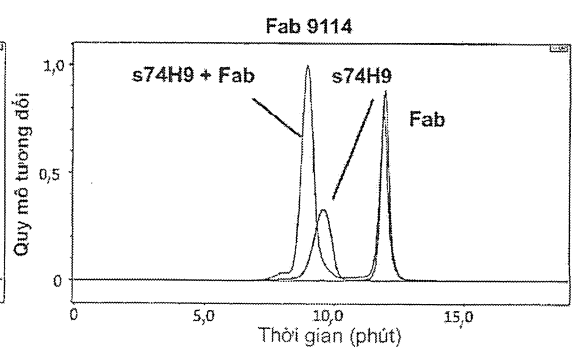
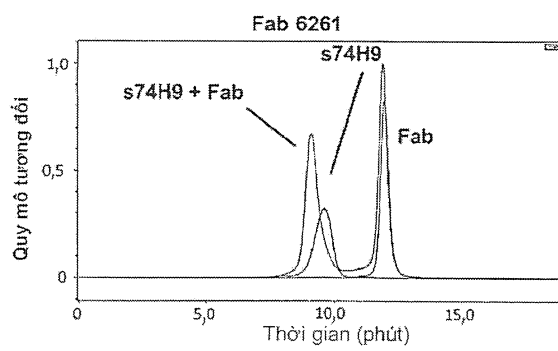
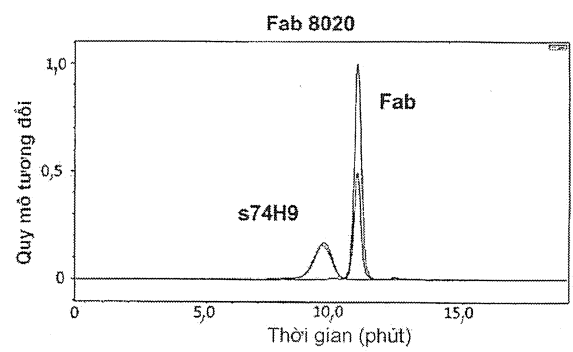
Hình 3B

s86B4 SEQ ID NO: 36



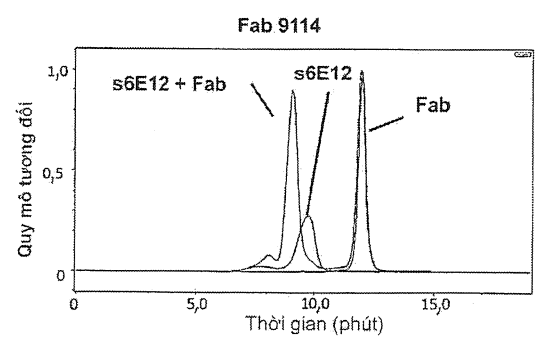
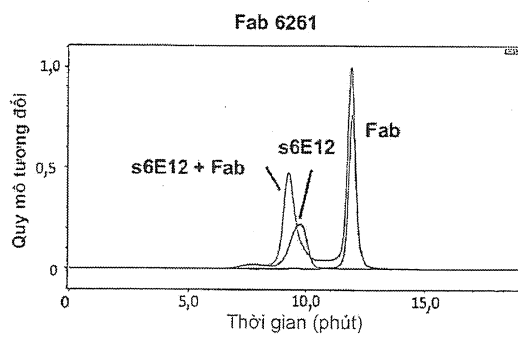
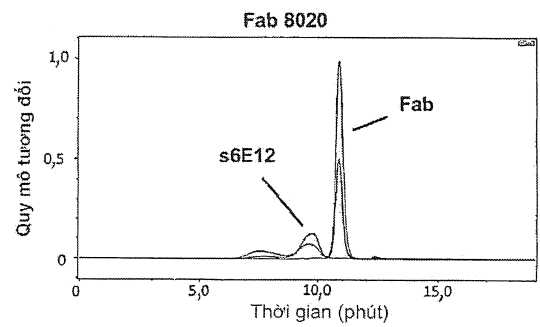
Hình 3C

