



(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)



1-0031316

(51)⁷ C07K 14/135

(13) B

(21) 1-2016-00190

(22) 17/06/2014

(86) PCT/EP2014/062655 17/06/2014

(87) WO/2014/202570 24/12/2014

(30) 13172256.3 17/06/2013 EP

(45) 25/03/2022 408

(43) 25/04/2016 337A

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

Archimedesweg 4, NL-2333 CN Leiden, The Netherlands

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

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

(54) POLYPEPTIT DUNG HỢP CỦA VIRUT HỢP BÀO HÔ HẤP (RSV F) DÙNG ĐỂ
GÂY ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH VỚI PROTEIN RSV F VÀ CHẾ PHẨM CHỨA
POLYPEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến polypeptit dung hợp của virus hợp bào hô hấp (RSV F) dùng để
gây đáp ứng miễn dịch với protein RSV F. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phân tử axit
nucleic mã hóa polypeptit, vector chứa phân tử axit nucleic và chế phẩm chứa polypeptit
này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực dược phẩm. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến polypeptit RSV F trước dung hợp tái tổ hợp. Chúng có thể được dùng trong các chế phẩm sinh miễn dịch.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

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

Để xâm nhiễm tế bào vật chủ, RSV, giống các virut có vỏ khác như là virut bệnh cúm và HIV, đòi hỏi sự dung hợp của màng virut với màng tế bào vật chủ. Đối với RSV, protein dung hợp dự trữ (protein RSV F) dung hợp virut và màng tế bào của tế bào vật chủ. Theo các mô hình hiện tại, dựa trên các nghiên cứu về paramyxovirut, protein RSV F gấp ban đầu thành cấu trạng "trước dung hợp". Cấu trúc giả ổn định gần đây đã được giải quyết trong kết hợp với đoạn Fab của kháng thể trung hòa làm ổn định (McLellan và cộng sự, Science 340(6136):1113-7, 2013). Trong bước thâm nhập tế bào, cấu trạng trước dung hợp trải qua bước gấp lại và các thay đổi cấu trạng thành cấu trạng "sau-dung hợp" của nó (McLellan, J. Virol 85(15):7788-96, 2010; Swanson, PNAS 108(23):9619-24, 2011). Do đó, protein RSV F là protein giả ổn định mà điều khiển dung hợp màng tế bào bằng cách

ghép protein không thuận nghịch gấp lại thành vị trí kè màng tế bào bằng cách gấp ban đầu thành dạng giả ổn định (cấu trạng trước dung hợp), dạng này tiếp theo, trải qua các thay đổi cấu trạng rời rạc/từng bước thành cấu trạng năng lượng thấp (cấu trạng sau-dung hợp).

Các quan sát này đề xuất rằng protein RSV F trước dung hợp và sau-dung hợp là khác biệt về kháng nguyên (Calder, L. J. và cộng sự Virology 271, 122-131 (2000)).

Vaccin chống xâm nhiễm RSV hiện tại chưa sẵn có, nhưng được mong muốn. Các ứng viên vaccin dựa trên protein RSV F đã thất bại do các vấn đề với chẳng hạn, độ ổn định, độ tinh khiết, khả năng tái sản xuất, và hiệu lực. Như được chỉ ra ở trên, các cấu trúc tinh thể đã bộc lộ thay đổi cấu trạng lớn giữa các trạng thái trước dung hợp và sau-dung hợp. Tầm quan trọng của việc tái sắp xếp đề xuất rằng chỉ một phần của các kháng thể được hướng tới cấu trạng sau-dung hợp của RSV-F sẽ có thể phản ứng chéo với cấu trạng tự nhiên của gai trước dung hợp trên bề mặt của virut. Theo đó, các nỗ lực để sản xuất vaccin chống RSV đã tập trung vào phát triển vaccin chứa các dạng trước dung hợp của protein RSV F (xem, chẳng hạn, WO2010/1149745, WO2010/1149743, WO2009/1079796, WO2012/158613). Tuy nhiên, các nỗ lực này chưa tạo ra polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định mà có thể được sử dụng làm ứng viên để thử nghiệm ở con người.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các polypeptit dung hợp (F) virut hợp bào hô hấp (RSV) trước dung hợp, tái tổ hợp, ổn định, cụ thể là, Polypeptit RSV F tái tổ hợp được ổn định trong cấu trạng trước dung hợp. Polypeptit RSV F theo sáng chế bao gồm ít nhất một epitop đặc trưng đối với protein F cấu trạng trước dung hợp. Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp là tan được. Sáng chế cũng đề xuất các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F trước dung hợp theo sáng chế và các vectơ bao gồm các phân tử axit nucleic này.

Sáng chế cũng đề cập đến các hợp chất, tốt hơn là các hợp chất sinh miễn dịch, bao gồm polypeptit RSV F, phân tử axit nucleic và/hoặc vectơ, và đến cách dùng chúng để cảm sinh đáp ứng miễn dịch chống protein RSV F, cụ thể là cách sử dụng chúng làm vaccin. Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp để cảm sinh đáp ứng miễn dịch kháng

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

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: SDS-PAGE giảm và không giảm với RSV trước dung hợp DM = Đột biến kép (N67I+S215P = SEQ ID NO:21) và DM+CC = Đột biến kép + DE486CC = SEQ ID NO:94).

Fig.2: Phân tích NativePAGE của dịch nổi từ Làn 2: DM = Đột biến kép (N67I+S215P = SEQ ID NO 21) và Làn 1: DM+CC = Đột biến kép + DE486CC = SEQ ID NO: 94).

Fig.3: A) Sắc phổ lọc chất quánh Superdex200 của chất rửa giải PreF N67I E161P S215P, RSV A2, fibritin (SEQ ID NO: 91) từ cột trao đổi ion. B) Phân tích SDS-PAGE của protein F trước dung hợp chứa đỉnh từ sắc phổ SEC dưới các điều kiện suy giảm. C) Phân tích NativePAGE của protein F trước dung hợp RSV được tinh lọc (SEQ ID NO: 91, Làn 2) so với đột biến kép F RSV được tinh lọc (SEQ ID NO: 21, Làn 1).

Fig.4: Các độ chuẩn VNA của chuột vào tuần 6 sau khi môi-tăng cường vào tuần 0 và 4 bởi các kháng nguyên và liều theo Bảng 14.

Fig.5: Các độ chuẩn VNA của chuột bông vào tuần 7 sau khi môi-tăng cường vào tuần 0 và 4 bởi các kháng nguyên và liều theo Bảng 15.

Fig.6: Lượng virut phổi và mũi 5 ngày sau khi i.n. Thử nghiệm RSV.

Mô tả chi tiết sáng chế

Protein dung hợp (F) của virus hợp bào hô hấp (RSV) được bao gồm trong sự dung hợp của màng virus với màng tế bào vật chủ, sự xâm nhiễm đòi hỏi sự dung hợp này. RSV F mARN được dịch mã thành 574 protein tiền axit amin được chỉ định F₀, mà chứa trình tự peptit tín hiệu ở các đầu cuối N (chẳng hạn, các gốc axit amin 1-26 của SEQ ID NO: 1) mà được loại bỏ bởi peptidaza tín hiệu trong mạng lưới nội chất. F₀ được phân cắt ở hai vị trí (ở giữa các gốc axit amin 109/110 và 136/137) bởi các proteaza tế bào (trong furin cụ thể hoặc tương tự furin), loại bỏ trình tự can thiệp ngăn được glycosyl hóa (cũng được dẫn chiếu đến vùng p27, bao gồm các gốc axit amin 110 đến 136, và tạo ra hai miền hoặc các tiểu đơn vị được chỉ định F1 và F2. Miền F1 (các gốc axit amin 137-574) chứa peptit dung hợp kỵ nước ở các đầu cuối N của nó và các đầu cuối C chứa vùng xuyên màng (TM) (các gốc axit amin 530-550) và vùng tế bào chất (các gốc axit amin 551-574). Miền F2 (các gốc axit amin 27-109) được liên kết cộng hóa trị với F1 bởi hai cầu disulfit. Các dime khác loại F1-F2 được ghép thành trime cùng loại trong hạt virus.

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

Sự ổn định của protein F paramyxovirus khác trong cấu trạng trước dung hợp đã được hoàn thành thành công đối với virus cúm tuýp 5 (PIV5). Yin và cộng sự (Nature 439: 38-44 (2006)) theo đó, ổn định cấu trúc trước dung hợp của Protein PIV-5 F bởi sự đột biến của vị trí phân tách furin trong F₀ mà chặn quá trình thành F1 và F2. Hơn nữa,

miền xuyên màng (TM) và miền tế bào chất được thay thế bởi miền trime hóa xoắn đã biết: GCN4pII. Miền này tạo ra cấu trúc cuộn xoắn trime và là một biến thể của peptit cuộn xoắn dime tự nhiên GCN4 (O'Shea và cộng sự, Science 243: 538-542 (1989)). Peptit GCN4-pII, trong đó trình tự axit amin của khóa kéo Leuxin GCN4 được thay thế bởi các phần Isoleuxin ở mỗi vị trí *a* và *d* của bộ bảy, được thể hiện để tạo ra cuộn xoắn-alpha song song ba sợi (Harbury và cộng sự, Science 262: 1401-1407 (1993)).

Đề ổn định RSV F trong cấu trạng trước dung hợp, cùng phương pháp đã được thử, tức là, sự đột biến của vị trí phân tách furin, và sự dung hợp của miền ngoại bào RSV-F với miền trime hóa GCN4pII (như được bộc lộ trong, chẳng hạn, WO2010/149743, WO2010/149745, WO2009/079796, WO2012/158613) hoặc với miền trime hóa fibritin (McLellan và cộng sự, Nature Struct. Biol. 17: 2-248-250 (2010); McLellan và cộng sự, Science 340(6136):1113-7 (2013)). Miền fibritin này hoặc 'Foldon' thu được từ T4 fibritin và đã được mô tả trước đây như là miền trime hóa tự nhiên nhân tạo (Letarov và cộng sự, Biochemistry Moscow 64: 817-823 (1993); S-Guthe và cộng sự, J. Mol. Biol. 337: 905-915. (2004)). Tuy nhiên, những nỗ lực này không đem lại protein RSV-F trước dung hợp ổn định. Ngoài ra, những nỗ lực này chưa có kết quả ở các đối tượng phù hợp để thử nghiệm ở người.

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

Polypeptit theo sáng chế bao gồm ít nhất một epitop được nhận ra bởi kháng thể đơn dòng đặc trưng trước dung hợp, bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 54,

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

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

Polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định theo sáng chế bao gồm miền F1 và miền F2, trong đó polypeptit bao gồm ít nhất một đột biến, so với các miền F1 và F2 loại-thuần chủng, được chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 161;
- (b) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 182;
- (c) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 173; và
- (d) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 489 thành C (D489C) hoặc đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 487 thành C (E487C).

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định bao gồm miền F1 và miền F2, trong đó polypeptit bao gồm ít nhất một đột biến được chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 161 thành P, Q hoặc G (E161P, E161Q) hoặc E161G);
- (b) đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 182 thành P (S182P);
- (c) đột biến của gốc axit amin S, T hoặc N ở vị trí 173 thành P (S173P); và

(d) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 489 thành C (D489C) hoặc đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 487 thành C (E487C).

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp còn bao gồm sự đột biến của gốc axit amin ở vị trí 67 và/hoặc sự đột biến của gốc axit amin ở vị trí 215.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định do đó bao gồm miền F1 và miền F2, trong đó polypeptit bao gồm đột biến của gốc axit amin ở vị trí 67 và/hoặc đột biến của gốc axit amin ở vị trí 215, và ít nhất một đột biến nữa được chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 161;
- (b) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 182;
- (c) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 173; và

(d) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 489 thành C (D489C) hoặc đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 487 thành C (E487C).

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định bao gồm miền F1 và miền F2, trong đó polypeptit bao gồm sự đột biến của gốc axit amin N hoặc T ở vị trí 67 và/hoặc sự đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 215, và trong đó polypeptit còn bao gồm ít nhất một đột biến khác được chọn từ nhóm bao gồm:

(a) đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 161 thành P, Q hoặc G (E161P, E161Q hoặc E161G);

(b) đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 182 thành P (S182P);

(c) đột biến của gốc axit amin S, T hoặc N ở vị trí 173 thành P (S173P); và

(d) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 489 thành C (D489C) hoặc đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 487 thành C (E487C).

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định bao gồm trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 axit amin, liên kết miền F1 và miền F2.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định theo sáng chế do đó bao gồm miền F1 và miền F2, và trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 gốc

axit amin, liên kết miền F1 với miền F2, trong đó polypeptit bao gồm ít nhất một đột biến được chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 161 thành P, Q hoặc G (E161P, E161Q hoặc E161G);
- (b) đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 182 thành P (S182P);
- (c) đột biến của gốc axit amin S, T hoặc N ở vị trí 173 thành P (S173P), và
- (d) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 489 thành C (D489C) hoặc đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 487 thành C (E487C)

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

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định theo sáng chế bao gồm miền F1 cắt cụt.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định theo sáng chế do đó bao gồm miền F1 cắt cụt và miền F2 và tùy ý trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 gốc axit amin, liên kết miền F1 cắt cụt với miền F2, trong đó polypeptit bao gồm ít nhất một đột biến của được chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 161 thành P, Q hoặc G (E161P, E161Q hoặc E161G);
- (b) đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 182 thành P (S182P);
- (c) đột biến của gốc axit amin S, T hoặc N ở vị trí 173 thành P (S173P); và
- (d) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 489 thành C (D489C) hoặc đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 487 thành C (E487C)

Theo các phương án nhất định, polypeptit còn bao gồm đột biến của gốc axit amin N hoặc T ở vị trí 67 và/hoặc đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 215. Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định còn bao gồm đột biến của gốc

axit amin N hoặc T ở vị trí 67 (N/T67I) thành I và/hoặc đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 215 thành P (S215P).

Do đó, theo sáng chế, polypeptit theo sáng chế bao gồm ít nhất một sự đột biến ổn định trong miền F1 và/hoặc miền F2 khi so với miền RSV F1 và/hoặc miền F2 ở protein RSV F thuần chủng. Điều đã biết là RSV tồn tại như là kiểu huyết thanh đơn có hai nhóm phụ kháng nguyên: A và B. Các trình tự axit amin của các protein F được xử lý trưởng thành của hai nhóm là giống nhau khoảng 93%. Như được sử dụng trong toàn bộ đơn, các vị trí axit amin được cho dựa vào trình tự của protein RSV F từ chủng A2 (SEQ ID NO: 1). Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “axit amin ở vị trí “x”” của protein RSV F như thế có nghĩa là axit amin tương ứng với axit amin ở vị trí “x” trong protein RSV F của chủng RSV A2 có SEQ ID NO: 1. Lưu ý rằng, trong hệ thống đánh số được sử dụng trong toàn bộ đơn 1 biểu thị axit amin đầu cuối N của protein F0 chưa trưởng thành (SEQ ID NO: 1). Khi chủng RSV ngoài chủng A2 được sử dụng, thì các vị trí axit amin của protein F được đánh số có dựa vào cách đánh số của protein F của chủng A2 có SEQ ID NO: 1 bằng cách căn chỉnh các trình tự của chủng RSV khác với protein F có SEQ ID NO: 1 với sự chèn các khoảng trống nếu cần thiết. Các căn chỉnh trình tự có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, chẳng hạn, bởi CLUSTALW, Bioedit hoặc CLC Workbench.

Axit amin theo sáng chế có thể là axit bất kỳ thuộc mười hai axit tìm thấy tự nhiên (hoặc axit amin “chuẩn”) hoặc các biến thể của chúng, chẳng hạn như là, axit D-amin (các đồng phân đối hình-D của các axit amin có tâm bất đối xứng), hoặc các biến thể bất kỳ mà không tìm thấy tự nhiên trong các protein, chẳng hạn như là, norleuxin. Axit amin chuẩn có thể được chia thành một số nhóm dựa trên các thuộc tính của chúng. Các yếu tố quan trọng là đặc tính tích điện, ưa nước hoặc kỵ nước, các nhóm chức và kích thước. Các đặc tính này là quan trọng đối với cấu trúc protein và tương tác protein-protein. Một số axit amin có các thuộc tính đặc biệt chẳng hạn xystein, mà có thể tạo ra các liên kết disulfit cộng hóa trị (hoặc các cầu disulfit) với các phần xystein khác, prolin làm xoay trục chính polypeptit, và glycin linh động hơn các axit amin khác. Bảng 17 thể hiện tên viết tắt và thuộc tính của các axit amin chuẩn.

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

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp có chiều dài đầy đủ.

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

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

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

- (a) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 46;
- (b) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 77;
- (c) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 80;
- (d) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 92;
- (e) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 184;
- (f) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 185;
- (g) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 201;
- (h) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 209;
- (i) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 421;

- (j) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 426;
- (k) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 465;
- (l) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 486;
- (m) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 487; và
- (n) đột biến của gốc axit amin ở vị trí 508.

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

- (a) đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 46 thành G (S46G);
- (b) đột biến của gốc axit amin K ở vị trí 77 thành E (K77E);
- (c) đột biến của gốc axit amin K ở vị trí 80 thành E (K80E);
- (d) đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 92 thành D (E92D);
- (e) đột biến của gốc axit amin G ở vị trí 184 thành N (G184N);
- (f) đột biến của gốc axit amin V ở vị trí 185 thành N (V185N);
- (g) đột biến của gốc axit amin K ở vị trí 201 thành Q (K201Q);
- (h) đột biến của gốc axit amin K ở vị trí 209 thành Q (K209Q);
- (i) đột biến của gốc axit amin K ở vị trí 421 thành N (K421N);
- (j) đột biến của gốc axit amin N ở vị trí 426 thành S (N426S);
- (k) đột biến của gốc axit amin K ở vị trí 465 thành E hoặc Q (K465Q);
- (l) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành N (D486N);
- (m) đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 487 thành Q, N hoặc I (E487Q/N/I); và
- (n) đột biến của gốc axit amin K ở vị trí 508 thành E (K508E).

Như được mô tả ở trên, theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp bao gồm đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với D489C hoặc E487C. Các đột biến đôi này với hai xystein nữa tạo ra trong cầu disulfit liên tiểu đơn vị giữa các protein F1 để tạo thành liên kết cộng hóa trị giữa các protome và làm ổn định cấu trúc RSV F trước dung hợp.

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

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp bao gồm ít nhất hai đột biến (khi so với protein RV F loại-thuần chủng).

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

Theo các phương án nhất định, polypeptit bao gồm ít nhất bốn, năm hoặc sáu đột biến.

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

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

Theo các phương án nhất định khác, miền F1 được cắt ngắn sau khi gốc axit amin 495 của protein RSV F (xem SEQ ID NO: 1), cụ thể là, phần đầu cuối-C của miền F1 bắt đầu từ gốc axit amin 496 (xem SEQ ID NO: 1) đã được xóa bỏ. Theo các phương án nhất định khác, miền F1 được cắt ngắn sau gốc axit amin 513 của protein RSV F. Theo các phương án nhất định, miền F1 được cắt ngắn sau gốc axit amin 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524 hoặc 525.

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

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

Như được mô tả ở trên, theo các phương án nhất định, miền F1, mà được cắt ngắn một cách tùy ý, và miền F2 được liên kết bởi trình tự liên kết, liên kết axit amin đầu cuối-

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

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

Theo các phương án nhất định, miền F1 và/hoặc miền F2 là từ chủng RSV A2 của SEQ ID NO: 69.

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

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

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

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

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp theo sáng chế có độ ổn định được gia tăng do lưu trữ ở 4°C khi so với polypeptit RSV F không có (các) đột biến. Theo các phương án nhất định, polypeptit là ổn định khi lưu trữ ở 4°C trong ít nhất 30 ngày, tốt hơn là ít nhất 60 ngày, tốt hơn là ít nhất 6 tháng, thậm chí tốt hơn nữa là ít

nhất 1 năm. Đối với thuật ngữ “ổn định khi lưu trữ”, nó có nghĩa là polypeptit vẫn thể hiện ít nhất một epitop đặc trưng cho kháng thể đặc trưng trước dung hợp (chẳng hạn, CR9501) khi lưu trữ polypeptit trong dung dịch (chẳng hạn, môi trường nuôi cấy) tại 4° C trong ít nhất 30 ngày, chẳng hạn, như được xác định bằng cách sử dụng phương pháp như được mô tả trong Ví dụ 8 hoặc 10. Theo các phương án nhất định, polypeptit thể hiện ít nhất một epitop trước dung hợp-đặc trưng trong ít nhất 6 tháng, tốt hơn là trong ít nhất 1 năm khi lưu trữ polypeptit RSV F trước dung hợp ở 4°C.

Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp theo sáng chế có độ ổn định được gia tăng khi chịu nhiệt, khi so với Polypeptit RSV F không có (các) đột biến này. Theo các phương án nhất định, polypeptit REV F trước dung hợp là ổn định nhiệt trong ít nhất 30 phút tại nhiệt độ là 55° C, tốt hơn là tại 58° C, tốt hơn nữa là tại 60° C. Đối với thuật ngữ “ổn định nhiệt”, nó có nghĩa là polypeptit vẫn thể hiện ít nhất một epitop trước dung hợp-đặc trưng sau khi đã được chịu nhiệt độ tăng trong ít nhất 30 phút (cụ thể là, nhiệt độ là 55°C hoặc hơn), chẳng hạn, như được xác định bằng cách sử dụng phương pháp như được mô tả trong Ví dụ 9.

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

Theo các phương án ưu tiên nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin được lựa chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 90-94. Theo các phương án nhất định, polypeptit RSV F trước dung hợp theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin được lựa chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 90-94.

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

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

tiết. Theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế không bao gồm trình tự chính.

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

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

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

Theo các phương án ưu tiên, các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế tối ưu hóa-codon để biểu hiện trong các tế bào động vật có vú, tốt hơn là các tế bào người. Các phương pháp tối ưu hóa-codon là đã biết và đã được mô tả trước đây (chẳng hạn, WO 96/09378). Trình tự được cân nhắc tối ưu hóa-codon nếu ít nhất một codon không ưu tiên khi so với trình tự loại thuần chủng được thay thế bởi codon được ưu tiên hơn. ở đây, codon không ưu tiên là codon được sử dụng ít thường xuyên trong cơ quan hơn codon khác mã hóa cho cùng axit amin, và codon được ưu tiên hơn là codon được sử dụng thường xuyên trong cơ quan hơn codon không ưu tiên. Tần suất sử dụng codon đối với cơ quan đặc trưng có thể được tìm thấy trong các bảng tần suất codon, như là trong <http://www.kazusa.or.jp/codon>. Tốt hơn là nhiều hơn một codon không ưu tiên, tốt hơn là hầu hết hoặc tất cả codon không ưu tiên, được thay thế bởi codon được ưu tiên hơn. Tốt hơn là các codon được sử dụng thường xuyên nhất trong cơ quan được sử dụng trong trình tự tối ưu hóa-codon. Sự thay thế bởi các codon ưu tiên thường dẫn đến biểu hiện cao hơn.

Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng nhiều polynucleotit và phân tử axit nucleic khác nhau có thể mã hóa cùng polypeptit là kết quả của sự thoái giáng của mã gen. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực cũng hiểu rằng có thể, bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường, làm cho sự thay thế nucleotit không ảnh hưởng trình tự polypeptit được mã hóa bởi các phân tử axit nucleic để cho thấy sự sử dụng codon của cơ quan vật

chủ cụ thể bất kỳ trong đó polypeptit sẽ được thể hiện. Do đó, trừ khi được chỉ ra khác, "trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin" bao gồm mọi trình tự nucleotit mà không phải là các phiên bản thoái giáng của nhau và mã hóa cùng trình tự axit amin. Các trình tự nucleotit mã hóa các protein và ARN có thể hoặc có thể không bao gồm các intron.

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

Sáng chế cũng đề xuất các vector bao gồm phân tử axit nucleic như được mô tả ở trên. Theo các phương án nhất định, phân tử axit nucleic theo sáng chế như vậy là một phần của vector. Các vector này có thể dễ dàng được thao tác bởi các phương pháp đã biết đối với chuyên gia trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, và có thể, ví dụ, được thiết kế có khả năng sao chép trong các tế bào nhân sơ và/hoặc nhân thật. Ngoài ra, nhiều vector có thể được sử dụng để biến nạp các tế bào nhân thật và sẽ hợp nhất toàn phần hoặc một phần thành hệ gen của các tế bào này, dẫn đến các tế bào vật chủ ổn định bao gồm axit nucleic được mong muốn trong hệ gen của chúng. Vector được sử dụng có thể là vector bất kỳ mà thích hợp để tách dòng ADN và có thể được sử dụng để phiên mã axit nucleic quan tâm. Các vector phù hợp theo sáng chế là, chẳng hạn, adenocác vector, chẳng hạn như là, Ad26 hoặc Ad35, alphavirut, paramyxovirut, vaccinia virut, herpes virut, retrovirut các vector v.v.. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có khả năng lựa chọn các vector biểu hiện phù hợp, và chèn các trình tự axit nucleic theo sáng chế theo cách thức functional manner.