s74H9 SEQ ID NO: 34



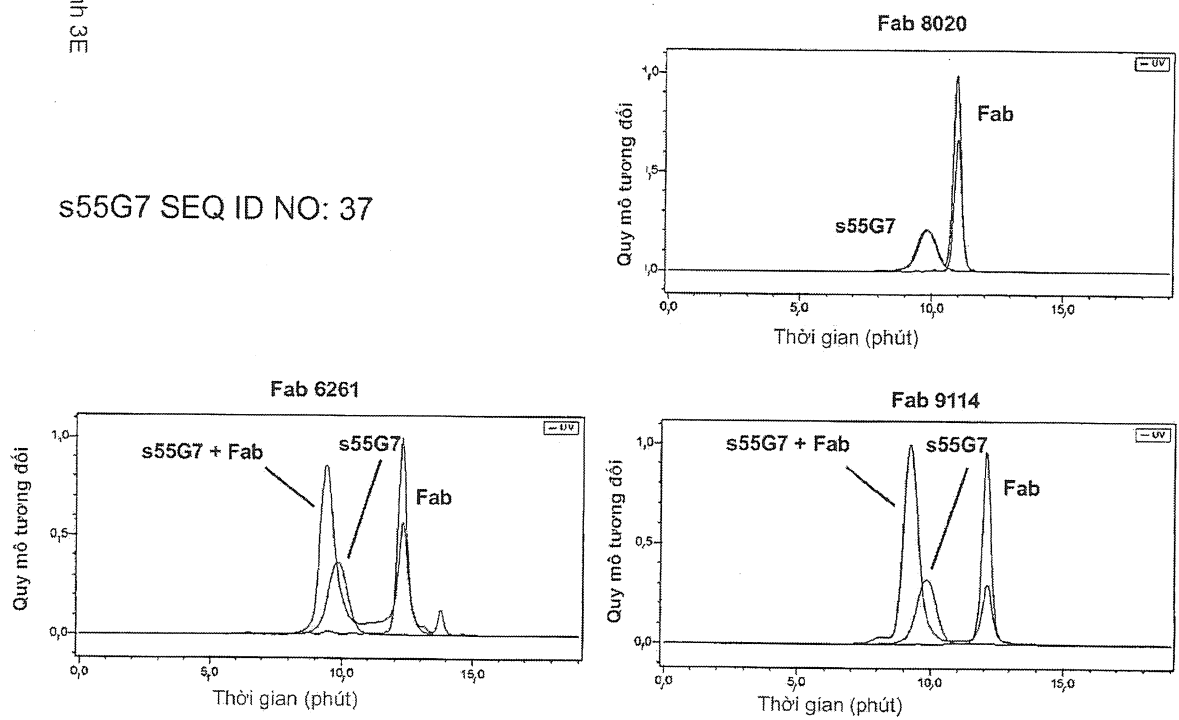
Hình 3D

s6E12 SEQ ID NO: 38

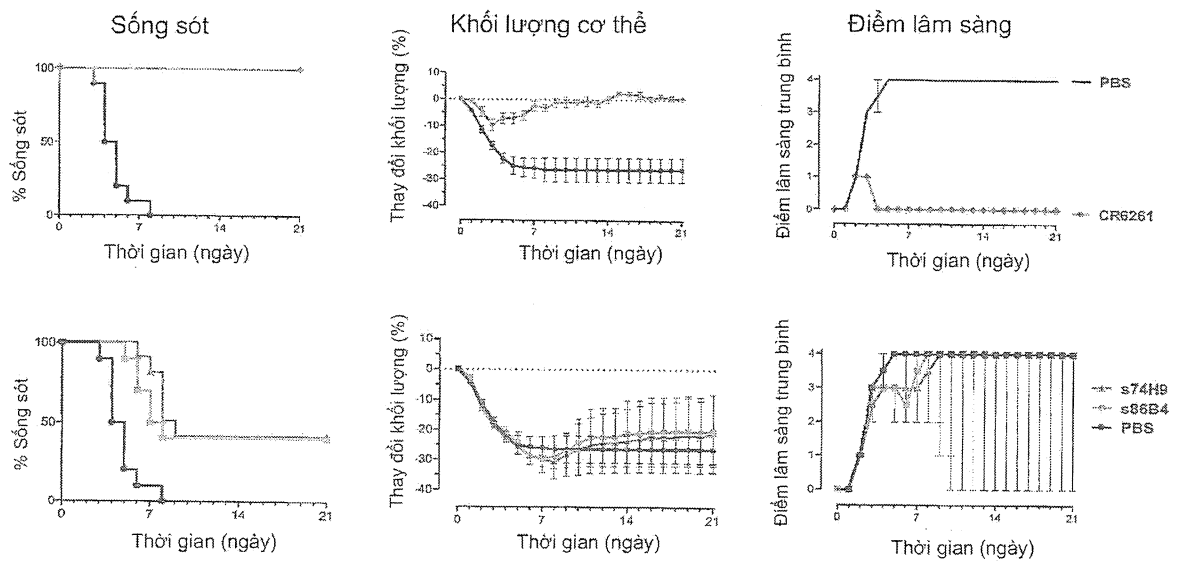


Hình 3E

s55G7 SEQ ID NO: 37

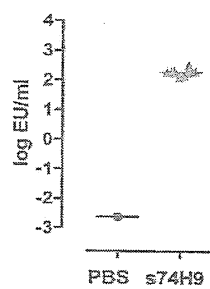


Hình 4A

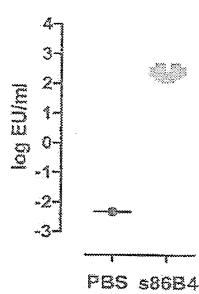


Hình 4B

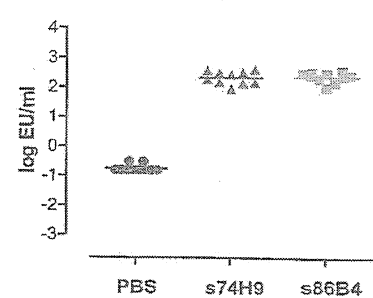
Kháng nguyên ELISA
s74H9



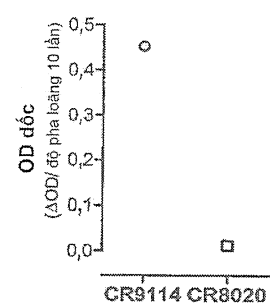
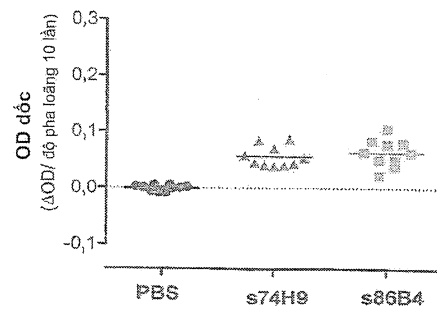
s86B4



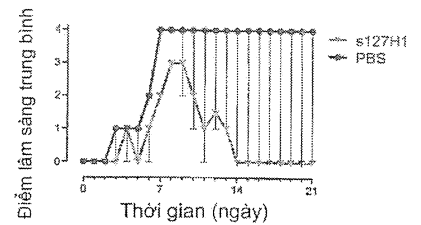
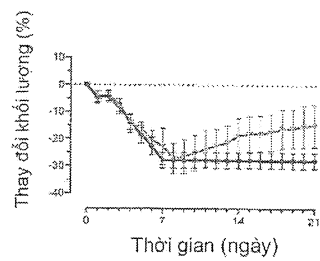
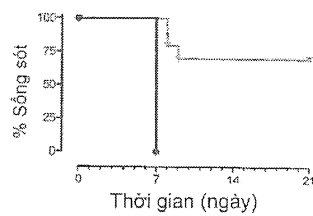
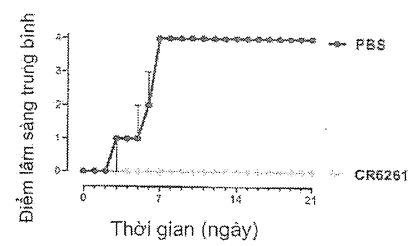
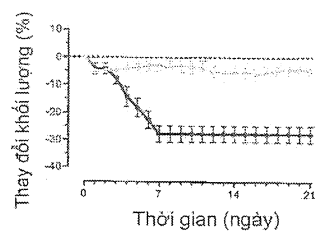
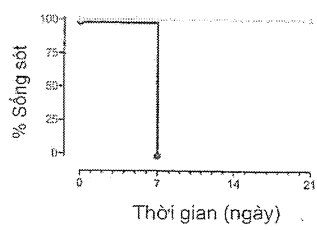
HA chiều dài đầy đủ
H1N1 A/Brisbane/59/07



ELISA cạnh tranh CR9114



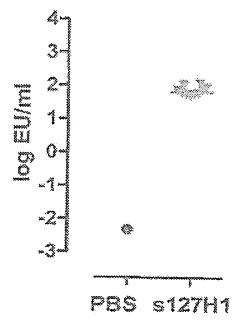
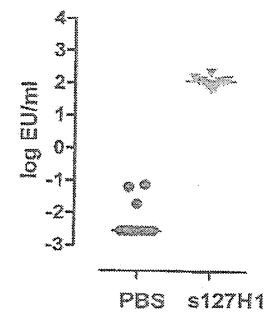
Hình 5A



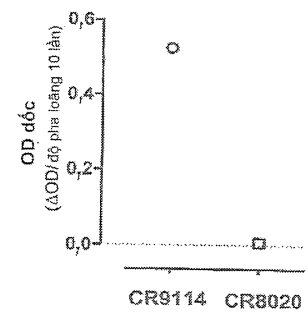
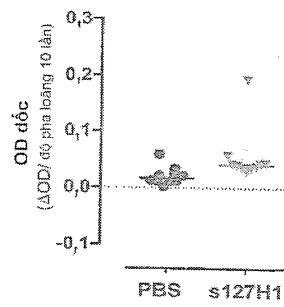
Hình 5B