Các tế bào vật chủ bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F trước dung hợp cũng tạo ra một phần của sáng chế. Polypeptit RSV F trước dung hợp có thể được tạo ra thông qua công nghệ ADN tái tổ hợp bao gồm biểu hiện của các phân tử trong các tế bào vật chủ, chẳng hạn, các tế bào buồng trứng chuột lang Trung Quốc (Chinese hamster ovary - CHO), các dòng tế bào u, các tế bào BHK, các dòng tế bào người như là các tế bào HEK293, các tế bào pef PER.C6, hoặc men, nấm, các tế bào côn trùng, và các tế bào tương tự, hoặc động vật hoặc thực vật gen chuyển. Theo các phương

án nhất định, các tế bào này là từ cơ quan đa bào, theo các phương án nhất định chúng thuộc nguồn gốc động vật có xương sống hoặc động vật không có xương sống. Theo các phương án nhất định, các tế bào này là các tế bào động vật có vú. Theo các phương án nhất định, các tế bào này là các tế bào người. Nói chung, việc tạo ra các protein tái tổ hợp, như polypeptit RSV F trước dung hợp theo sáng chế, trong tế bào vật chủ bao gồm việc đưa phân tử axit nucleic khác loại mã hóa polypeptit theo định dạng biểu hiện được vào tế bào vật chủ, nuôi cấy các tế bào này trong các điều kiện truyền dẫn đối với biểu hiện của phân tử axit nucleic và cho phép biểu hiện của polypeptit trong tế bào này. Phân tử axit nucleic mã hóa protein ở định dạng biểu hiện được có thể ở dạng catxet biểu hiện, và thường yêu cầu các trình tự có khả năng lộ ra biểu hiện của axit nucleic, như là (các) trình tự tăng cường, trình tự khởi đầu phiên mã, tín hiệu polyadenyl hóa, và trình tự tương tự. Chuyên gia trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật nhận thức rằng các trình tự khởi đầu phiên mã khác nhau có thể được sử dụng để thu được biểu hiện của gen trong các tế bào vật chủ. Các trình tự khởi đầu phiên mã có thể là cơ bản hoặc được điều hòa, và có thể thu được từ nhiều nguồn khác nhau, bao gồm virus, các nguồn nhân sơ, hoặc nhân thật, hoặc được thiết kế nhân tạo.

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

“Phân tử axit nucleic khác loại” (cũng được dẫn chiếu đến ở đây như là ‘gen chuyển’) là phân tử axit nucleic không tự nhiên có mặt trong tế bào vật chủ. Nó được đưa vào, ví dụ, vectơ bởi các kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn. Gen chuyển thường được liên kết hoạt động được với các trình tự điều khiển biểu hiện. Điều này có thể, ví dụ, được thực hiện bằng cách đặt axit nucleic mã hóa (các) gen chuyển dưới sự điều khiển của trình tự khởi đầu phiên mã. Các trình tự điều hòa khác có thể được bổ sung. Nhiều trình tự khởi đầu phiên mã có thể được sử dụng cho sự biểu hiện của (các) gen chuyển, và là đã biết đối với chuyên gia trung bình trong lĩnh vực, chẳng hạn, các trình tự này có thể bao gồm các trình tự khởi đầu phiên mã virus, động vật có vú, nhân tạo, và trình tự tương tự. Ví dụ không để giới hạn của trình tự khởi đầu phiên mã phù hợp để thu được biểu hiện trong các

tế bào nhân thật là trình tự khởi đầu phiên mã-CMV (US 5,385,839), chẳng hạn, trình tự khởi đầu phiên mã sớm tức thì CMV, ví dụ bao gồm nt. -735 đến +95 từ trình tự tăng cường gen/trình tự khởi đầu phiên mã sớm tức thì CMV. Tín hiệu polyadenyl hóa, ví dụ, tín hiệu polyA hoocmon sinh trưởng của bò (US 5,122,458), có thể có mặt sau (các) gen chuyển. Theo cách khác, một số các vectơ được sử dụng rộng rãi biểu hiện là sẵn có trong lĩnh vực kỹ thuật và từ các nguồn thương mại, chẳng hạn, chuỗi vectơ pcADN và pEF của Invitrogen, pMSCV và pTK-Hyg từ BD Sciences, pCMV-Script từ Stratagene, v.v., các vectơ này có thể được sử dụng để biểu hiện tái tổ hợp protein quan tâm, hoặc để thu được các trình tự khởi đầu phiên mã và/hoặc các trình tự kết thúc phiên mã, các trình tự polyA phù hợp, và trình tự tương tự.

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

Sáng chế còn đề xuất các hợp chất bao gồm polypeptit RSV F trước dung hợp và/hoặc phân tử axit nucleic, và/hoặc vectơ, như được mô tả ở trên. Như vậy, sáng chế đề xuất các hợp chất bao gồm polypeptit RSV F trước dung hợp mà thể hiện epitop có mặt trong cấu trạng trước dung hợp của protein RSV F nhưng không có mặt trong cấu trạng sau-dung hợp. Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất bao gồm phân tử axit nucleic và/hoặc vectơ, mã hóa polypeptit RSV F trước dung hợp này. Sáng chế còn đề xuất các hợp chất sinh miễn dịch bao gồm polypeptit RSV F trước dung hợp, và/hoặc phân tử axit nucleic,

và/hoặc vector, như được mô tả ở trên. Sáng chế cũng đề xuất cách sử dụng polypeptit RSV F trước dung hợp được ổn định, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector, theo sáng chế, để cảm sinh đáp ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng. Còn được đề xuất là các phương pháp để cảm sinh đáp ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng, bao gồm dùng polypeptit RSV F trước dung hợp, và/hoặc phân tử axit nucleic, và/hoặc vector, theo sáng chế cho đối tượng. Cũng được đề xuất là polypeptit RSV F trước dung hợp, các phân tử axit nucleic, và/hoặc các vector, theo sáng chế để dùng trong cảm sinh đáp ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng. Còn được đề xuất là cách sử dụng polypeptit RSV F trước dung hợp, và/hoặc các phân tử axit nucleic, và/hoặc các vector theo sáng chế để sản xuất được phẩm để sử dụng trong cảm sinh đáp ứng miễn dịch chống protein RSV F ở đối tượng.

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

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

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp để ngăn chặn và/hoặc điều trị sự xâm nhiễm RSV ở đối tượng utilizing polypeptit RSV F trước dung hợp, các phân tử axit nucleic và/hoặc các vector theo sáng chế. Trong a đặc trưng phương án, a phương pháp for ngăn chặn và/hoặc điều trị xâm nhiễm RSV ở đối tượng bao gồm dùng to a đối tượng trong need của chúng an lượng hiệu quả a polypeptit RSV F trước dung hợp, phân tử axit nucleic và/hoặc vector, như được mô tả ở trên. Lượng chữa trị hiệu quả biểu thị lượng polypeptit,

phân tử axit nucleic hoặc vector, hiệu quả để ngăn chặn, cải thiện và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng do xâm nhiễm RSV. Sự ngăn chặn bao gồm ức chế hoặc làm giảm sự lây lan của RSV hoặc ức chế hoặc làm giảm sự tấn công, phát triển hoặc tiến triển của một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến sự xâm nhiễm bởi RSV. Sự cải thiện như được sử dụng ở đây có thể đề cập đến sự suy giảm của các triệu chứng bệnh thấy được hoặc cảm nhận được, virut-huyết, hoặc biểu hiện đo được khác bất kỳ của sự nhiễm RSV.

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

Theo các phương án nhất định, hợp chất theo sáng chế còn bao gồm một hoặc nhiều tá dược. Các tá dược được biết trong lĩnh vực kỹ thuật là còn gia tăng đáp ứng miễn dịch cho chất quyết định kháng nguyên được sử dụng. Các thuật ngữ "tá dược" và "chất kích thích miễn dịch" được sử dụng thay thế được cho nhau ở đây, và được định nghĩa là

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

(a) đột biến ổn định trong vùng HRA giữa các chi tiết của cấu trúc thứ cấp trong F trước dung hợp mà được chuyển nạp thành một cuộn xoắn lớn trong F sau dung hợp; và

(b) việc đưa hai gốc xystein gần với trục gấp 3 ở đáy của đầu tận cùng N đầu RSV-F trước dung hợp vào gốc trước dung hợp (các gốc 493 – 525), đầu tận cùng N của HRB) mà liên kết cộng hóa trị các tiểu đơn vị F1 trong trime.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong vùng HRA ở vị trí 161.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong vùng HRA ở vị trí 173.

Theo các phương án nhất định, sự đột biến trong vùng bản lề HRA ở vị trí 182.

Theo các phương án nhất định, việc đưa vào hai gốc xystein là ở vị trí 486 và 489.

Theo các phương án nhất định, việc đưa vào hai gốc xystein là ở vị trí 486 và 487.

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

Ví dụ thực hiện sáng chế

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

Ví dụ 1

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

Theo đơn sáng chế đồng dạng PCT/EP2014/058353, các biến thể được ổn định của protein F trước dung hợp tan được (sF) được thiết kế bằng cách ổn định hai vùng chính khởi đầu gấp nếp. Phương pháp thứ nhất để hoãn sự dung hợp peptit ở vị trí của nó và ngăn chặn nó không giải phóng khỏi phần đầu bằng cách cố định và liên kết các miền F1 - F2 bởi vòng ngắn. Sự giải phóng peptit dung hợp có thể được ngăn chặn bằng cách tái thiết lập liên kết cộng hóa trị của các đầu cuối N của F1 với các đầu cuối C của F2. Như được thể hiện trong ví dụ này, một số mạch liên kết khác nhau đã được thử. Việc chèn 5 vòng axit amin ở giữa F1 và F2, cụ thể là bao gồm trình tự axit amin GSGSG (SEQ ID NO: 5), là thành công nhất.

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

Một số cấu trúc được thực hiện dựa trên các chủng RSV A2 hoặc B1. Các miền trime hóa khác nhau được liên kết với miền RSV F1, miền này được cắt ngắn ở các vị trí khác nhau. Các miền trime hóa được kiểm tra bao gồm môtip Fibritin (bao gồm trình tự axit amin: GYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL (SEQ ID NO: 4), và môtip “Fibritin dài”, là miền fibritin được mở rộng đầu cuối-N dài hơn, bao gồm các vùng xoắn

tự nhiên của nó (bao gồm trình tự axit amin: SSLQGDVQALQEAGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL (SEQ ID NO: 6), mà được bổ sung vào miền RSV F1 trong khung (trong máy ghi) với sự lắp bộ bẫy được dựa đoán của vùng HRB.

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

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

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

GCN4II

EDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGEA (SEQ ID NO: 9)

GCN4II tối ưu hóa

EDKVEELLSKIYHIENRIARIEKLVGEA (SEQ ID NO: 10)

Matrilin -1 (bản dài)

EEDPCECKSIVKFQTKVEELINTLQQKLEAVAKRIEALenkII (SEQ ID NO:

11)

Matrillin- 1 bản ngắn chỉ chứa miền khóa kéo:

EELINTLQQKLEAVAKRIEALenkII (SEQ ID NO: 12)

Các cấu trúc sau được tạo ra:

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

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

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

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

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

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

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

Mọi cấu trúc bao gồm thẻ-HIS.

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

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

Các dịch nổi từ ngày 5 được đánh giá về biểu hiện protein F bởi thí nghiệm western blot bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng CR9503, mà bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể RSV F Motavizumab (được gọi là CR9503). Các mức biểu hiện thích hợp của các cấu trúc protein RSV F trước dung hợp được đánh giá bằng cách sử dụng CR9503, là kháng thể thứ cấp được tiếp hợp nhuộm-hồng ngoại kháng-người (Li-Cor, Lincoln, NE) hoặc IgG chuột kháng người được tiếp hợp HRP (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA). Các số lượng Protein sau đó được ước lượng bằng cách sử dụng chuỗi pha loãng của protein tiêu chuẩn RSV được tinh lọc, bằng mắt hoặc bằng cách sử dụng hệ thống tạo ảnh chiếu hồng ngoại Odyssey CLx. Để đánh giá độ ổn định cấu trúc và để nhận dạng các tác động ổn định dương tính hoặc âm tính của các motif trimer hóa được đưa vào, các cấu trúc có khả năng gắn kết CR9501 được xử lý tại khoảng nhiệt độ từ 45 đến 65 °C trong 30 phút để kiểm tra độ ổn định của epitop CR9501. Quy trình này được mô tả chi tiết trong Ví dụ 9. Các kết quả được tổng hợp trong Bảng 1.

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

Protein RSV	Mô tả				Độ ổn định*
	Mô típ trimer hóa	Các biến đổi	Điểm cuối	Biểu hiện(ug/ml)	
F18	Fibritin	Không có	513	2	không ổn định
F19	Fibritin	Không có	499	0	ND
F20	Khóa kéo isoleuxin (L)	502 509 516 Ile	516	0	ND
F21	Khóa kéo isoleuxin (L)	Không có	501	0	ND
F22	Khóa kéo isoleuxin	K483E + E488K	495	0	ND

	(L)				
F23	Khóa kéo isoleuxin (S)	Không có	495	0,3 ¹	ổn định
F46	Khóa kéo isoleuxin (S)	Không có	513	Không biểu hiện	ND
*Độ ổn định được xác định như được mô tả trong Ví dụ 8; ND: Không được xác định. ¹ Mức biểu hiện được xác định bởi Western Blot như được mô tả trong Ví dụ 1.					

Như có thể thấy trong Bảng 1, chỉ các cấu trúc được thể hiện là biến thể Fibrin (F18) và F23. Mặc dù F18 là biểu hiện trime và được thể hiện, nhưng nó không ổn định khi lưu trữ tại 4° C. ngược lại, F23 ổn định tại 4° C, gắn kết với các kháng thể trước dung hợp–đặc trưng, nhưng là monome. Do đó, cả hai biến thể F18 và F23 được sử dụng để tối ưu hóa cả độ ổn định và sự trime hóa.