Kháng nguyên ELISA

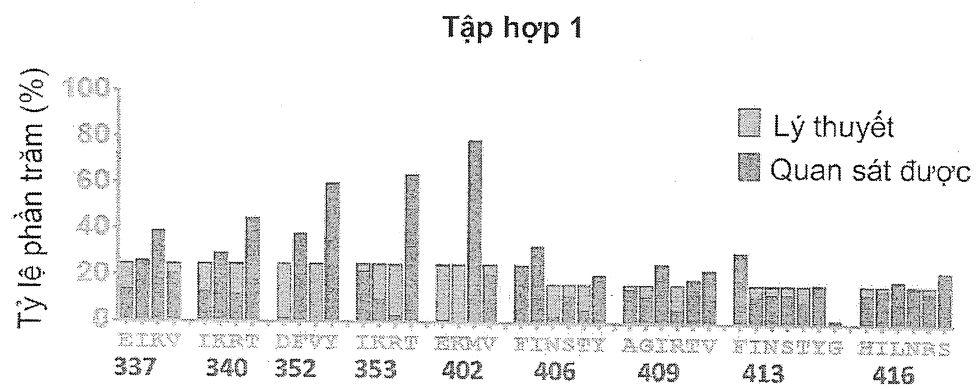
s127H1

HA chiều dài đầy đủ
H1N1 A/Brisbane/59/07

ELISA cạnh tranh CR9114

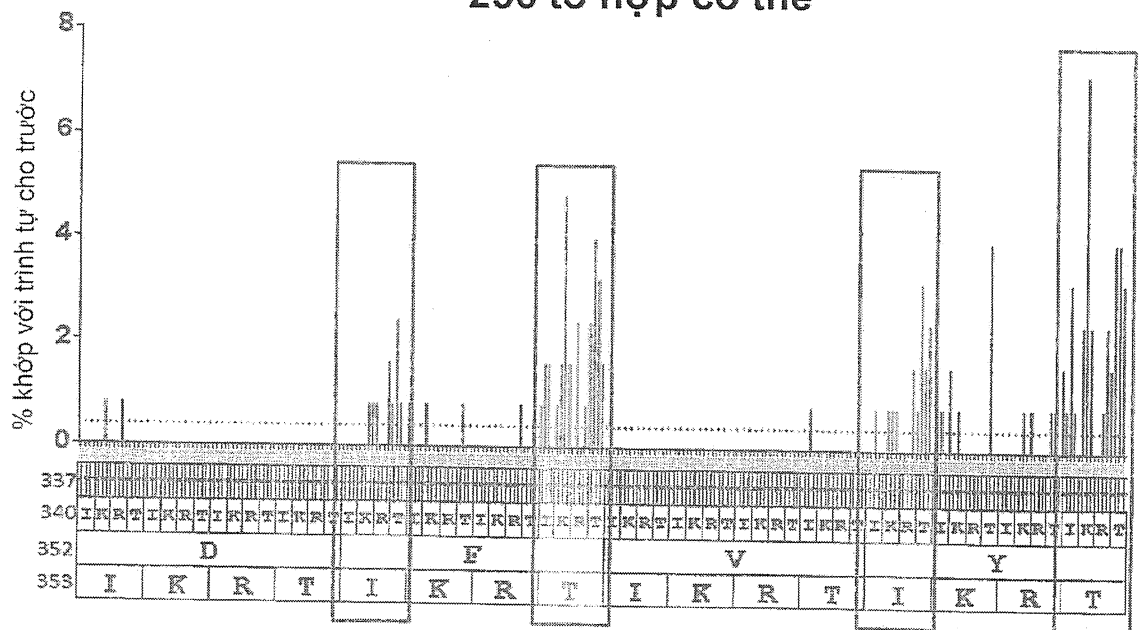


Hình 6

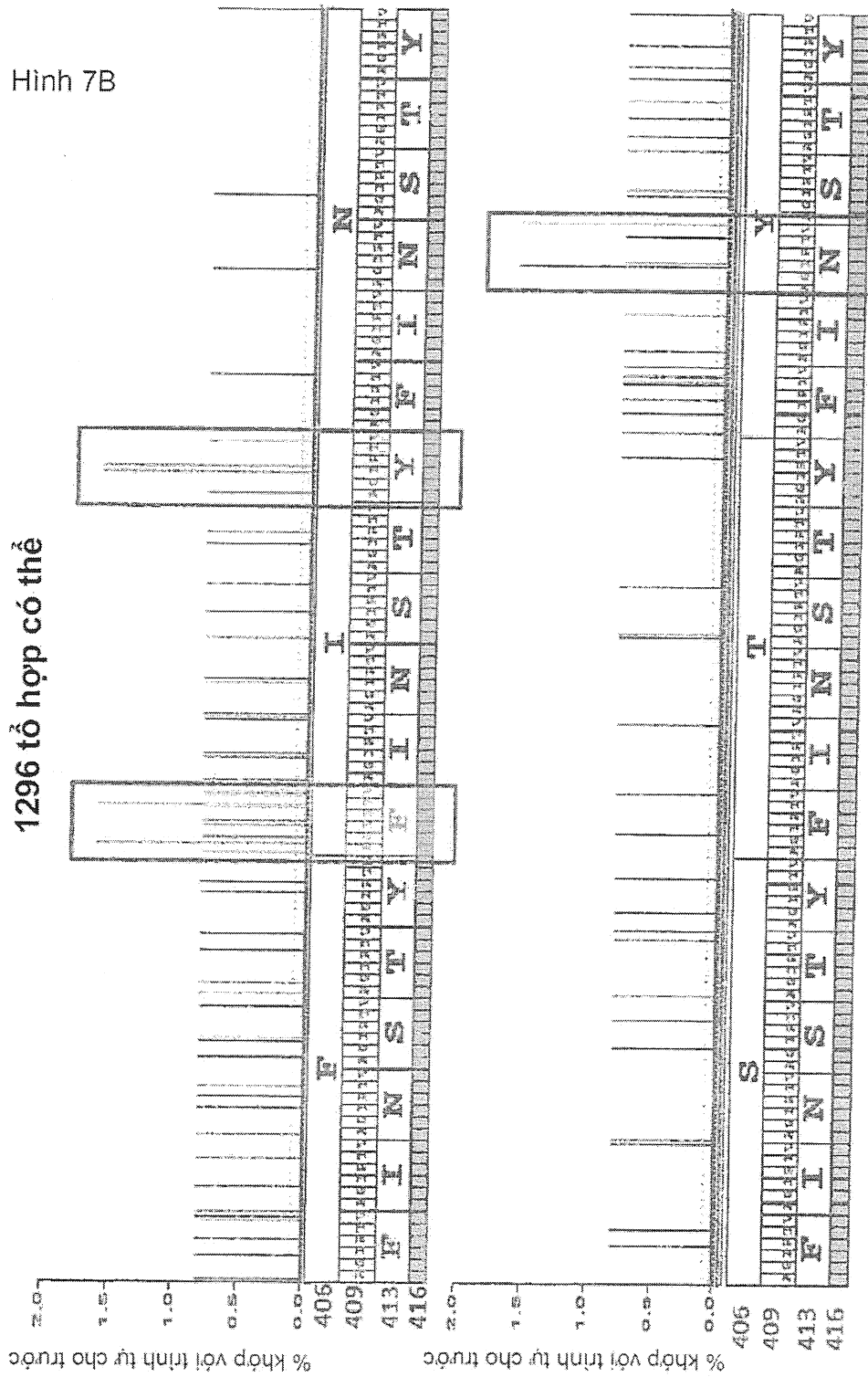


Hình 7A

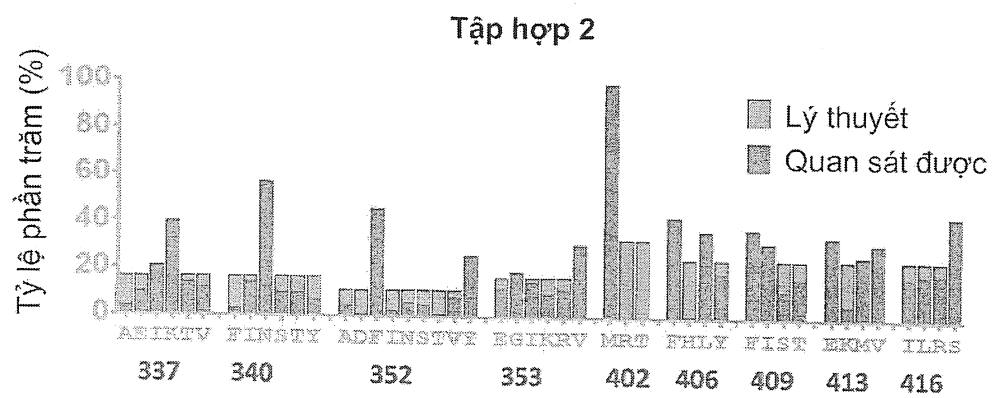
Tập hợp 1 - Miền peptit dung hợp

256 tổ hợp có thể

Tập hợp 1 - Vùng vòng B
1296 tổ hợp có thể

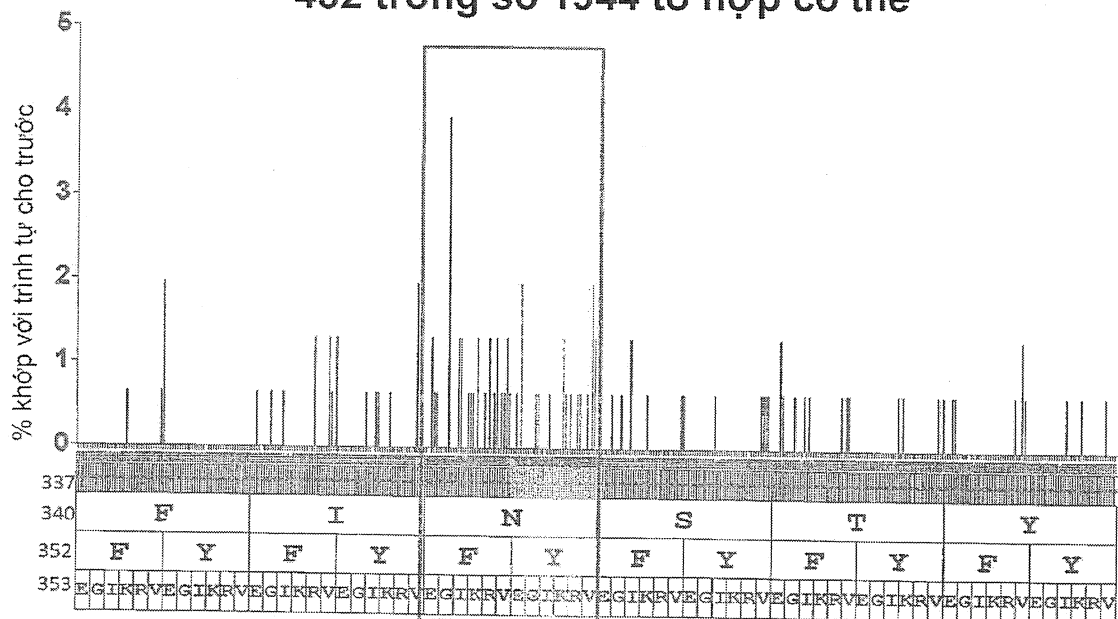


Hình 8



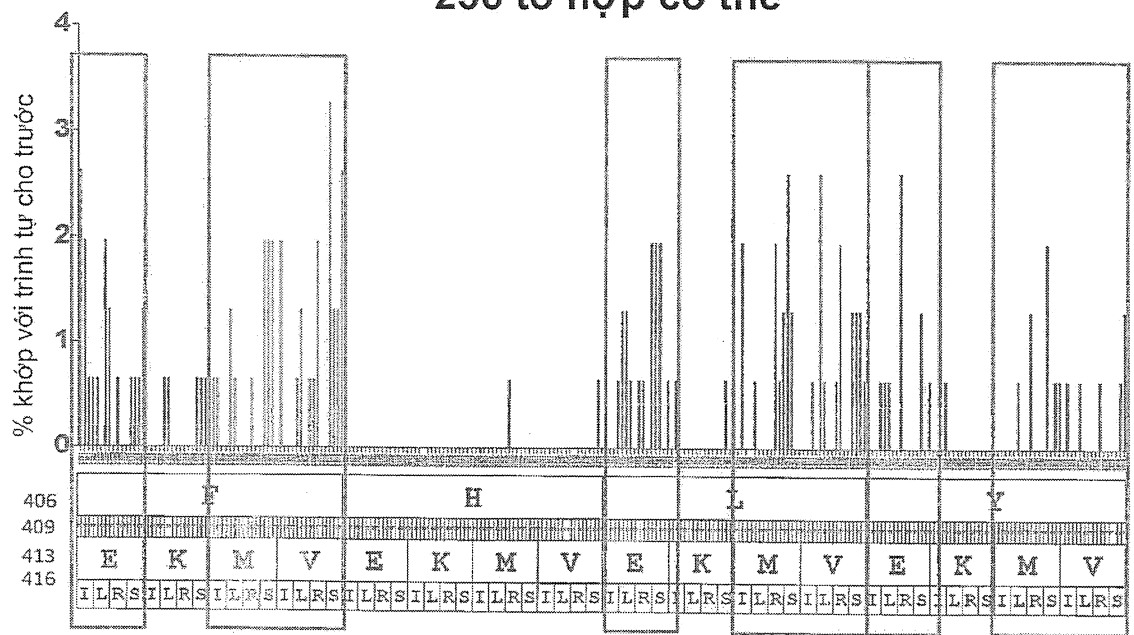
Hình 9A

Tập hợp 2 - Miền peptit dung hợp

432 trong số 1944 tổ hợp có thể

Hình 9B

Tập hợp 2 - Vùng vòng B

256 tổ hợp có thể

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Crucell Holland B.V.
 <120> VACXIN VIRUT CÚM VÀ SỬ DỤNG VACXIN NÀY
 <130> 0215 WO 00 ORD
 <140> PCT/EP2014/060997
 <141> 2014-05-27
 <160> 76
 <170> PatentIn phiên bản 3.5
 <210> 1
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> H1 Chiều dài đủ (A/Brisbane/59/2007)
 <400> 1

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Val Glu Lys Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly His Phe

100					105					110					
Ala	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe
		115					120					125			
Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Thr
	130					135					140				
Val	Thr	Gly	Val	Ser	Ala	Ser	Cys	Ser	His	Asn	Gly	Glu	Ser	Ser	Phe
145					150					155					160
Tyr	Arg	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Gly	Lys	Asn	Gly	Leu	Tyr	Pro	Asn
			165						170					175	
Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Ala	Asn	Asn	Lys	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu
		180						185					190		
Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Asn	Ile	Gly	Asp	Gln	Lys	Ala	Leu	Tyr
	195						200					205			
His	Thr	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Ser	Ser	His	Tyr	Ser	Arg
	210					215					220				
Lys	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Lys	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Glu
225					230					235					240
Gly	Arg	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Asp	Thr	Ile
			245						250					255	
Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Arg	Tyr	Ala	Phe	Ala
		260						265					270		
Leu	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ile	Asn	Ser	Asn	Ala	Pro	Met
		275					280					285			
Asp	Lys	Cys	Asp	Ala	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Gln	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser
	290					295					300				

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Ile
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn

500

505

510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 2
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4

<400> 2

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met

			85					90					95		
Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly
		100						105					110		
Tyr	Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asn	Gly	Ile	Thr
		115					120					125			
Asn	Lys	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Ser	Thr	Ala
		130				135					140				
Thr	Gly	Lys	Glu	Gly	Asn	Lys	Ser	Glu	Arg	Met	Lys	Gln	Ile	Glu	Asp
145					150					155					160
Lys	Ile	Glu	Glu	Ile	Glu	Ser	Lys	Gln	Ile	Trp	Cys	Tyr	Asn	Ala	Glu
				165					170						175
Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Glu	Arg	Thr	Leu	Asp	Phe	His	Asp	Ser
			180					185					190		
Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Lys	Ser	Gln	Leu	Lys	Asn	Asn
		195					200					205			
Ala	Lys	Glu	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys	Cys	Asn
		210				215					220				
Asp	Glu	Cys	Met	Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Lys
225					230					235					240
Tyr	Ser	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Asn	Arg	Glu	Lys	Ile	Asp	Gly	Val	Lys
				245					250					255	
Leu	Glu	Ser	Met	Gly	Val	Tyr	Gln	Ile	Leu	Ala	Ile	Tyr	Ser	Thr	Val
			260					265						270	
Ala	Ser	Ser	Leu	Val	Leu	Leu	Val	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Ser	Phe	Trp
			275				280					285			

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 290 295 300

<210> 3
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> foldon

<400> 3

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu
 1 5 10

<210> 4
 <211> 54
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> FLAG-trombin-foldon-HIS

<400> 4

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

Ser Pro Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala
 20 25 30

Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly
 35 40 45

His His His His His His
 50

<210> 5
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng trime hóa

<400> 5

Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln
 1 5 10 15

<210> 6

<211> 292

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4 không có trình tự dẫn đầu và có FLAG-trombin-foldon-HIS

<400> 6

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

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

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Ser Thr Ala Thr
 115 120 125

Gly Lys Glu Gly Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Ser Gly
 225 230 235 240

Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Leu Val Pro Arg Gly Ser Pro
 245 250 255

Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val
 260 265 270

Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly His His
 275 280 285

His His His His
 290

<210> 7

<211> 89

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự dẫn đầu yếu tố alpha

<400> 7

Met Arg Phe Pro Ser Ile Phe Thr Ala Val Leu Phe Ala Ala Ser Ser
 1 5 10 15

Ala Leu Ala Ala Pro Val Asn Thr Thr Thr Glu Asp Glu Thr Ala Gln
 20 25 30

Ile Pro Ala Glu Ala Val Ile Gly Tyr Ser Asp Leu Glu Gly Asp Phe
 35 40 45

Asp Val Ala Val Leu Pro Phe Ser Asn Ser Thr Asn Asn Gly Leu Leu
 50 55 60

Phe Ile Asn Thr Thr Ile Ala Ser Ile Ala Ala Lys Glu Glu Gly Val
 65 70 75 80

Ser Leu Glu Lys Arg Glu Ala Glu Ala
 85

<210> 8

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> H1 HA2 trình tự axit amin nối gốc đầu tận cùng C của chuỗi xoắn A và gốc đầu tận cùng N của chuỗi xoắn CD

<400> 8

Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn His Lys Leu
 1 5 10 15

Glu Lys Arg

<210> 9

<211> 121
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR6261 VH

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Pro Phe Arg Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Asp Phe Ala Gly Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys His Met Gly Tyr Gln Val Arg Glu Thr Met Asp Val Trp Gly
 100 105 110

Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR6261 VL PROTEIN

<400> 10

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asp
20 25 30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asn Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Arg Pro
85 90 95

Thr Ala Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 11
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SC09-114 VH PROTEIN

<400> 11

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ser Ser Gly Gly Thr Ser Asn Asn Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Met
35 40 45

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Ala Asp Ile Phe Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 12

<211> 110

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> SC09-114 VL PROTEIN

<400> 12

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ala Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asp Ser Asn Ile Gly Arg Arg
20 25 30

Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Gln Arg Pro Ser Val Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Lys Gly Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 13
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> SC08-057 VH PROTEIN

<400> 13

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Asp Ser Val Ile
 20 25 30

Phe Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Cys Val
 35 40 45

Ser Ile Ile Tyr Ile Asp Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Met Gly Thr Val Phe Leu
 65 70 75 80

Glu Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Thr Glu Ser Gly Asp Phe Gly Asp Gln Thr Gly Pro Tyr His Tyr Tyr
 100 105 110

Ala Met Asp Val
 115

<210> 14
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> SC08-057 VL PROTEIN

<400> 14

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Asp Ile Gly Gly Tyr
 20 25 30

Asn Ala Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Thr Ser Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Ala Ser Arg Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala His Tyr Tyr Cys Cys Ser Phe Ala Asp Ser
 85 90 95

Asn Ile Leu Ile
 100

<210> 15

<400> 15
 000

<210> 16

<400> 16
 000

<210> 17

<211> 111
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> SC08-020 VH

<400> 17

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Thr Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Phe
 20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Ala Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Met Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Pro Pro Leu Phe Tyr Ser Ser Trp Ser Leu Asp Asn
 100 105 110

<210> 18
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> SC08-020 VL

<220>
 <221> dấu hiệu tạp
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<400> 18

Glu Ile Val Xaa Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Met Asn
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Ile Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Ala Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro
 85 90 95

Arg Thr

<210> 19

<400> 19
000

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Đuôi His

<400> 20

His His His His His His His
 1 5

<210> 21
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Đuôi His

<400> 21

His His His His His His
 1 5

<210> 22
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Đuôi FLAG

<400> 22

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 1 5

<210> 23
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trombin vị trí phân giải protein

<400> 23

Arg Ser Leu Val Pro Arg
 1 5

<210> 24
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Yếu tố X vị trí phân giải protein

<400> 24

Ile Glu Gly Arg
1

<210> 25

<211> 565

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A/Solomon ISlands/6/2003

<400> 25

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
1 5 10 15Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
20 25 30Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
35 40 45Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile
50 55 60Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
65 70 75 80Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Arg Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
85 90 95Val Glu Lys Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly His Phe
100 105 110Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
115 120 125Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
130 135 140

Thr Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Glu Ser Ser Phe
145 150 155 160

Tyr Lys Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn
165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Leu Tyr
195 200 205

His Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg
210 215 220

Lys Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu
225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
245 250 255

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

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Asn Ser Asn Ala Pro Met
275 280 285

Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Ile
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
 500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 26
 <211> 564
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/New Caledonia/20/1999

<400> 26

Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr Ala
 1 5 10 15

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 20 25 30

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 35 40 45

Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile Ala
 50 55 60

Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly Asn
 65 70 75 80

Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile Val
 85 90 95

Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe Ala
 100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe Glu
 115 120 125

Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr Val
 130 135 140

Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser Phe Tyr
 145 150 155 160

Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn Leu
 165 170 175

Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu Trp
 180 185 190

Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asn Gln Arg Ala Leu Tyr His
 195 200 205

Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg Arg
 210 215 220

Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu Gly
 225 230 235 240

Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile Ile
 245 250 255

Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala Leu
 260 265 270

Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met Asp
 275 280 285

Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser Ser
 290 295 300

Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
 305 310 315 320

Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Ile
 325 330 335

Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile
 340 345 350

Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His
 355 360 365

Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln
 370 375 380

Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys
 385 390 395 400

Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu Glu
 405 410 415

Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu Asp
 420 425 430

Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg
 435 440 445

Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val
 450 455 460

Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe
 465 470 475 480

Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn
 485 490 495

Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg
 500 505 510

Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile
 515 520 525

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

Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys
 545 550 555 560

Arg Ile Cys Ile

<210> 27
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/California/07/2009

<400> 27

Met Lys Ala Ile Leu Val Val Leu Leu Tyr Thr Phe Ala Thr Ala Asn
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Lys Leu Cys Lys Leu Arg Gly Val
 50 55 60

Ala Pro Leu His Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Ser Thr Ala Ser Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Val Glu Thr Pro Ser Ser Asp Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Ile Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Thr Ser Ser Trp Pro Asn His Asp
 130 135 140

Ser Asn Lys Gly Val Thr Ala Ala Cys Pro His Ala Gly Ala Lys Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Lys Asn Leu Ile Trp Leu Val Lys Lys Gly Asn Ser Tyr Pro
 165 170 175

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

Leu Trp Gly Ile His His Pro Ser Thr Ser Ala Asp Gln Gln Ser Leu
 195 200 205

Tyr Gln Asn Ala Asp Ala Tyr Val Phe Val Gly Ser Ser Arg Tyr Ser
 210 215 220

Lys Lys Phe Lys Pro Glu Ile Ala Ile Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Glu Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Val Glu Pro Gly Asp Lys
 245 250 255

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

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

Val His Asp Cys Asn Thr Thr Cys Gln Thr Pro Lys Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Thr Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Ile Thr Ile Gly Lys Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Lys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Leu Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn His
 405 410 415

Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 28
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/swine/Hubei/S1/2009

<400> 28

Met Glu Ala Lys Leu Phe Val Leu Phe Cys Ala Phe Thr Ala Leu Lys
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Phe Cys Val Gly Tyr His Ala Asn Tyr Ser Thr His Thr
 20 25 30

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

Leu Leu Glu Asn Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Ser Leu Asn Gly Lys
 50 55 60

Ile Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Asn Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Lys Cys Asp Leu Leu Leu Thr Ala Asn Ser Ser Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ile	Glu	Thr	Ser	Lys	Ser	Lys	Asn	Gly	Ala	Cys	Tyr	Pro	Gly	Glu	Phe	100	105	110
Ala	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Lys	Glu	Gln	Leu	Ser	Thr	Val	Ser	Ser	Phe	115	120	125
Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Ala	Ile	Ser	Trp	Pro	Asp	His	Asp	130	135	140
Ala	Thr	Arg	Gly	Thr	Thr	Val	Ala	Cys	Ser	His	Ser	Gly	Val	Asn	Ser	145	150	155
Phe	Tyr	Arg	Asn	Leu	Leu	Ser	Thr	Val	Lys	Lys	Gly	Asn	Ser	Tyr	Pro	165	170	175
Lys	Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Thr	Asn	Asn	Lys	Gly	Lys	Glu	Val	Leu	Val	180	185	190
Ile	Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Pro	Thr	Asp	Ser	Val	Gln	Gln	Thr	Leu	195	200	205
Tyr	Gln	Asn	Lys	His	Thr	Tyr	Val	Ser	Val	Gly	Ser	Ser	Lys	Tyr	Tyr	210	215	220
Lys	Arg	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Val	Ala	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Gly	Gln	225	230	235
Ala	Gly	Arg	Met	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Phe	Asp	Gln	Gly	Asp	Thr	245	250	255
Ile	Thr	Phe	Glu	Ala	Thr	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Trp	His	Ala	Phe	260	265	270
Ala	Leu	Lys	Lys	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Met	Leu	Ser	Asp	Ala	Gln	275	280	285

Val His Asn Cys Thr Thr Lys Cys Gln Thr Pro His Gly Ala Leu Lys
290 295 300

Asn Asn Leu Pro Leu Gln Asn Val His Leu Phe Thr Ile Gly Glu Cys
305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Lys Ser Thr Gln Leu Arg Met Ala Thr Gly Leu Arg
325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Arg Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
370 375 380

Thr Gln Ile Ala Ile Asp Gly Ile Asn Asn Lys Ala Asn Ser Val Ile
385 390 395 400

Gly Lys Met Asn Ile Gln Leu Thr Ser Val Gly Lys Glu Phe Asn Ser
405 410 415

Leu Glu Lys Arg Lys Glu Asn Leu Asn Lys Thr Val Asp Asp Arg Phe
420 425 430

Leu Asp Val Trp Thr Phe Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
435 440 445

Gln Arg Thr Leu Glu Phe His Asp Leu Asn Ile Lys Ser Leu Tyr Glu
450 455 460

Lys Val Lys Ser His Leu Arg Asn Asn Asp Lys Glu Ile Gly Asn Gly
465 470 475 480

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Arg Asp Asn Glu Cys Leu Glu Cys Val
485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asn Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Phe
 500 505 510

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

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Val Cys Ile
 565

<210> 29
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/swine/Haseluenne/IDT2617/2003

<400> 29

Met Glu Ala Lys Leu Phe Val Leu Phe Cys Ala Phe Thr Ala Leu Lys
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Val Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

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

Leu Leu Glu Asn Asn His Asn Gly Lys Leu Cys Ser Leu Asn Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Asn Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

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

Ile Glu Thr Ser Asn Ser Lys Asn Gly Ala Cys Tyr Pro Gly Glu Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Thr Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Ala Thr Ser Trp Pro Asn His Asp
 130 135 140

Thr Thr Arg Gly Thr Thr Ile Ser Cys Ser His Ser Gly Ala Asn Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Ile Val Lys Lys Gly Asn Ser Tyr Pro
 165 170 175

Lys Leu Ser Lys Ser Tyr Thr Asn Asn Lys Gly Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Ile Trp Gly Val His His Pro Pro Thr Asp Ser Asp Gln Gln Thr Leu
 195 200 205

Tyr Gln Asn Asn His Thr Tyr Val Ser Val Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr
 210 215 220

Gln Arg Phe Thr Pro Glu Ile Val Thr Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln
 225 230 235 240

Ala Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Asp Gln Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Thr Phe Glu Ala Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp His Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Asn Lys Gly Pro Ser Ser Gly Ile Met Ile Ser Asp Ala His
 275 280 285

Val His Asn Cys Thr Thr Lys Cys Gln Thr Pro His Gly Ala Leu Lys
 290 295 300

Ser Asn Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Ser Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Lys Ser Thr Gln Leu Arg Met Ala Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Ile Ala Ile Asp Gly Ile Asn Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ser Val Gly Lys Glu Phe Asn Asp
 405 410 415

Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Ile Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Phe Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asn Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val His
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 30
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/New York/8/2006

<400> 30

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
85 90 95

Val Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
130 135 140

Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser Phe
145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn
165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Leu Tyr
195 200 205

His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg
210 215 220

Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu
225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
245 250 255

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Phe Ala Phe Ala
 260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met
 275 280 285

Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
 500 505 510

Arg Glu Arg Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 31
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Solomon Islands/3/2006

<400> 31

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Leu Leu Ile Ser Arg Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Val Glu Lys Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly His Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Thr Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Glu Ser Ser Phe
 145 150 155 160

Tyr Lys Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn
 165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Leu Tyr
 195 200 205

His Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg
 210 215 220

Lys Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu
 225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255

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

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Asn Ser Asn Ala Pro Met
 275 280 285

Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Ile
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln
515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 32
<211> 566
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A/New York/146/2000

<400> 32

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Phe Thr Ala Thr Tyr
1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45
 Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Thr
 50 55 60
 Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80
 Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95
 Ala Glu Thr Pro Asn Pro Lys Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110
 Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125
 Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Asp Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140
 Val Thr Lys Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160
 Phe Tyr Lys Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asn Gly Leu Tyr Pro
 165 170 175
 Asn Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Lys Lys Gly Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190
 Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Met Gly Asp Gln Arg Ala Ile
 195 200 205
 Tyr His Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Leu Ser Ser His Tyr Ser
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Glu Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Ile Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met Gly Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Val Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Leu Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

Lys Val Lys Asn Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly
 465 470 475 480

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Lys Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 33
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/New York/653/1996

<400> 33

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Thr
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Val Thr Lys Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Lys Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asn Gly Leu Tyr Pro
 165 170 175

Asn Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Ile
 195 200 205

Tyr His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Thr Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Glu Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met Gly Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asp Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 34
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Beijing/262/1995

<400> 34

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Leu Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Ile Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Val Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Val Thr Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser Phe
 145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn
 165 170 175

Leu Ser Asn Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Arg Asp Gln Arg Ala Ile Tyr
 195 200 205

His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg
 210 215 220

Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln Glu
 225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala
 260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met
 275 280 285