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

Một số các cấu trúc được tạo ra bao gồm các cấu trúc trong đó cả hai furin phân tách vị trí được đột biến dẫn đến protein F tan được, protein này vẫn chứa peptit p27 (cụ thể là, F12, F15.1, và F17). Trong các cấu trúc khác, vùng phần 27 (vòng P27) được phân cắt từ tiền chất F0 được thay thế bởi vòng đóng khác: bằng cách thay thế vùng của RSV-F bởi vùng ‘cùng loại’ của PIV-5 F, protein F trước dung hợp đã được tạo ra và tinh thể hóa thành công (F25), hoặc bằng cách thay thế vùng này bởi vòng (GS)_n tối thiểu mà nối cầu các đầu cuối của F2 và F1 (F24), hoặc bằng cách thay thế vùng này bởi vùng dự trữ trung tâm của RSV-G (F26). Lập mô hình tương đồng của RSV-F dựa trên PIV-5 và các phép

đo trên máy tính dẫn đến sự lựa chọn vòng tối thiểu của 5 gốc axit amin ở giữa các phần 108 và 136. Đối với mạch liên kết, các phần Gly (G) và Ser (S) được chọn, các phần này linh hoạt và phân cực và có khả năng cao được điều chỉnh phù hợp (F24). Ngoài ra, F137 được đột biến thành S vì các biến đổi tại chỗ được gây ra bởi vòng có thể dịch vị F kỵ nước và gây ra các bất ổn. Điều này được thể hiện dưới đây. Ngoài ra R106 được đột biến thành các phần Q và 27 (109-135) được thay thế bởi GSGSG.

PAANNRARREAPQYMNYTINTTKNLNVSISKRR₁₃₆FLGFLLGVG

PAANNQAR GSGSGR₁₃₆SLGFLLGVG

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

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

Protein RSV	Biến thể	Mô tả					Độ ổn định*
		Mô típ trime hóa	Liên kết F1, F2	Các biến đổi	Điểm cuối	Biểu hiện (ug/ml)	
F11	B1	Không có	Không có	Không có	513	2,5	ổn định
F18	B1	Fibrin	Không có	Không có	513	2	không ổn định
F12	B1	Fibrin	p27	Furin site KO	513	0,1	không ổn định
F15.1	B1	Không có	p27	Furin site KO	525	0,5	ND
F17	A2	Fibrin	p27	Furin site KO	513	0	ND

F24	B1	Fibritin	Q_GSGSG_	Không có	513	44	không ổn định
F25	B1	Fibritin	PIV	Không có	513	0	ND
F26	B1	Fibritin	G CR	Không có	513	0	ND

*Độ ổn định được xác định như được mô tả trong Ví dụ 8. Mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1.

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

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

Protein RSV	Biến thể	Điểm cuối	Mô tả			Độ ổn định của epitop CR9501)	
			Mô típ trime hóa	Liên kết F1, F2	(ug/ml)	Nhiệt độ (°C)	Lưu trữ
F11	B1	513	Không có	Không có	2.5	48	ổn định
F23	B1	495	Khóa kéo isoleuxin (S)	Không có	0.3	ND	ổn định
F24	B1	513	Fibritin	Q_GSGSG_S	44	51	Không ổn định
F45	B1	495	Fibritin	Không có	0	ND	ND
F44	B1	495	Fibritin	Q_GSGSG_S	0	ND	ND
F49	B1	495	Không có	Không có	2	ND	ổn định
F50	A2	495	Không có	Không có	2	ND	ổn định
F43	B1	495	Khóa kéo isoleuxin (S)	Q_GSGSG_S	0.4	53	ổn định

F47	A2	495	Khóa kéo isoleuxin (S)	Q__GSGSG_S	5	52	ổn định
F56	B1	513	Khóa kéo isoleuxin (S)	Q__GSGSG_S	0,4	ND	ổn định
F46	B1	513	Khóa kéo isoleuxin (S)	Không có	0	ND	không ổn định
F42	B1	513	Không có	Q__GSGSG_S	20	54	ổn định
F57	A2	513	Không có	Q__GSGSG_S	2-10	54	ổn định

ND không được xác định

*Độ ổn định lưu trữ như được xác định trong Ví dụ 8. *Độ ổn định gia nhiệt như được xác định trong Ví dụ 9. Mức biểu hiện như được xác định bởi Western blotting (được mô tả trong Ví dụ 1).

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

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

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

Protein RSV	Biến thể	Mô típ trime hóa	Liên kết F1, F2	Điểm cuối	Biểu hiện ug/ml	Trimer hóa %	Nhiệt độ (°C)	Lưu trữ	Thẻ
F24	B1	Fibrin	Q__GSGSG_S	513	44	Trimeric (SEC)	51	không ổn	Thẻ His

								định	
F24-	B1	Fibritin	Q__GSGSG _S	513	55	100% (Native)	ND	khôn g ổn định	Không có
F47	A2	Khóa kéo isoleux in (S)	Q__GSGSG _S	495	5	0% (Odysse y)	52	ổn định	Thẻ His
F47-	A2	Khóa kéo isoleux in (S)	Q__GSGSG _S	495	10	2-5% (Odysse y)	53	ổn định	Không có
A2_F 24	A2	Fibritin	Q__GSGSG _S	513	5,3	Trimeri c (Native)	48,7 5	khôn g ổn định	Không có

*Độ ổn định lưu trữ được xác định như được mô tả trong Ví dụ 8; Độ ổn định gia nhiệt được xác định như được mô tả trong Ví dụ 9; ND: không được xác định.

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

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

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

Protein RSV	Biến thể	Mô tả				Trime hóa %	Liên kết kháng thể	
		Mô	típ	Các	Điểm	Biểu	CR9501	CR950

		trime hóa	biến đổi	cuối	hiện (ug/ml)			3
F47	A2	Khóa kéo isoleuxi n (S)	Không có	495	5	0%	+	+
P1	B1	Khóa kéo isoleuxi n (S)	S502T	502	3.5	0%	+	+
Mat1	A2	Matrilli n dài	Không có	520	12	tri và hexame	-	+
Mat2	A2	Matrilli n ngắn	Không có	516	0	ND	-	-
Mat3	A2	Matrilli n ngắn	Không có	495	1,5	ND	-	-
GCN tối ưu hóa	A2	GCN4II tối ưu hóa	Không có	516	0	ND	-	-
GCN tối ưu hóa+L512 K	A2	GCN4II tối ưu hóa	L512K	516	1	ND	+	-

Gắn kết kháng thể được xác định là gắn kết vào ngày thu hoạch (như được mô tả trong Ví dụ 8);

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

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

Chỉ miền matrillin 1 (Dames-SA và cộng sự, Nat. Struc. Biol., 5(8), 1998) chứa cả hai miền khóa kéo đầu cuối-N và phần đầu cuối-C có các phân xystein mà có thể có khả

năng tạo ra các cầu disulfit trime trong được nhận thấy là cho phép các mức biểu hiện cao hơn F47 (Bảng 5, Matrillin dài). Ngoài ra, biến thể có motif trime hóa Matrillin dài thể hiện các protein F trime. Tuy nhiên, sản phẩm này không gắn kết vào Mab CR9501 trước dung hợp đặc trưng và cũng thể hiện các hình thái hexamer mà làm cho miền trime hóa Matrillin 1 không phù hợp để sản xuất protein F trime tự nhiên. Không motif nào trong các motif khóa kéo gốc matrillin hoặc gốc GCN4II thể hiện biểu hiện hoặc độ ổn định được gia tăng so với F47 (Bảng 5, Matrillin ngắn, GCN4II được tối ưu hóa). Lần nữa, sự cắt ngắn ở 495 dẫn đến các mức biểu hiện cao hơn. Sự bổ sung motif GCN4 chứa trình tự khởi động được tối ưu hóa không thể hiện biểu hiện.

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

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

Protein RSV	Biến thể	Mô tả					Độ ổn định	
		Mô típ trime hóa	Liên kết F1, F2	Các biến đổi	Điểm cuối	Biểu hiện (ug/ml)	Nhiệt độ (°C)	Lưu trữ*
F18	B1	Fibrin	Không có	Không có	513	2	ND	không ổn định
F24	B1	Fibrin	Q_GSGSG_S	Không có	513	44	51	không ổn định

F43	B1	Khóa kéo isoleuxi n (S)	Q__GSGSG_ S	Không có	495	0,4	53	ổn định
P1	B1	Khóa kéo isoleuxi n (S)	Q__GSGSG_ S	S502T	502	3.5	54	ND
F42	B1	Không có	Q__GSGSG_ S	Không có	513	16.1	54	ổn định
P2	B1	Không có	K	Không có	513	14,3	54	ổn định
P3	B1	GCN4II	Không có	L512K	516	0	ND	ND
P4	B1	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND
P5	B1	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND
P6	A2 I	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND
P7	A2 II	GCN4II	K	L512K	516	0	ND	ND

Độ ổn định lưu trữ được xác định như được mô tả trong Ví dụ 8; Các mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1; Độ ổn định gia nhiệt được xác định như được mô tả trong Ví dụ 9; ND: không được xác định.

Mối liên kết ngắn giữa F1 và F2 cho thấy có thể so sánh được với Vòng GSGSG. Việc bổ sung motif GCN4II không dẫn đến biểu hiện protein F bất kỳ trong cấu trúc bất kỳ trong các cấu trúc được thử nghiệm (cụ thể là, trình tự RSV A2 F được mô tả trong WO2010/149743 hoặc WO2010/149745, trình tự RSV A2 F được sử dụng theo sáng chế, không phải trình tự RSV B1 F).

Điều được thể hiện là sự đưa vào hai loại này của các biến đổi, cụ thể là, sự đưa vào trình tự liên kết và miền trime hóa khác loại, không đủ để cho phép biểu hiện của protein F trước dung hợp trime ổn định. Ngoài hai vùng chính bất ổn mà được ổn định, cụ thể là, HRB và peptit dung hợp, như được mô tả ở trên, các vùng khác trong protein F trước dung hợp cũng góp phần và/hoặc điều chỉnh phù hợp sự gấp lại đáng kể với F sau-

dung hợp, và nhiều vị trí hơn trong trình tự có thể được tối ưu hóa để ngăn protein F trước dung hợp không gấp lại. Do đó, các gốc axit amin khác nhau trong miền HRA và HRB và trong mọi miền tiếp xúc các vùng này trong F trước dung hợp được đột biến để gia tăng độ ổn định cấu trúc trước dung hợp, như được mô tả trong các Ví dụ sau.

Ví dụ 2

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

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

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

Protein RSV	Biểu hiện (ug/ml)	Trime hóa %	Nhiệt độ (°C)
F47-	10	2-5%	53
F47- + K465E	6	2.4%	ND
F47- + D479K	5	29%	50,77
F47- + K176M	13	5%	ND
F47- + K209Q	9	3%	52,9
F47- + S46G	38	11%	59,38
F47- + S215P	8	1-2%	57,21
F47- + N67I	15	2%	59,84
F47- + K465Q	18	2%	54,3
F47- S46G+N67I	31	6%	>60
F47- S46G+S215P	38	6%	>60
F47- K465Q+K209Q	12	1%	53,3
F47- K465Q+S46G	28	7%	57,7
F47- K465Q+N67I	17	2%	59
F47- K209Q+N67I	15	4%	>60
F47- K209Q+S215P	15	2%	56,7

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

Độ ổn định gia nhiệt được xác định như được mô tả trong Ví dụ 9.

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

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

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

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

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

A2_F24 K465Q*	13,6	92	Không ổn định
A2_F24 E463K	3,1	ND	ND
A2_F24 E463Q	6,0	ND	ND
A2_F24 G430S	4,8	ND	ND
A2_F24 N428R	5,2	35	ND
A2_F24 N426S	18,6	71	ND
A2_F24 K421N	9,2	75	ND
A2_F24 E328K	9,5	21	ND
A2_F24 T311S	3,5	70	ND
A2_F24 I309V	11,3	69	ND
A2_F24 D269V	0,0	ND	ND
A2_F24 S215P*	18,7	99	ổn định
A2_F24 K209Q	31,4	63	ND
A2_F24 V207P	3,3	79	ND
A2_F24 I206P	5,4	55	ND
A2_F24 L204P	5,9	ND	ND
A2_F24 L203P	0,8	ND	ND
A2_F24 Q202P	4,4	ND	ND
A2_F24 K201Q	21,3	62	ND
A2_F24 D194P	1,9	ND	ND
A2_F24 L193P	6,5	42	ND
A2_F24 V192P	0,6	32	ND
A2_F24 V185N	50,2	38	ND
A2_F24 GV184EG	3,5	ND	ND
A2_F24 G184N	59,8	37	ND
A2_F24 V178P	14,8	23	ND
A2_F24 A177P	2,0	ND	ND
A2_F24 K176M	14,7	58	ND
A2_F24 K176E	0,7	ND	ND

A2_F24 N175P	34,3	55	ND
A2_F24 S169P	0,5	ND	ND
A2_F24 K168P	0,1	ND	ND
A2_F24 K166P	12,3	45	ND
A2_F24 V157P	0,2	ND	ND
A2_F24 E92D	47,4	94	Không ổn định
A2_F24 K85E	1,1	ND	ND
A2_F24 K80E	51,9	60	ND
A2_F24 K77E	22,4	ND	ND
A2_F24 N67I*	89,8	101	ổn định
A2_F24 I57V		ND	ND
A2_F24 VI56IV	16,5	54	ND
A2_F24 S46G*	40,7	96	Không ổn định

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

Mức biểu hiện được xác định như được mô tả trong Ví dụ 1. Độ ổn định điểm kết thúc được thể hiện ở đây là phần trăm của sự gắn kết kháng thể trước dung hợp (CR9501) sau 5 ngày lưu trữ ở 4°C so với ngày 1; Độ ổn định pha liên kết được xác định như được mô tả trong Ví dụ 10.

Nhiều đột biến gia tăng biểu hiện của A2_F24-. Đối với hầu hết các đột biến, có sự tương quan rõ ràng giữa biểu hiện được cải thiện ở nền-F47 (Bảng 7) và nền-A2_F24 (Bảng 8). N67I có tác động dương tính hơn lên biểu hiện F ở nền-A2_F24. Sự gia tăng đáng kể nhất trong biểu hiện được thu được với các đột biến điểm đơn: S46G, S215P, N67I, K80E, E92D, D486N, G184N, V185N, E487N, N175P, K209Q, E487I, E487Q, K77E, K201Q, N426S và K465Q. Trong bước sàng lọc ban đầu có sử dụng xét nghiệm độ ổn định điểm kết thúc (Ví dụ 8), các biến thể có biểu hiện cao nhất cũng thể hiện độ ổn định khi lưu trữ tốt nhất (E92D, K465Q, K465E, N426S, S46G, S215P và N67I). Để đánh giá các đột biến này thực sự đang ổn định cấu trạng trước dung hợp, các dịch nổi nuôi cấy

được pha loãng đến 5 và 10 $\mu\text{g/ml}$ dựa trên các kết quả phân tích western định lượng và các phần này được lưu trữ lên đến 33 ngày tại 4°C. Đối với các đột biến điểm đơn, chỉ N67I và S215P hoàn toàn ổn định theo thời gian (xem Ví dụ 10).

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

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

Protein RSV	Biểu hiện ($\mu\text{g/ml}$)	Độ ổn định*
A2_F24 K465Q + S46G	21,8	Không ổn định
A2_F24 K465Q + N67I	122,3	ổn định
A2_F24 K465Q + E92D	10,5	ổn định
A2_F24 K465Q + S215P	59,8	ổn định
A2_F24 S46G + N67I	115,5	ổn định
A2_F24 S46G + E92D	14,3	Không ổn định
A2_F24 N67I + E92D	134,2	ổn định
A2_F24 N67I + S215P	152,1	ổn định
A2_F24 E92D + S215P	49,1	ổn định
A2_F24 K465Q+S215P	53,3	ổn định
A2_F24 S46G+S215P	43,8	ổn định

Độ ổn định lưu trữ biểu thị phân tích pha liên kết được thể hiện trong Ví dụ 10.

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

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

Khi các đột biến điểm được nhận dạng trước đó được kết hợp, thì very các hiệu ứng hiệp trợ rất thú vị có thể quan sát được, đặc biệt về mặt mức biểu hiện có sự kết hợp bao gồm N67I là có hiệu lực nhất. Mọi đột biến kép được tạo ra trong đó N67I hoặc S215P được bao gồm là ổn định sau hơn 30 ngày lưu trữ tại 4 °C (Ví dụ 10). Đáng chú ý là, sự đột biến N67I được nhận thấy có hiệu quả mạnh nhất lên các mức biểu hiện của F trước dung hợp khi được bao gồm trong các đột biến kép. Tiếp theo, các kết hợp với các

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

Như vậy điều được thể hiện là ít nhất một số đột biến dẫn đến các mức biểu hiện được gia tăng và sự ổn định được gia tăng của protein RSV trước dung hợp. Điều được mong đợi là các hiện tượng này có liên hệ. Các đột biến được mô tả trong Ví dụ này đều dẫn đến sự sản sinh gia tăng của polypeptit F trước dung hợp. Chỉ một sự lựa chọn các polypeptit này duy trì ổn định khi lưu trữ lâu (xem Ví dụ 10). Xét nghiệm độ ổn định được sử dụng được dựa trên sự thất thoát của epitop CR9501 trước dung hợp đặc trưng ở đỉnh của protein F trước dung hợp trong xét nghiệm gắn kết và nó có thể không đủ nhạy để đo mọi đóng góp vào độ ổn định của toàn bộ protein. Sự đột biến, mà chỉ biểu hiện được gia tăng được quan sát, do đó (gần như ổn định) là các đột biến tiềm ẩn mà có thể được kết hợp với các đột biến ổn định khác để thu được cấu trúc F trước dung hợp có độ ổn định cao và các mức biểu hiện cao.

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

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

Protein RSV	Biểu hiện (ug/ml)	Độ ổn định*
A2_F24 N67I + S215P+K507E	344,6	++
A2_F24 N67I + S215P+E487I	239,4	+++
A2_F24 N67I + S215P+E487N	285,2	+++
A2_F24 N67I + S215P+E487Q	360,7	+++
A2_F24 N67I + S215P+E487R	130,9	+++
A2_F24 N67I + S215P+D486N	292,6	+++
A2_F24 N67I + S215P+D479N	97,1	+++
A2_F24 N67I + S215P+K465Q	283,3	+++
A2_F24 N67I + S215P+N426S	316,3	+++
A2_F24 N67I + S215P+K421N	288,4	+++
A2_F24 N67I + S215P+K209Q	245,0	+++
A2_F24 N67I + S215P+K201Q	231,9	+++
A2_F24 N67I + S215P+V185N	445,1	+++
A2_F24 N67I + S215P+G184N	326,7	+++
A2_F24 N67I + S215P+E92D	308,8	+
A2_F24 N67I + S215P+K80E	210,6	+
A2_F24 N67I + S215P+S46G	199,4	+++

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

*độ ổn định biểu thị phân tích pha liên kết được thể hiện trong Ví dụ 10.

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

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

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

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

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

Protein RSV	Seq ID	Biểu hiện tương đối * (CR9503)	Độ ổn định** sau ngày 5, %
A2_F18	71	0,018	0,0
A2_F18 N67I		0,449	73,2
A2_F18 S215P		0,129	9,1
A2_F18 E487Q		0,006	NA
A2_F18 N67I, S215P	72	0,484	103,4
A2_F18 N67I, E487Q		0,340	92,1

A2_F18 N67I, S215P, E487Q	76	0,355	92,7
A2_F18 N67I, S215P, E92D	78	0,318	96,0
A2_F18 N67I, S215P, D486N	79	0,522	101,3
A2_F18 N67I, S215P, K201N	77	0,643	102,7
A2_F18 N67I, S215P, K66E		0,800	103,0
A2_F18 N67I, S215P, S46G, K66E		0,820	103,5
A2_F18 N67I, S215P, E487Q, K66E		0,704	99,5
A2_F18 N67I, S215P, E92D, K66E		0,905	98,8
A2_F18 N67I, S215P, D486N, K66E		0,863	96,6
A2_F18 N67I, S215P, K201N, K66E		1,021	105,5
A2_F18 N67I, S215P, D486N, K66E, I76V		0,594	95,0
B1_N67I, S215P	73	0,434	90,9
B1_N67I, S215P loop	22	0,552	108,2
CL57v224_N67I, S215P	74	0,698	94,9
CL57v224_N67I, S215P loop	75	0,615	98,4

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

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

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

Khi các đột biến điểm được nhận dạng trước đó được đưa vào trong A2_F18 (SEQ ID NO. 71), thì độ ổn định và các mức biểu hiện là rất tương tự khi so sánh với biến thể chuỗi đơn F24 (SEQ ID NO. 21) mà chứa vòng ngắn ở giữa F1 và F2. Lần nữa, hiện tượng hiệp trợ được quan sát thấy thể hiện biểu hiện và độ ổn định cao hơn khi các đột

biến được bổ sung vào các biến thể chứa N67I hoặc đột biến kép N67I, S215P. Đột biến điểm kép N67I, S215P không chỉ ổn định F trước dung hợp của chủng A2 mà còn sự trước dung hợp của B1 và chủng CL57-v224 (Bảng 12).

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

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

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

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

N67I, E487Q		không có	2,5	N.D.
N67I, S215P,V185N		không có	2,7	N.D.
N67I, S215P,K508E		không có	3,0	N.D.
N67I, S215P,K80E		không có	3,1	N.D.
N67I, S215P,K465Q		không có	2,9	N.D.
N67I, S215P	80	không có	2,4	++
N67I, S215P, G184N		không có	7,6	++
N67I, S215P, E92D	82	không có	6,8	N.D.
N67I, S215P, S46G	88	không có	6,8	+
N67I, S215P, D486N	86	không có	5,9	+++
N67I, S215P, E487Q	84	không có	6,2	N.D.
N67I, S215P, S46G, K66E		không có	12,1	+++
N67I, S215P, D486N, K66E		không có	9,2	+++
N67I, S215P, S46G, E92D, K66E		không có	11,8	+++
N67I, S215P, S46G, E487Q, K66E		không có	11,0	+++
N67I, S215P, S46G, D486N, K66E		không có	10,5	+++
N67I, S215P, D486N, K66E, I76V		không có	7,2	+++
N67I, S215P, S46G, K66E, I76V		không có	9,7	+++
N67I, S215P, S46G, K80E		không có	4,5	N.D.
N67I+S215P+G184N+K80E+E92D+E487 Q+S46G		không có	9,1	N.D.
Không có		Q__GSGSG _S	3,8	-
N67I, S215P	81	Q__GSGSG _S	6,2	N.D.
N67I, S215P, G184N		Q__GSGSG _S	7,2	++
N67I, S215P, E92D	83	Q__GSGSG _S	5,9	N.D.

N67I, S215P, S46G	89	Q__GSGSG _S	5,3	++
N67I, S215P, D486N	87	Q__GSGSG _S	5,2	+++
N67I, S215P, E487Q	85	Q__GSGSG _S	4,6	N.D.
N67I, S215P, S46G, K66E		Q__GSGSG _S	11,7	+++
N67I, S215P, D486N, K66E		Q__GSGSG _S	13,8	+++
N67I, S215P, D486N, K66E, I76V		Q__GSGSG _S	6,8	+++
N67I+S215P+G184N+K80E+E92D+E487 Q+S46G		Q__GSGSG _S	3,6	N.D.

Mức biểu hiện được xác định bằng cách sử dụng FACS. N.D. – không được xác định.

*mọi biến thể được dựa trên trình tự protein RSV A2 F. ** so sánh với protein loại thuần chủng, gia tăng gấp của MFI trên 9503.

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

*** chú giải cho chỉ báo độ ổn định

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

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

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

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

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

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

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

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

Thay thế axit amin	Biểu hiện tương đối*	Độ ổn định** sau ngày 4, %	Độ ổn định** sau ngày 10, %
N67A	1,696	0,0	0,0
N67C	1,759	16,7	0,0
N67D	1,702	0,0	0,0
N67E	1,357	0,0	0,0
N67F	2,565	102,2	108,1
N67G	0,853	NA	NA
N67H	1,509	0,0	0,0
N67I	3,773	98,2	102,7
N67K	0,487	NA	NA
N67L	3,609	107,5	96,4
N67M	2,579	87,3	78,7
N67P	2,414	14,3	0,0

N67Q	0,955	NA	NA
N67R	0,523	NA	NA
N67S	1,277	0,0	0,0
N67T	1,577	0,0	0,0
N67V	2,457	84,2	77,0
N67W	1,794	99,9	104,3
N67Y	1,830	61,3	45,8

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

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

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

Ví dụ 3

Điều chế polypeptit RSV F trước dung hợp ổn định theo sáng chế

Theo nghiên cứu dẫn đến sáng chế, các biến thể ổn định khác của protein F trước dung hợp tan được (sF) được thiết kế bằng cách làm ổn định hai vùng chính khởi đầu gấp nếp. Phương pháp thứ nhất đã tránh được sự gấp lại của vùng HRA thành cuộn xoắn. Phương pháp thứ hai đã tạo ra cầu disulfit đầu tận cùng N với HRB để tránh HRB trở lại để tạo thành sáu bó cấu trúc xoắn bằng cách docking lên cuộn xoắn HRA.

Các cấu trúc đã được thử nghiệm các mức biểu hiện, tính ổn định lưu trữ và kháng thể liên kết với CR9501 kháng thể. Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, và của CDRs chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể này được đưa ra dưới

đây. CR9501 bao gồm vùng gắn kết của kháng thể được gọi là 58C5 trong tài liệu WO2012/006596.