Asn Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Met Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
 500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 35
 <211> 600
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A/Texas/36/1991

<400> 35

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Val Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Lys Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Glu Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Pro Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Val Thr Lys Gly Val Thr Thr Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Lys Lys Asn Gly Leu Tyr Pro
 165 170 175

Asn Val Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Ile
 195 200 205

Tyr His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Glu Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Gly Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu Asp Ile Trp
 485 490 495

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu
 500 505 510

Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser
 515 520 525

Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe
 530 535 540

Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr
 545 550 555 560

Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Gly Lys
 565 570 575

Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala
 580 585 590

Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser
 595 600

<210> 36
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Singapore/6/1986

<400> 36

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Phe Thr Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Lys Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Val Thr Lys Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Lys Gly Arg Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Lys Lys Asn Gly Ser Tyr Pro
 165 170 175

Asn Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Ile
 195 200 205

Tyr His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Asn
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Glu Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 37
 <211> 506
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Chile/1/1983

<400> 37

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ser Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Asn His Asn Gly Lys Leu Cys Lys Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Ser Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Lys Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys
 115 120 125

Glu Val Leu Val Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Glu Asp
 130 135 140

Gln Lys Thr Ile Tyr Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser
 145 150 155 160

Ser His Tyr Asn Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys
 165 170 175

Val Arg Asn Gln Glu Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu
 180 185 190

Pro Gly Asp Thr Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro
 195 200 205

Trp Tyr Ala Phe Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr
 210 215 220

Ser Asn Ala Ser Met Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln
 225 230 235 240

Gly Ala Ile Asn Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr
 245 250 255

Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val
 260 265 270

Thr Gly Leu Arg Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly
 275 280 285

Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly
 290 295 300

Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
 305 310 315 320

Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val
 325 330 335

Asn Ser Ile Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys
 340 345 350

Glu Phe Asn Lys Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val
 355 360 365

Asp Asp Gly Phe Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
 370 375 380

Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys
 385 390 395 400

Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu
 405 410 415

Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys
 420 425 430

Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu
 435 440 445

Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser
 450 455 460

Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser
 465 470 475 480

Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser
 485 490 495

Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 500 505

<210> 38
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Baylor/11515/1982

<400> 38

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ser Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Ser Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Lys Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Lys His Ser
 130 135 140

Val Thr Arg Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Lys Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asn Gly Ser Tyr Pro
 165 170 175

Asn Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asp Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Glu Asp Gln Lys Thr Ile
 195 200 205

Tyr Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Asn
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Glu Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Val Ser
 275 280 285

Met Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380
 Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400
 Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415
 Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430
 Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445
 Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460
 Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly
 465 470 475 480
 Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495
 Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510
 Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525
 Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu
 530 535 540
 Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 39
<211> 505
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A/Brazil/11/1978

<400> 39

Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ser Ala Thr Asp Ala
1 5 10 15

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
20 25 30

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
35 40 45

Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile Ala
50 55 60

Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Ser Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Lys Ser Trp Ser Tyr Ile Ala
85 90 95

Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe Ala
100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe Glu
115 120 125

Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Arg Ser Trp Pro Lys His Asn Ile
130 135 140

Thr Arg Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Lys Gly Lys Ser Ser Phe
145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asn Gly Ser Tyr Pro Asn
165 170 175

Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Glu Asp Gln Lys Thr Ile Tyr
195 200 205

Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn Arg
210 215 220

Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln Glu
225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
245 250 255

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala
260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser Met
275 280 285

Asp Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

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

Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn
 485 490 495

Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 500 505

<210> 40
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/USSR/90/1977

<400> 40

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ser Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Lys Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Arg Ser Trp Pro Lys His Asn
 130 135 140

Val Thr Arg Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Lys Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asn Gly Ser Tyr Pro
 165 170 175

Asn Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Glu Asp Gln Lys Thr Ile
 195 200 205

Tyr Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln
 225 230 235 240

Ala Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp His Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Asn Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met Asp Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 41

<211> 566

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A/New Jersey/8/1976

<400> 41

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Phe Thr Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Ser Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Lys Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Val Thr Lys Gly Val Thr Ala Ser Cys Ser His Lys Gly Arg Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Lys Lys Asn Gly Ser Tyr Pro
 165 170 175

Asn Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Ile
 195 200 205

Tyr His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Asn
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Glu Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met Asp Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 42
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Denver/1957

<400> 42

Met Lys Ala Lys Leu Leu Ile Leu Leu Cys Ala Leu Ser Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Lys
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Asn Cys Asn Ile Ala Gly Trp Val Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Leu Ser Asn Arg Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Arg Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Thr Arg Gly Val Thr Ala Ala Cys Pro His Ala Arg Lys Ser Ser Phe
 145 150 155 160

Tyr Lys Asn Leu Val Trp Leu Thr Glu Ala Asn Gly Ser Tyr Pro Asn
 165 170 175

Leu Ser Arg Ser Tyr Val Asn Asn Gln Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Glu Glu Gln Arg Ala Leu Tyr
 195 200 205

Arg Lys Asp Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn Arg
 210 215 220

Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Ser
 225 230 235 240

Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255

Ile Phe Glu Ala Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala
 260 265 270

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

Asp Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Val Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Met Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Met
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Asn Gln Leu Arg Asn Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
 500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Arg
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 43
<211> 566
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A/Albany/4835/1948

<400> 43

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ser Ala Thr Asp
1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Phe Ser Lys Lys Ser Trp Ser Tyr Ile
85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Tyr Phe
100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Arg Ser Trp Pro Lys His Asn
130 135 140

Ile Thr Arg Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser His Lys Gly Lys Ser Ser
145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asn Gly Ser Tyr Pro
165 170 175

Asn Leu Asn Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Glu Asp Gln Lys Thr Leu
195 200 205

Tyr Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn
210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln
225 230 235 240

Ala Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp His Ala Phe
260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
275 280 285

Met Asp Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 44
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/FortMonmouth/1/1947

<400> 44

Met Lys Ala Lys Leu Leu Ile Leu Leu Cys Ala Leu Thr Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Leu Ser Lys Arg Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Ala Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Arg Ser Trp Pro Lys His Asn
 130 135 140

Ile Thr Arg Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser His Ala Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Lys Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Thr Asp Gly Ser Tyr Pro
 165 170 175

Lys Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Glu Asp Gln Lys Thr Leu
 195 200 205

Tyr Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln
 225 230 235 240

Ala Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Asp Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met Asp Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Lys Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350
 Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365
 His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380
 Thr Gln Asn Ala Ile Asn Trp Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400
 Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415
 Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430
 Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445
 Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460
 Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly
 465 470 475 480
 Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495
 Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510
 Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 45
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Cameron/1946

<400> 45

Met Lys Ala Lys Leu Leu Ile Leu Leu Cys Ala Leu Ser Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Leu Ser Lys Arg Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ala Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Ala Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Ala Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Gly Arg Ser Trp Pro Glu His Asn
 130 135 140

Ile Asp Ile Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser His Ala Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Lys Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asp Gly Ser Tyr Pro
 165 170 175

Asn Leu Asn Lys Ser Tyr Val Asn Lys Lys Glu Lys Glu Val Leu Ile
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Glu Asn Gln Lys Thr Leu
 195 200 205

Tyr Arg Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln
 225 230 235 240

Ala Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

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

Met Asp Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Phe Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Asp Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415

Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Phe Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 46
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Weiss/1943

<400> 46

Met Lys Ala Arg Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

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

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Leu Ser Glu Arg Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Val Glu Ile Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Thr Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Lys His Asn
 130 135 140

Thr Ala Arg Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser His Ala Gly Lys Ser Ser
 145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asp Gly Ser Tyr Pro
 165 170 175

Asn Leu Lys Asn Ser Tyr Val Asn Lys Lys Gly Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Ser Ile Lys Glu Gln Gln Thr Leu
 195 200 205

Tyr Gln Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn
 210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240

Ala Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
 245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
 260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met His Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn
 290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
 305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Asn
 405 410 415

Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Ile Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 47
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Iowa/1943

<400> 47

Met Lys Ala Arg Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Leu Ser Glu Arg Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Val Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Ile Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Ser Lys Glu Ser Ser Trp Pro Lys His Thr
 130 135 140

Thr Gly Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser His Ala Gly Lys Ser Ser Phe
 145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asp Gly Ser Tyr Pro Asn
 165 170 175

Leu Asn Asn Ser Tyr Val Asn Lys Lys Gly Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Lys Asp Gln Gln Thr Leu Tyr
 195 200 205

Gln Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn Arg
 210 215 220

Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln Ala
 225 230 235 240

Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Lys Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255

Met Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala
 260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser Met
 275 280 285

His Glu Cys Asp Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300

Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Asn Leu
 405 410 415

Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Asn Gln Leu Arg Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
 500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 48
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/Bellamy/1942

<400> 48

Met Lys Ala Arg Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Ile Ala Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

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

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Ile Leu Gly
65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Glu Ser Leu Leu Ser Glu Arg Ser Trp Ser Tyr Ile
85 90 95

Val Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
100 105 110

Ile Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Thr Ser Phe
115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Thr Ser Trp Pro Lys His Asn
130 135 140

Thr Thr Lys Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser His Ala Gly Lys Cys Ser
145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Asp Gly Ser Tyr Pro
165 170 175

Asn Leu Asn Asn Ser Tyr Val Asn Lys Lys Gly Lys Glu Val Leu Val
180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Ser Asn Ile Lys Asp Gln Gln Thr Leu
195 200 205

Tyr Gln Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn
210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Gly Gln
225 230 235 240

Ala Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
245 250 255

Ile Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
260 265 270

Ala Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser
 275 280 285

Met His Glu Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Met Ile Asp Gly
 290 295 300

Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
 305 310 315 320

Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val
 325 330 335

Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys
 340 345 350

Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val
 355 360 365

Asp Asp Gly Phe Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
 370 375 380

Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys
 385 390 395 400

Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Arg Asn Asn Ala Lys Glu
 405 410 415

Ile Gly Asn Gly Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe
 420 425 430

Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 435 440 445

<210> 49

<211> 565

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A/Puerto Rico/8/1934

<400> 49

Met Lys Ala Asn Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Ala Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Leu Leu Gly
 65 70 75 80

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

Val Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Ile Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Ile Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Asn
 130 135 140

Thr Asn Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser His Glu Gly Lys Ser Ser Phe
 145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Glu Lys Glu Gly Ser Tyr Pro Lys
 165 170 175

Leu Lys Asn Ser Tyr Val Asn Lys Lys Gly Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190

Trp Gly Ile His His Pro Pro Asn Ser Lys Glu Gln Gln Asn Leu Tyr
 195 200 205

Gln Asn Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Thr Ser Asn Tyr Asn Arg
 210 215 220

Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Glu Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Ala
 225 230 235 240

Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Lys Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255

Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Met Tyr Ala Phe Ala
 260 265 270

Leu Arg Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser Met
 275 280 285

His Glu Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300

Ser Leu Pro Tyr Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Ile Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu
 405 410 415

Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Asn Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
 500 505 510

Arg Glu Lys Val Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Ile Tyr Gln
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 50
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A/WSN/1933

<400> 50

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Tyr Ala Phe Val Ala Thr Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Ile Phe Glu Lys Asn Val Ala Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Arg His Asn Gly Lys Leu Cys Lys Leu Lys Gly Ile
 50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Thr Gly Trp Leu Leu Gly
 65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Asp Ser Leu Leu Pro Ala Arg Ser Trp Ser Tyr Ile
 85 90 95

Val Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Ala Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
 100 105 110

Ile Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Leu
 115 120 125

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140

Phe Asn Gly Val Thr Val Ser Cys Ser His Arg Gly Lys Ser Ser Phe
 145 150 155 160

Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Lys Lys Gly Asp Ser Tyr Pro Lys
 165 170 175

Leu Thr Asn Ser Tyr Val Asn Asn Lys Gly Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190

Trp Gly Val His His Pro Ser Ser Ser Asp Glu Gln Gln Ser Leu Tyr
 195 200 205

Ser Asn Gly Asn Ala Tyr Val Ser Val Ala Ser Ser Asn Tyr Asn Arg
 210 215 220

Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Ala Arg Pro Lys Val Lys Asp Gln His
 225 230 235 240

Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255

Ile Phe Glu Ala Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe Ala
 260 265 270

Leu Ser Arg Gly Phe Glu Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Ser Met
 275 280 285

His Glu Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ser Ile Asn Ser
 290 295 300

Asn Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320

Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

Ile Pro Ser Ile Gln Tyr Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr
 370 375 380

Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu
 385 390 395 400

Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Asn Leu
 405 410 415

Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu
 420 425 430

Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Leu Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys
 450 455 460

Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn
 500 505 510

Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln
 515 520 525

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

Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
 545 550 555 560

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 51
<211> 566
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A/South Carolina/1/1918

<400> 51

Met Glu Ala Arg Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Phe Ala Ala Thr Asn
1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Lys Leu Lys Gly Ile
50 55 60

Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Leu Leu Gly
65 70 75 80

Asn Pro Glu Cys Asp Leu Leu Leu Thr Ala Ser Ser Trp Ser Tyr Ile
85 90 95

Val Glu Thr Ser Asn Ser Glu Asn Gly Thr Cys Tyr Pro Gly Asp Phe
100 105 110

Ile Asp Tyr Glu Glu Leu Arg Glu Gln Leu Ser Ser Val Ser Ser Phe
115 120 125

Glu Lys Phe Glu Ile Phe Pro Lys Thr Ser Ser Trp Pro Asn His Glu
130 135 140

Thr Thr Lys Gly Val Thr Ala Ala Cys Ser Tyr Ala Gly Ala Ser Ser
145 150 155 160

Phe Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Lys Lys Gly Ser Ser Tyr Pro
165 170 175

Lys Leu Ser Lys Ser Tyr Val Asn Asn Lys Gly Lys Glu Val Leu Val
180 185 190

Leu Trp Gly Val His His Pro Pro Thr Gly Thr Asp Gln Gln Ser Leu
195 200 205

Tyr Gln Asn Ala Asp Ala Tyr Val Ser Val Gly Ser Ser Lys Tyr Asn
210 215 220

Arg Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Ala Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
225 230 235 240

Ala Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr
245 250 255

Ile Thr Phe Glu Ala Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Trp Tyr Ala Phe
260 265 270

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

Val His Asp Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro His Gly Ala Ile Asn
290 295 300

Ser Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys
305 310 315 320

Pro Lys Tyr Val Arg Ser Thr Lys Leu Arg Met Ala Thr Gly Leu Arg
325 330 335

Asn Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
340 345 350

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380

Thr Gln Asn Ala Ile Asp Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400

Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Asn
 405 410 415

Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430

Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445

Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460

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

Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asp Ala Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495

Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510

Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525

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

Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> các gốc axit amin 402-418 của HA của virus cúm thuộc tít huyết thanh H1

<220>
 <221> dấu hiệu tấp
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tấp
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tấp
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tấp
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tấp
 <222> (14)..(15)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tấp
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<400> 52

Xaa Asn Thr Gln Xaa Thr Ala Xaa Gly Lys Glu Xaa Asn Xaa Xaa Glu

1

5

10

15

Xaa

<210> 53
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HA nhỏ

<220>
 <221> DẤU HIỆU Tập
 <222> (56)..(56)
 <223> x= E, I, K, V, A, T

<220>
 <221> DẤU HIỆU Tập
 <222> (59)..(59)
 <223> I, K, R, T, F, N, S, Y

<220>
 <221> DẤU HIỆU Tập
 <222> (71)..(71)
 <223> x= D, F, V, Y, A, I, N, S, T

<220>
 <221> DẤU HIỆU Tập
 <222> (72)..(72)
 <223> x= I, K, R, T, E, G, V

<220>
 <221> DẤU HIỆU Tập
 <222> (121)..(121)
 <223> x= E, K, M, V, R, T

<220>
 <221> DẤU HIỆU Tập
 <222> (125)..(125)
 <223> x= F, I, N, S, T, Y, H, L

<220>
 <221> DẤU HIỆU Tập
 <222> (128)..(128)
 <223> x= A, G, I, R, T, V, F, S

<220>

<221> DẤU HIỆU TẬP

<222> (131)..(131)

<223> x= F,I,N, S, T, Y, G, E, K, V

<220>

<221> dấu hiệu tập

<222> (132)..(132)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>

<221> DẤU HIỆU TẬP

<222> (134)..(134)

<223> x=H, I, L, N, R, S

<220>

<221> dấu hiệu tập

<222> (135)..(135)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<400> 53

Asp	Thr	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr	Val
1				5					10					15	

Asp	Thr	Val	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ser	Val	Asn	Leu
			20					25					30		

Leu	Glu	Asn	Gly	Gly	Gly	Gly	Lys	Tyr	Val	Cys	Ser	Ala	Lys	Leu	Arg
		35					40					45			

Met	Val	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	Xaa	Pro	Ser	Xaa	Gln	Ser	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Xaa	Xaa	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Val
65					70					75				80	

Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr
				85					90					95	

Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asn	Gly	Ile	Thr	Asn
			100					105					110		

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Xaa Asn Thr Gln Xaa Thr Ala Xaa
 115 120 125

Gly Lys Glu Xaa Asn Lys Xaa Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Ser Gly
 225 230 235 240

Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Leu Val Pro Arg Gly Ser Pro
 245 250 255

Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val
 260 265 270

Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly His His
 275 280 285

His His His His
 290

<210> 54

<211> 237
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HA nhỏ

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (56)..(56)
 <223> x= E, I, K, V, A, T

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (59)..(59)
 <223> x= I, K, R, T, F, N, S, Y

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (71)..(71)
 <223> x= D, F, V, Y, A, I, N, S, T

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (72)..(72)
 <223> x= I, K, R, T, E, G, V

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (121)..(121)
 <223> x= E, K, M, V, R, T

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (125)..(125)
 <223> x= F, I, N, S, T, Y, H, L

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (128)..(128)
 <223> x= A, G, I, R, T, V, F, S

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP
 <222> (132)..(132)
 <223> x= F, I, N, S, T, Y, G, E, K, V

<220>
 <221> DẤU HIỆU TẬP

<222> (135)..(135)

<223> x= H, I, L, N, R, S

<400> 54

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Xaa Pro Ser Xaa Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Xaa Xaa Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Xaa Asn Thr Gln Xaa Thr Ala Xaa
 115 120 125