Các cấu trúc được tổng hợp và tối ưu hóa codon ở Gene Art (Life Technologies, Carlsbad, CA). Các cấu trúc được tách dòng thành pCDNA2004 hoặc được tạo ra bởi các phương pháp tiêu chuẩn đã được biết đến trong lĩnh vực liên quan đến đột biến điểm định hướng và PCR và tạo trình tự. Nền biểu hiện là tế bào 293Freestyle (Life Technologies). Các tế bào được biến nạp tạm thời sử dụng 293Fectin (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và được nuôi cấy trong 5 ngày ở 37°C và 10% CO₂. Phần nổi nuôi cấy được thu và được quay trong 5 phút ở 300 g để loại bỏ tế bào và mảnh tế bào. Phần nổi đã quay sau đó được lọc vô trùng sử dụng 0,22 um máy lọc chân không và được lưu trữ ở 4°C cho đến khi sử dụng.

Phần nổi từ ngày 5 được đánh giá biểu hiện protein F bằng thí nghiệm bwestern blot sử dụng CR9503 kháng thể đơn dòng, mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RSV F Motavizumab (gọi là CR9503). Mức biểu hiện xấp xỉ của các cấu trúc protein RSV F trước dung hợp được đánh giá sử dụng CR9503, kháng thể thứ cấp được tiếp hợp nhuộm-hồng ngoại kháng-người (Li-Cor, Lincoln, NE) hoặc IgG chuột kháng người được tiếp hợp HRP (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA). Các số lượng protein sau đó được ước lượng bằng cách sử dụng chuỗi pha loãng của protein tiêu chuẩn RSV được tinh lọc, bằng mắt hoặc bằng cách sử dụng hệ thống tạo ảnh chiếu hồng ngoại Odyssey CLx. Để đánh giá độ ổn định cấu trúc và để nhận dạng các tác động ổn định dương tính hoặc âm tính của các môtip trime hóa được đưa vào, các cấu trúc được thử nghiệm gắn kết với các kháng thể đặc hiệu trước dung hợp sau 5, 14 hoặc 30 ngày lưu trữ ở nhiệt độ 4 °C. Quy trình này được mô tả chi tiết trong Ví dụ 10.

Tiếp theo, các cải biến có lợi nhất được kết hợp để tìm polypeptit F trước dung hợp tối ưu. Các kết hợp được làm từ các biến thể với vòng GSGSG, cắt cụt đầu tận cùng C của F1, và bổ sung fibritin (SEQ ID NO: 4). Các biến thể được thực hiện mà chứa các đột biến điểm để làm tăng mức biểu hiện, tính ổn định và cấu trúc trime tự nhiên. Tất cả biến thể là RSV loại A2, với mô tip fibritin, liên kết GSGSG; điểm kết thúc 513, không có thể-HIS.

Theo sáng chế, các đột biến axit amin ổn định cấu trạng trước dung hợp của protein RSV F có thể được nhóm thành các hạng mục khác nhau mà ổn định cấu trạng theo cách thức khác nhau.

Các gốc axit amin 161, 173, 174, 182 và 214:

Để gấp lại từ cấu trạng trước dung hợp thành cấu trạng sau-dung hợp, vùng ở giữa phần 160 và 215 phải biến nạp từ bộ cấu trúc xoắn, vòng và sợi thành cấu trúc xoắn liên tục theo chiều dài.

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

150 160 170 180 190 200 210

SGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLL
PIVNNKQSC

Hhhhhhhh hhhhhhhhhh ssssss sssssss hhhhh hhhhh

SGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLL
PIVNNKQSC

Các góc gập chân có góc xấu theo đồ thị Ramachandran.

Trình tự của các phần 150 – 212 của RSV-F được thể hiện ở trên. Ở dòng thứ hai, các cấu trúc thứ cấp của dòng trên cùng được biểu thị bởi h (đối với cấu trúc xoắn) và s (đối với các sợi) dựa trên cấu trúc tinh thể. Các cấu trúc xoắn được đánh dấu bằng cách

đánh xám. Dòng dưới cùng là cùng trình tự trong đó các cấu trúc xoắn là ngả xám dựa trên xu hướng xoắn của trình tự.

Các vùng mà cần sự tối ưu hóa là các vùng vòng giữa các chi tiết cấu trúc thứ cấp (cấu trúc xoắn và sợi) trong HRA bên của RSV-F trước dung hợp.

Một trong số các vị trí trong HRA mà cần tối ưu hóa nhằm ổn định cấu trạng trước dung hợp của RSV-F là vị trí 161 khi xoay giữa các cấu trúc xoắn $\alpha 2$ (các gốc 148-157) và $\alpha 3$ (các gốc 163-172). Có một số lý do tại sao sự tối ưu hóa của vị trí này có thể làm tăng tính ổn định của vùng này:

- Vị trí xoay của điện âm của Glu161 gần điện âm của Glu163 gây mất ổn định lực đẩy điện tích âm;
- Đồ thị Ramachandran thể hiện rằng gốc 161 có xấu/không có lợi góc dihydral;
- Các gốc 161 có yếu tố B cao thể hiện tính di động cao (và dẫn đến sự bất ổn định);
- Các gốc 160 – 172 thể hiện xu hướng xoắn cao.

Trong ví dụ này, gốc Glu161 được thay thế bởi Pro để làm giảm sự lực đẩy điện tích âm và làm ổn định chỗ xoay và tránh cho nó bị gấp lại, hoặc gốc Glu161 được thay thế bởi Gln để làm giảm lực đẩy điện tích âm, hoặc gốc Glu161 được thay thế bởi Gly bởi vì nó cho phép khoảng rộng hơn của góc dihydral.

Đối với vùng $\alpha 2$ – cuộn vòng – $\alpha 3$ (các gốc 153-168), cơ sở dữ liệu Brookhaven được tra cứu tìm cấu trúc xoắn-cuộn vòng- cấu trúc xoắn tương đồng từ protein ổn định không gấp lại để tìm gốc có thể thay thế the unfavourable Glu161. Sự tương đồng cấu trúc cao được tìm thấy có cuộn vòng trong cấu trúc xoắn-cuộn vòng- cấu trúc xoắn của một số protein mà tất cả có Proline ở vị trí 161 tương đồng (mã PDB 2hgs, 3kal, 2o2z, 2zk3, và 2zqp). Theo sự căn chỉnh được thể hiện dưới đây, việc thế Glu 161 bởi Pro là giải pháp cấu trúc tốt để ổn định sự cuộn vòng này và ngăn nó không gấp lại.

AVSKVLHLEGEVNKIK RSV-F HRA 153 – 168

KVQQELSRPGMLEMLL 2hgs

KIQQELAKPGVLERFV 3kal

SVLPNLLVPGICEAIK 2o2z

avSKVLH-LEGEVNKIK RSV-F HRA 153 – 168

ikTPLVDdLPGAEEAMS 1zk3

AVSKVLH-LEGEVNKIK RSV-F HRA 153 – 168

IMQILVTvVPALEKLSK 2zqp

Theo các phương án nhất định, gốc Ser173 được thay thế bởi Pro để làm ổn định chỗ xoay và tránh nó bị gấp lại. Theo các phương án nhất định, gốc Thr174 được thay thế bởi Pro để làm ổn định chỗ xoay và tránh nó bị gấp lại.

Đồ thị Ramachandran thể hiện rằng gốc axit amin 182 ở chỗ xoay giữa $\beta 3$ và $\beta 4$ cũng có các góc xấu/không có lợi. Sự tối ưu hóa vị trí này có thể làm tăng tính ổn định của chỗ xoay và làm ổn định kẹp tóc β .

Đối với vùng $\beta 3$ – chỗ xoay - $\beta 4$ (residues 177-189), dữ liệu Brookhaven được tìm kiếm cho kẹp tóc β tương đồng về cấu trúc từ protein định mà không gấp lại nhằm tìm ra gốc có thể thay thế Ser182 không có lợi. Sự tương đồng cấu trúc cao được phát hiện với chỗ xoay trong kẹp tóc β của protein chuyển electron giả định mà có Proline ở vị trí 182 tương đồng (PDB mã 3me8). Theo sắp hàng được thể hiện dưới đây, sự thế Ser182 bởi Pro là giải pháp cấu trúc tốt để làm ổn định chỗ xoay này và tránh nó khỏi bị gấp lại.

AVVSISNgV-SVLT

VVVLsPEIQiKDYI

Sự hình thành cầu xystin ở đáy của vùng đầu giữa các gốc 486, 487, 489

Các gốc axit amin tích điện âm 486, 487 and 489 là phần của cơ chế chuyển tiếp mà kiểm soát sự chuyển tiếp giữa cấu trúc RSV-F trước dung hợp và sau dung hợp. Đột biến của Glu487 thành Gln sẽ làm hỏng sự chuyển tiếp này và làm ổn định tiếp xúc giữa các protome trong trime. Các vị trí gốc giống nhau này có thể cũng được dùng để thiết kế các cầu disulfite giữa các protome. Đột biến của 2 gốc bởi xystein như được mô tả ở trên

sẽ làm giảm lực đẩy điện tích âm và cho phép cầu disulfit ổn định hơn trime trước dung hợp.

Các biến thể được thực hiện mà chứa các đột biến điểm làm ổn định chỗ xoay giữa các chi tiết cấu trúc thứ cấp trong vùng HRA của protein RSV-F trước dung hợp để làm tăng tính ổn định và mức biểu hiện của cấu hình trước dung hợp. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 14.

Bảng 14. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể A2_F24- (SEQ ID NO: 19)

Mô tả protein	Biểu hiện	Độ ổn định	
	So với A2 F24-	ngày 5-7	ngày 30
A2 F24- E161P	2,739	75,08	66,24
A2 F24- E161Q	0,410	133,71	N.A.
A2 F24- E161G	0,391	106,42	N.A.
A2 F24- S173P	1,182	85,78	N.A.
A2 F24- I214P	0,288	80,20	N.A.
A2 F24- T174P	0,448	39,82	N.A.
A2 F24- S182P	2,296	87,19	N.A.
A2 F24- N67I S215P E161P	35,766	97,67	100,56
A2 F24- N67I S215P E161Q	9,545	104,40	96,60
A2 F24- N67I S215P E161G	12,035	93,70	81,91
A2 F24- N67I S215P S173P	21,747	103,43	71,89
A2 F24- N67I S215P I214P	8,053	99,47	68,17
A2 F24- N67I S215P T174P	5,431	N.A.	N.A.
A2 F24- N67I S215P S182P	14,948	N.A.	N.A.

Mọi biến thể là các biến thể của A2_F24 tuýp A2 mà chứa mô típ fibrin và liên kết GSGSG giữa F1 và F2; điểm cuối 513, (SEQ ID NO: 19).

Độ ổn định được biểu hiện là % nồng độ protein được đo bởi Qoctet (Ví dụ 10) sau khi lưu giữ ở 4°C trong 5 -30 ngày, so với ngày thu hoạch. Các nồng độ được đo bởi phương pháp Bộ tám Định lượng sử dụng kháng thể CR9502. NA: không có dữ liệu; không có liên kết CR9502 được tìm thấy. ND: Không được xác định

Trong số các đột biến điểm đơn, thế vị trí 173, 182 và đặc biệt là 161 thành Proline tạo ra mức biểu hiện và độ ổn định cao. Loại bỏ điện tích của gốc 161 làm ổn định protein nhưng không làm tăng mức biểu hiện. Các đột biến điểm giống nhau có tác dụng tương tự trong trình tự F trước dung hợp được ổn định mà chứa đột biến N67I và S215P ổn định bổ sung. Đột biến của gốc 182, 173 và đặc biệt là 161 thành Proline thể hiện tăng độ ổn định và mức biểu hiện nhiều nhất.

Các đột biến E161P mà thể hiện sự biểu hiện cao và độ ổn định tốt của cấu hình trước dung hợp cũng được áp dụng cho các biến thể miền ngoại bào RSV A2 F tan được không có đột biến điểm phân cắt furin (F18: SEQ ID NO 71) để đánh giá liệu các cải biến có phải là giải pháp chung để ổn định F trước dung hợp RSV (Bảng 15).

Bảng 15. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể của A2_F18 (SEQ ID NO: 71) có các đột biến bổ sung

Protein RSV	SEQ ID	Biểu hiện tương đối*	Độ ổn định** sau 15 ngày (%)
A2_F18	71	0,1	0,0
A2_F18 N67I		19,6	29
A2_F18 S215P		8,4	4
A2_F18 E487Q		0,0	ND
A2_F18 E161P		4,2	0
A2_F18 N67I, S215P	72	32,1	95
A2_F18 N67I, E161P		34,2	72
A2_F18 N67I, S215P, E161P		56,1	79
A2_F18 N67I, S215P, E161P, E487Q		55,5	91
A2_F18 N67I, S215P, E487Q	76	21,8	95

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

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

** Độ ổn định - được biểu hiện là % nồng độ protein được đo bởi Qoctet (Ví dụ 10) sau khi lưu trữ ở 4°C trong 5 ngày, so với ngày thu hoạch. Nồng độ đo được bởi Phương pháp Bộ tám định lượng bằng cách sử dụng kháng thể CR9501. ND: Không xác định

Đột biến E161P cũng thể hiện tăng cao trong mức biểu hiện trong protein RSV-F được xử lý. Khi kết hợp với các đột biến điểm ổn định ở ví dụ vị trí 67, 215 và 487, đột biến E161P tạo ra các biến thể F trước dung hợp có các mức biểu hiện cao và độ ổn định cao.