Gly Lys Glu Xaa Asn Lys Xaa Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala

180

185

190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly
 225 230 235

<210> 55
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 127H1

<400> 55

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met
 85 90 95

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly

100	105	110
Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr		
115	120	125
Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Tyr Thr Ala		
130	135	140
Ile Gly Lys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp		
145	150	155
Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu		
165	170	175
Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser		
180	185	190
Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn		
195	200	205
Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn		
210	215	220
Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys		
225	230	235
Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys		
245	250	255
Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val		
260	265	270
Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp		
275	280	285
Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile		
290	295	300

<210> 56
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 86B4

<400> 56

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met
 85 90 95

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly
 100 105 110

Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr
 115 120 125

Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala
 130 135 140

Ile Gly Lys Glu Met Asn Lys Ile Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp
 145 150 155 160

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu
 165 170 175

Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser
 180 185 190

Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn
 195 200 205

Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn
 210 215 220

Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys
 225 230 235 240

Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys
 245 250 255

Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val
 260 265 270

Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
 275 280 285

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 290 295 300

<210> 57
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 74H9

<400> 57

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Lys Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met
 85 90 95

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly
 100 105 110

Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr
 115 120 125

Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Tyr Thr Ala
 130 135 140

Phe Gly Lys Glu Met Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp
 145 150 155 160

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu
 165 170 175

Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser
 180 185 190

Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn
 195 200 205

Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn

210

215

220

Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys
 225 230 235 240

Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys
 245 250 255

Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val
 260 265 270

Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
 275 280 285

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 290 295 300

<210> 58
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 6E12

<400> 58

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Glu Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly

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

Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
 275 280 285

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 290 295 300

<210> 59
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 55G7

<400> 59

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Tyr Val Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met
 85 90 95

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly
 100 105 110

Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr
 115 120 125

Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Tyr Thr Ala
 130 135 140

Ile Gly Lys Glu Met Asn Lys Leu Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp
 145 150 155 160

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu
 165 170 175

Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser
 180 185 190

Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn
 195 200 205

Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn
 210 215 220

Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys
 225 230 235 240

Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys
 245 250 255

Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val
 260 265 270

Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
 275 280 285

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 290 295 300

<210> 60

<211> 301

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 115A1

<400> 60

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Tyr Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met
 85 90 95

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly
 100 105 110

Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr
 115 120 125

Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Ile Thr Ala
 130 135 140

Val Gly Lys Glu Tyr Asn Lys Ile Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp
 145 150 155 160

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu
 165 170 175

Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser

180							185					190				
Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Lys	Ser	Gln	Leu	Lys	Asn	Asn	
		195					200					205				
Ala	Lys	Glu	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys	Cys	Asn	
		210					215					220				
Asp	Glu	Cys	Met	Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Lys	
225						230					235		240			
Tyr	Ser	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Asn	Arg	Glu	Lys	Ile	Asp	Gly	Val	Lys	
				245						250		255				
Leu	Glu	Ser	Met	Gly	Val	Tyr	Gln	Ile	Leu	Ala	Ile	Tyr	Ser	Thr	Val	
			260						265					270		
Ala	Ser	Ser	Leu	Val	Leu	Leu	Val	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Ser	Phe	Trp	
		275						280					285			
Met	Cys	Ser	Asn	Gly	Ser	Leu	Gln	Cys	Arg	Ile	Cys	Ile				
290						295					300					

```
<210> 61
<211> 301
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

$$\begin{matrix} \langle 220 \rangle \\ \langle 223 \rangle \end{matrix} \quad 71\text{H2}$$

<400> 61

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn

35	40	45
Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu		
50	55	60
Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly		
65	70	75 80
Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Lys Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met		
	85	90 95
Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly		
	100	105 110
Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr		
	115	120 125
Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Leu Thr Ala		
	130	135 140
Ile Gly Lys Glu Val Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp		
145	150	155 160
Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu		
	165	170 175
Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser		
	180	185 190
Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn		
	195	200 205
Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn		
	210	215 220
Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys		
225	230	235 240

Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys
 245 250 255

Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val
 260 265 270

Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
 275 280 285

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 290 295 300

<210> 62
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 181H9

<400> 62

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Val Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met
 85 90 95

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly
 100 105 110

Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr
 115 120 125

Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala
 130 135 140

Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Asn Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp
 145 150 155 160

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu
 165 170 175

Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser
 180 185 190

Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn
 195 200 205

Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn
 210 215 220

Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys
 225 230 235 240

Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys
 245 250 255

Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val
 260 265 270

Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
 275 280 285

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile

290

295

300

<210> 63
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 220C9

<400> 63

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu
 50 55 60

Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Thr Gln Ser Gln Gly
 65 70 75 80

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met
 85 90 95

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly
 100 105 110

Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr
 115 120 125

Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala
 130 135 140

Thr Gly Lys Glu Tyr Asn Lys Leu Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp

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

<210> 64
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 113E7

<400> 64

Met Lys Val Lys Leu Leu Val Leu Leu Cys Thr Phe Thr Ala Thr Tyr

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

Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn
 210 215 220

Asp Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys
 225 230 235 240

Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys
 245 250 255

Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val
 260 265 270

Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp
 275 280 285

Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 290 295 300

<210> 65
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> s74H9

<400> 65

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

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

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Lys Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Tyr Thr Ala Phe
115 120 125

Gly Lys Glu Met Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Arg Ser Leu
225 230 235 240

Val Pro Arg Gly Ser Pro Gly His His His His His His
245 250

<210> 66

<211> 253
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> s127H1

<400> 66

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

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

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

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

Gly Lys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn

165

170

175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Arg Ser Leu
 225 230 235 240

Val Pro Arg Gly Ser Pro Gly His His His His His His
 245 250

<210> 67
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> s86B4

<400> 67

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

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

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val

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

$\langle 210 \rangle$	68
$\langle 211 \rangle$	253
$\langle 212 \rangle$	PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> s55G7

<400> 68

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
35 40 45

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

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Tyr Val Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
100 105 110

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

Gly Lys Glu Met Asn Lys Leu Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Arg Ser Leu
 225 230 235 240

Val Pro Arg Gly Ser Pro Gly His His His His His His
 245 250

<210> 69
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> s6E12

<400> 69

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Glu Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Leu Thr Ala Phe
115 120 125

Gly Lys Glu Val Asn Lys Leu Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Arg Ser Leu
225 230 235 240

Val Pro Arg Gly Ser Pro Gly His His His His His His
245 250

<210> 70

<211> 250

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SEQ 70

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (56)..(56)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (59)..(59)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (71)..(72)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (121)..(121)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (125)..(125)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (128)..(128)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (132)..(132)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
<221> dấu hiệu tạp
<222> (135)..(135)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<400> 70

Asp	Thr	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr	Val
1				5					10					15	

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Xaa Pro Ser Xaa Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Xaa Xaa Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Xaa Asn Thr Gln Xaa Thr Ala Xaa
 115 120 125

Gly Lys Glu Xaa Asn Lys Xaa Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Glu Gly
 245 250

<210> 71
 <211> 284
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> SEQ 71

<220>
 <221> dấu hiệu tậ
 <222> (56)..(56)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tậ
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tậ
 <222> (71)..(72)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tậ
 <222> (121)..(121)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tậ
 <222> (125)..(125)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tậ
 <222> (128)..(128)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>

<221> dấu hiệu tạp
 <222> (132)..(132)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<220>
 <221> dấu hiệu tạp
 <222> (135)..(135)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<400> 71

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Xaa Pro Ser Xaa Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Xaa Xaa Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Xaa Asn Thr Gln Xaa Thr Ala Xaa
 115 120 125

Gly Lys Glu Xaa Asn Lys Xaa Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala
 245 250 255

Ser Ser Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met
 260 265 270

Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 275 280

<210> 72
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> s74H9-dài

<400> 72

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45
 Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60
 Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Lys Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95
 Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110
 Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Tyr Thr Ala Phe
 115 120 125
 Gly Lys Glu Met Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140
 Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205
 Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Glu Gly
245 250

<210> 73
<211> 250
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> s127H1-dài

<400> 73

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
35 40 45

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

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
100 105 110

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

Gly Lys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys

130 135 140
 Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205
 Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Glu Gly
 245 250

<210> 74
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> s86B4-dài

<400> 74

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg

35	40	45
Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly Leu		
50	55	60
Phe Gly Ala Ile Ala Gly Tyr Lys Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val		
65	70	75
Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr		
	85	90
Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn		
	100	105
Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Ile		
	115	120
Gly Lys Glu Met Asn Lys Ile Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys		
	130	135
Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu		
145	150	155
Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn		
	165	170
Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala		
	180	185
Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp		
	195	200
Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr		
	210	215
Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu		
225	230	235
		240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Glu Gly
245 250

<210> 75
<211> 250
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> s55G7-dài

<400> 75

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
35 40 45

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

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Tyr Val Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
100 105 110

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

Gly Lys Glu Met Asn Lys Leu Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Glu Gly
245 250

<210> 76
<211> 250
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> s6E12-dài

<400> 76

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
35 40 45

Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Glu Pro Ser Asn Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Leu Thr Ala Phe
 115 120 125

Gly Lys Glu Val Asn Lys Leu Glu Arg Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Gln Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Glu Gly

30939

245

250