Sự hình thành cầu xystin ở đáy của vùng đầu giữa các gốc 486, 487, 489

Các gốc axit amin tích điện âm 486, 487 và 489 là một phần của cơ chế chuyển mạch mà kiểm soát sự chuyển tiếp giữa cấu trúc RSV-F trước dung hợp và sau dung hợp. Đột biến của Glu487 thành Gln sẽ làm hỏng chuyển mạch này và làm ổn định kết nối giữa các protome trong trime (Patent trước P00). Các vị trí gốc giống nhau có thể cũng được sử dụng để thiết kế các cầu disulfid giữa các protome. Các đột biến của 2 gốc thành xystein trong đó một gốc là gốc tích điện âm 486, 486 or 489, sẽ làm giảm lực đẩy điện tích âm và cho phép cầu disulfid mà sẽ làm ổn định hơn trime trước dung hợp. Một vài trong số các biến thể này được thử nghiệm mức biểu hiện và độ ổn định của cấu hình trước dung hợp (Bảng 16).

Bảng 16. Biểu hiện và độ ổn định của các biến thể A2_F24- (SEQ ID NO: 19)

	Biểu hiện	Độ ổn định
Mô tả protein	so với A2 F24-	ngày 30
A2 F24 D489C L481C	0	
A2 F24 D489C V482C	0	N.D.
A2 F24 D489C D479C	0	N.D.
A2 F24 D489C T374C	0	N.D.
A2 F24 D489C L375C	0	N.D.
A2 F24 D489C P376C	0	N.D.
A2 F24 D489C S377C	0	N.D.
A2 F24 D489C T335C	0	N.D.
A2 F24 D489C D338C	0	N.D.
A2 F24 D489C S398C	0	N.D.
A2 F24 D486C E487C	0,524	N.D.
A2 F24 D489C D486C	0,062	N.D.
A2 F24 N67I S215P D489C D486C	3,875	76,02
A2 F24 N67I S215P D489C S398C	0,003	N.D.
A2 F24 N67I S215P D486C E487C	7,315	79,39

Tất cả các biến thể là biến thể của A2_F24- tuýp A2 mà chứa mô típ fibrin và mạch liên kết GSGSG giữa F1 và F2; điểm cuối 513, (SEQ ID NO: 19).

Độ ổn định - được biểu hiện là % nồng độ protein bởi Qoctet (Ví dụ 10) được đo sau khi lưu trữ ở 4°C trong 5 -30 ngày, so với ngày thu hoạch. Các nồng độ được đo bởi Phương pháp Bộ tám Định lượng sử dụng kháng thể CR9502. ND: Không xác định

Trong nền F24 giả ổn định (SEQ ID NO: 19), chỉ cầu disulfit giữa các gốc 486 và 487 tạo ra protein trước dung hợp có biểu hiện và độ ổn định hợp lý. Do disulfit liên-protome cần thẳng hàng chính xác của mạch bên đối diện, sự kết nối disulfit có thể thành công hơn

trong protein F ổn định hơn so với biến thể F24 giả ổn định. Do đó, một số disulfit cũng được thiết kế trong biến thể F24 mà chứa 2 đột biến ổn định N67I và S215P. Thay vì, trong nền ổn định các protein có disulfit được thiết kế thể hiện đến mức độ cao hơn nhiều. Cũng vậy, biến thể có đột biến xystein ở vị trí 486 và 487 thể hiện mức cao nhất và mức biểu hiện là cao hơn 14 so với biến thể không ổn định không có đột biến N67I và S215P. Độ ổn định của protein trong dịch nổi hợp lý và vẫn chứa 79 % cấu hình trước dung hợp. Độ ổn định cao hơn có thể đạt khi protein được tinh lọc. Độ ổn định có thể không đạt 100% vì không có 100% xystein được kết nối liên-protomer như được thể hiện ở ví dụ 4 và 5.

VÍ DỤ 4

Phương pháp Western blot

Dịch nổi nuôi cấy được lắc giảm trên 4-12% (khối lượng/thể tích) gel Bis-Tris NuPAGE (Life Technology) và được tạo vết sử dụng kỹ thuật iBlot (Life Technology). Các vết này được được dò bởi CR9503 (trình tự được thể hiện trong bảng 18) và được phát triển với hoặc IgG chuột kháng người được tiếp hợp (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) hoặc IgG (thỏ) kháng người được tinh lọc ái lực được tiếp hợp IRDye800CW (Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA). Trên Hình 1, biểu hiện của DM = Đột biến kép (N67I+S215P = SEQID 21) and DM+CC = Đột biến kép + DE486CC = SEQID 94) có thể nhìn thấy. Sự khác biệt rõ ràng giữa hai protein có thể quan sát được khi được phân tích giảm và không giảm. Giảm cả hai protein di trú như loại monome khoảng 55 kDa. Không giảm phần lớn DM vẫn thấy là monomer trong khi loại trội DM+CC cao hơn nhiều và là trime trội. Điều này chứng minh rằng sự thể gốc 486 và 487 thành xystein tạo ra trime có các cầu disulfit liên-protome trội.

VÍ DỤ 5

NativePAGE

Để xác định ban đầu trạng thái đa trùng của polypeptit F trước dung hợp theo sáng chế, các dịch nổi nuôi cấy từ các tế bào được chuyển nạp tạm thời được phân tích trong hệ thống chất quánh NativePAGE Bis-Tris (Life Technologies). Tiếp theo các chất quánh

được tạo vết bằng cách sử dụng kỹ thuật iBlot theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Life Technologies). Kháng thể đặc trưng protein RSV F CR9503 (các trình tự được cho dưới đây trong Bảng 18) được sử dụng làm cực dò chính để dò protein RSV F trước dung hợp và tiếp theo là IgG chuột kháng người được tiếp hợp HRP (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) hoặc IgG (thỏ) kháng người được tinh lọc ái lực được tiếp hợp IRDye800CW (Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA). Các vết được hiện ra bởi phim tiêu chuẩn (Codak) hoặc hoặc bằng cách sử dụng hệ thống tạo ảnh được chiếu hồng ngoại Odyssey CLx. Hình 2 thể hiện phân tích NativePAGE của các dịch nổi từ Làn 2: DM = Đột biến kép (N67I+S215P = SEQID 21) và Làn 1: DM+CC = Đột biến kép + DE486CC = SEQID 5A). Cả DM và DM+CC là trimer chính trên trên trang tự nhiên thể hiện rằng việc đưa disulphit vào có thể không dẫn đến liên kết chéo liên trimer. Do các biểu hiện DM+CC ít tốt hơn DM monome thiếu (hàng) có thể là do thực tế là nằm dưới giới hạn dò.

VÍ DỤ 6

Biểu hiện của protein F trước dung hợp

Các plasmit biểu hiện mã hóa protein RSV F trước dung hợp tái tổ hợp được tạo ra bằng các phương pháp tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực, liên quan đến đột biến hướng điểm và PCR. Nền biểu hiện được sử dụng là tế bào 293Freestyle (Life Technologies, Renfreshire, UK). Các tế bào được chuyển nạp tạm thời sử dụng 293Fectin (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và được nuôi cấy trong lồng lắc trong 5 ngày ở 37°C và 10% CO₂. Phần nổi nuôi cấy được thu và quay trong 5 phút ở 300 g để loại bỏ các tế bào và mảnh tế bào. Phần nổi đã quay sau đó được lọc vô trùng sử dụng thiết bị lọc chân không 0,22 um và được lưu giữ ở 4°C đến khi sử dụng.

VÍ DỤ 7

Tinh lọc protein RSV F trước dung hợp

Polypeptit tái tổ hợp được tinh lọc bởi trình thức tinh lọc 2-bước bằng cách áp dụng cột trao đổi cat-ion để tinh lọc ban đầu và tiếp theo, cột superdex200 dùng cho bước đánh bóng để loại bỏ chất bẩn dư. Đối với bước trao đổi ion ban đầu, dịch nổi nuôi cấy

được pha loãng với 2 thể tích 50 mM NaOAc pH 5,0 và đi qua cột 5 ml HiTrap Capto S tại 5 ml mỗi phút. Tiếp theo cột này được rửa bởi 10 thể tích cột (CV) là 20 mM NaOAc, 50mM NaCl, 0.01% (v/v) tween20, pH 5 và rửa giải 2 CV là 20 mM NaOAc, 1M NaCl, 0.01% (v/v) tween20, pH 5. Chất rửa giải được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị cô đặc quay và protein còn được tinh lọc bằng cách sử dụng cột superdex200 có sử dụng 40mM Tris, 500mM NaCl, 0.01% (v/v) tween20, pH 7.4 làm chất đệm chạy. Trên Hình 3A, sắc phổ từ cột lọc chất quánh được thể hiện và đỉnh trội chứa protein RSV F trước dung hợp. Các phần chứa đỉnh này lần nữa được chia và nồng độ protein được xác định bằng cách sử dụng OD280 và lưu trữ tại 4°C đến khi sử dụng. Trên Hình 3B, phân tích SDS-PAGE rút gọn của điều chế protein cuối được thể hiện và như có thể thấy, độ tinh khiết >95%. Nhận dạng của dải được xác minh bằng cách sử dụng phương pháp western blot và các kháng thể đặc trưng protein F (không được thể hiện trên hình vẽ). Tiếp theo, protein được tinh lọc được thử trên NativePAGE và được so sánh với protein F trước dung hợp trime ổn định đối chứng (SEQID NO: 21) (Hình 3C).

VÍ DỤ 8

Thử nghiệm độ ổn định điểm kết thúc

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

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

VÍ DỤ 9

Thử nghiệm độ ổn định gia nhiệt

Khả năng ổn định của tính năng được đưa vào polypeptit RSV F được đánh giá bởi sang chấn nhiệt. Vì mục đích đó, dịch nổi nuôi cấy từ các tế bào được chuyển nạp tạm thời hoặc protein được tinh lọc được gia nhiệt bằng cách sử dụng một khoảng nhiệt độ. Các mẫu tiếp theo được làm mát trên băng để ngăn nhiệt thêm cảm sinh các thay đổi cấu trúc và được dò bằng cách sử dụng kháng thể CR9501 trên nền kỹ thuật bộ tám như được mô tả trong Ví dụ 11. Các phản hồi thu được ở cuối của pha liên kết tại các nhiệt độ khác nhau được dựng đồ thị là hàm của nhiệt độ và làm vừa nhờ hồi quy không tuyến tính bằng cách sử dụng phần mềm Prism. Điều này dẫn đến sự ước lượng của nhiệt độ ở đó mức gắn kết kháng thể là 50% của cực đại và trị số này có thể được sử dụng để so sánh các cấu trúc khác nhau về mặt độ ổn định gia nhiệt trước dung hợp.

VÍ DỤ 10

Thử nghiệm độ ổn định pha liên kết

Để đánh giá độ ổn định của các đột biến điểm khác nhau, thử nghiệm gắn kết bộ tám được phát triển bằng cách sử dụng phân tích pha liên kết. Kháng thể CR9501 hoặc kháng thể CR9502 được sử dụng làm cực dò cho cấu hình trước dung hợp của protein RSV-F. Để giảm độ lệch nồng độ tiềm năng của thử nghiệm điểm kết thúc, các điểm dữ liệu được sử dụng từ toàn bộ pha liên kết của thí nghiệm. Dữ liệu được bù cho lượng kháng thể bám trên chip. Các phép đo được thực hiện tại ngày 1, 5 và 33, và hình dạng các đường cong từ ba ngày được so sánh. Nếu thu được các đường cong giống nhau thì cấu trúc được xem là ổn định và nếu không thì không ổn định.

VÍ DỤ 11

Bộ tám định lượng

Để đo nồng độ của protein RSV F trước dung hợp trong các dịch nổi nuôi cấy tế bào, phương pháp dựa trên bộ tám định lượng được sử dụng. Các kháng thể CR9501 và CR9503 được gắn biotin bởi các trình thức tiêu chuẩn và làm bất động trên các cảm biến sinh học Streptavidin (ForteBio, Portsmouth, UK). Sau đó, các cảm biến sinh học được bọc được chặn trong dịch nổi nuôi cấy tế bào giả. Thí nghiệm định lượng được thực hiện như sau: nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 1000 vòng trên phút (rpm), thời gian của thực nghiệm 300 giây. Nồng độ của protein trong dịch nổi nuôi cấy tế bào được tính bằng cách sử dụng đường cong tiêu chuẩn. Đường cong tiêu chuẩn được chuẩn bị cho mỗi kháng thể được bọc bằng cách sử dụng protein A2_F24_N67I+S215P (SEQ ID# 21), được pha loãng trong dịch nổi nuôi cấy tế bào giả. Phép đo được thực hiện vào ngày thu hoạch dịch nổi (day1) và sau khi lưu trữ dịch nổi tại 4°C trong 5 ngày hoặc lâu hơn. Khác biệt trong nồng độ được xác định bởi CR9501 hoặc CR9502 được sử dụng làm công cụ sàng lọc để nhận dạng các đột biến có khả năng ổn định cấu trúc trước dung hợp. Cấu trúc được xem là ổn định nếu suy giảm nồng độ được đo nhỏ hơn 20% được quan sát thấy vào ngày 5. Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm ForteBio Data Analysis 6.4 (ForteBio).

VÍ DỤ 12

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

Để đánh giá tính sinh miễn dịch của RSV F trước dung hợp được ổn định (A2F24,N67I, S215P) (SEQ ID NO: 21) ta chủng ngừa chuột theo Bảng 19 bởi 0,5 hoặc 5 µg theo chế độ mũi-tăng cường vào tuần 0 và tuần 4. Như được thể hiện trên Hình 4, chuột được chủng ngừa bởi F trước dung hợp thể hiện các độ chuẩn VNA cao hơn chuột được chủng ngừa bởi RSV F sau-dung hợp.

Bảng 19. Phác đồ chủng ngừa

Nhóm	Điều chế	Liều	Tá được	N
1	F sau-dung hợp	0,5 µg	-	9

2	F sau-dung hợp	5 µg	-	9
3	F trước dung hợp	0,5 µg	-	9
4	F trước dung hợp	5 µg	-	9
5	F sau-dung hợp	0,5 µg	Poly(I:C)	9
6	F trước dung hợp	0,5 µg	Poly(I:C)	9
8	FI-RSV	1/75	-	8
9	PBS		-	3

Tiếp theo, chuột bông được chủng ngừa bởi hai liều khác nhau của RSV-F trong cấu trạng sau-dung hợp hoặc cấu trạng trước dung hợp (Bảng 20). Động vật được chủng ngừa i.m. vào tuần 0 và tuần 4. Hình 5 thể hiện các độ chuẩn kháng thể trung hòa cao vào ngày của thử nghiệm (tuần 7).

Bảng 20. Các nhóm, kháng nguyên và liều để đánh giá tính sinh miễn dịch và hiệu lực trong chuột bông

Nhóm	Điều chế	Liều	Tá dược
1	F sau-dung hợp	0,5 ug	-
2	F sau-dung hợp	5 ug	-
3	F trước dung hợp	0,5 ug	-
4	F trước dung hợp	5 ug	-
9	F trước dung hợp	0,5 ug	Poly IC
10	F trước dung hợp	5 ug	Poly IC
11	F trước dung hợp	0,5 ug	Adju Phos
12	F trước dung hợp	5 ug	Adju Phos
13	Ad26.RSV.F _{A2}	10 ⁸	-
14	PBS	-	-

Năm ngày sau khi thử nghiệm, lượng virus phổi và mũi được đo (xem Hình 6).

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

Bảng 17. Các axit amin chuẩn, các tên viết tắt và các thuộc tính

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

Bảng 18. Các trình tự axit amin của kháng thể CR9501 và CR9502

Ab	Miền VH	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
CR95	Các axit	GASINSDNY	HISYTGNTYYT	CGAYVLISNCG

01	amin 1-125 có SEQ ID NO: 53	YWT (SEQ ID NO:54)	PSLKS (SEQ ID NO:55)	WFDS (SEQ ID NO:56)
CR95 02	Các axit amin 1-121 có SEQ ID NO:57	GFTFSGHTIA (SEQ ID NO:58)	WVSTNNGNTE YAQKIQQ (SEQ ID NO:59)	EWLVMGGFAF DH (SEQ ID NO:60)

Ab	Miền VL	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
CR95 01	Các axit amin 1-107 có SEQ ID NO: 61	QASQDISTYL N (SEQ ID NO: 62)	GASNLET (SEQ ID NO:63)	QQYQYLPYT (SEQ ID NO:64)
CR95 02	Các axit amin 1-110 có SEQ ID NO: 65	GANNIGSQN VH (SEQ ID NO:66)	DDRDRPS (SEQ ID NO:67)	QVWDSSRDQA VI (SEQ ID NO:68)

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

giữa các cấu trúc. Do đó, cách đánh số được sử dụng đối với các đột biến đặc trưng theo sáng chế, chẳng hạn, S215P, biểu thị vị trí của axit amin trong trình tự loại thuần chủng.

Các trình tự

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELP
RFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVVK
IKSALLSTNKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEF
QQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNV
QIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT
RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNL CNVDIFNP
KYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVSNK
GVDTVSVGNTRYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQ
SLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLS
KDQLSGINNIAFSN

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
TIELSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARREAP
QYMNYTINTTKNLNVSISKRRKRRLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVVKIK
NALLSTNKA VVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYINNQLLPVNVQQSCRISNIETVIEFQQ
KNSRLLLEINREFSVNAGVTTPPLSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIV
RQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPIYGVVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTD
RGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYD
CKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGVDT
VSVGNTRYVNVKLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAF
IRRSDELLHNVNTGKSTTNIMITTHIIVIVILLSLIAIGLLLYCKAKNTPVTLSKDQL
SGINNIAFSK

SEQ ID NO: 3

EKKIEAIEKKIEAIEKKIEA

SEQ ID NO: 4

GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

SEQ ID NO: 5

GSGSG

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELP
 RFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVVK
 IKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSISNIETVIEF
 QQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNV
 QIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT
 RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNP
 KYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNK
 GVDTVSVGNTRYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQ
 SLAFIRKSDELLHHHHHHHHH

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRARREAP
 QYMNYTINTTKNLNVSISKKRKRRLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVVKIK
 NALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRISNIETVIEFQQ
 KNSRLLEINREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIV
 RQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTD
 RGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYD
 CKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDT

VSVGNTLYYVKNLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAF
IRRSDELLHHHHHHHH

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLT
SKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVO
LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSL
YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVEKKIEAIEKKIEAIEKKIEAGGIEGRHHHH
HHHH

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLNGVSVLT
SKVLDLKNYIDKQLLPIVKNQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVO
LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSL
YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVEKKIEAIEKKIEAIEKKIEAGG

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYL TSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
TIELSNIKETKNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVKNIKNALLSTNKAVVSLNGVSVLTS

KVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPL
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK
 VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
 YGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVKNLEGKNLYV
 KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVEKKIEAIEKKIEAIEKKIEAGGIEGRHHHHHH

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGS
 GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNNIKNALLSTNKA VVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPL
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK
 VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
 YGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVKNLEGKNLYV
 KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGRHHHHHH

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGS
 GRSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNNIKSALLSTNKA VVSLSNGVSVLT
 SKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPL
 VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQ
 LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
 CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVKNQEGKSL

YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
TIELSNIKETKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVKNKIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
KVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPL
STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYVYVQL
PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK
VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
YGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVKNLEGKNLYV
KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
QAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVKNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
KVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTTPV
STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYVYVQL
PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVKNQEGKSLY
VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
GQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKEIKCNGTDTKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGS
 GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPL
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK
 VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
 YGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVKNLEGKNLYV
 KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+E92D: RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 23)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGS
 GRSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
 SKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTTP
 VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQ
 LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
 CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVKNQEGKSL
 YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
 DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

F24- N67I+E92D RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 24)
 MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKEIKCNGTDTKVKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQNTPAANNQARGSGS
 GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPL
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK

VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
 YGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVVKLEGKNLYV
 KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+K465Q RSV A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 25)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVVKLEGQSLY
 VKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

F24- N67I+K465Q RSV B1, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 26)
 MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKEIKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGS
 GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYINNQLLPIVNBKQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK
 VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
 YGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVVKLEGQNLVYV
 KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSV
ITIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
SKVLDLKNYIDKQLLPIVNVKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQ
LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNVKQEGKSL
YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFGALRTGWYTSVI
TIELSNIKEIKCNGTDTKVLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQNTPAANNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
KVLDLKNYINNQLLPIVNVQSCRISNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTP
STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK
VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
YGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNVKLEGKNLYV
KGEPIINYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
QAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
SKVLDLKNYIDKQLLPIVNVKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQ

LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKTKCTASNKNRGIHKTFNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVVKQEGKSL
YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
TIELSNIKETKCNGTDTKVKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQNTPAANNQARGSG
SGRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKIKNALLSTNKAVVSLNGVSVLT
SKVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTP
LSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQ
LPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTC
KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVS
CYGKTKCTASNKNRGIKTFNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYV
KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
QAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2 F24 N67I+S215P+K508E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 31)

MELLILKANAITTILTA VTF CFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEV NKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
KVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPV
STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV VQL
PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
SCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSLY
VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRE-
SDELLSAIGGYIPEAPRDGOAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+E487I: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 32)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDIFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+E487Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 33)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDQFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+E487N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 34)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLNNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV

STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQL
PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
SCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSLY
VKGEPIINFYDPLVFPSDNFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
GOAYVRKDGEWLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+D486N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 35)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
KVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLAITREFSVNAGVTTPV
STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLY
VKGEPIINFYDPLVFPSNEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
GOAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+K465E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibritin (SEQ ID NO: 36)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKISALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
KVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLAITREFSVNAGVTPPV
STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKQEGESLY
VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
GOAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+K465Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 37)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGQSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+N426S: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 38)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASSKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+K421N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 39)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTPV

STYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTNCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+K209Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 40)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPVNNQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+K201Q: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 41)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDQQLLPVNNQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+V185N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 42)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGNSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+G184N: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 43)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNNVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+N175P: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 44)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTPKAVVSLSNGVSVLTSK
 VLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVS

TYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPL
 LYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCK
 VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVS
 CYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYV
 KGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+E92D: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 45)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGS
 GRSLGFLLGVSASIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
 SKVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
 VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLQ
 LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
 CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSL
 YVKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
 DGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+K80E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 46)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIEQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVSASIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLQ
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLY
 VKGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+K77E: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 47)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIELIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24 N67I+S215P+S46G: A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 48)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSV
 ITIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGS
 GRS LGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
 SKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
 VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQ
 LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
 CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNBKQEGKSL
 YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
 DGQAYVRKDGWVLLSTFLGGIEGR

A2_F24: RSV S46G A2, mạch liên kết được ổn định, fibrin (SEQ ID NO: 49)
 MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSV
 ITIELSNIKKKNKNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGS
 GRS LGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
 SKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP

VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVO
 LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
 CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSL
 YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
 DGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGS
 GRS LGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
 SKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
 VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVO
 LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
 CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGQSL
 YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
 DGQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVOQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRD
 GQAYVRKDGGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGS
 GRS LGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
 SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSCSISNIETVIEFQQKNNRLL EITREFSVNAGVTTP
 VSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQ
 LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
 CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
 VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSL
 YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPR
 DGQAYVRKDGEWVLLSTFLGGIEGR

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

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASSQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKENKNCNGTDAKV KLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARELP
 RFMNYTLNNTKNNNVTL SKKRKR RFLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIV NKQSCSISNIETVIEFQ
 QKNNRLL EITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKY
 DCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGV
 DTVSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSL
 AFIRKSDELLHNVNVGKSTTNIMITTHIIVILLLLIAVGLFLYCKARSTPVTLSKD
 QLSGINNIAFSN

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

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASSQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKENKNCNGTDAKV KLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARELP
 RFMNYTLNNTKNNNVTL SKKRKR RFLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKI

KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSISNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKY
 DCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGV
 DTVSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSL
 AFIRKSDELL

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

MELLILKANAITTIL TAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKKNCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARREL P
 RFMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFL LGVGSIAIASGVA VSKVLHLEGEVNK
 IKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSISNIETVIEF
 QQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNV
 QIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLT
 RTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNP
 KYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVSNK
 GVDTVSVGNTLYYV NKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQ
 SLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDG EWVLLSTFL

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

MELLILKANAITTIL TAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFL LGVGSIAIASGVA VSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTF SNGCDYVSNKGV

VDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQS
LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
TIELSNIKEIKCNGTDTKVКЛИKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNRAREAP
QYMNYTINTTKNLNVSISKRRRFLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKIK
NALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYINNQLLPIVNQQSCRIPNIETVIEFQQ
KNSRLLEINREFSVNAGVTTPLSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIV
RQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTD
RGWYCDNAGSVSFFPQADTCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYD
CKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDT
VSVGNTLYYVНКLEGKNLYVKGEPIINYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAF
IRRSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

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

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASSQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKEIKCNGTDAKVКЛИKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARELP
RFMNYTLNNTKNNNVTLSSKKRRRFLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKI
KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNKQSCSIPNIETVIEFQ
QKNNRLLEITREFSVNAGVTTVPSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKY
DCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGV
DTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSL
AFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

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

MELLIHRLSAIFLTLAINALYLTSSQNITEEFYQSTCSAVSRGYFSALRTGWYTSVI
TIELSNIKEIKCNGTDTKVКЛИKQELDKYKNAVTELQLLMQNTPAANNQARGSGS

GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKIKNALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYINNQLLPVNNQSCRIPNIETVIEFQQKNSRLLEINREFSVNAGVTTPL
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PIYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNIKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQADTCK
 VQSNRVFCDTMNSLTLPSEVSLCNTDIFNSKYDCKIMTSKTDISSSVITSLGAIVSC
 YGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNLEGKNLYV
 KGEPINYYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRRSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGGEWVLLSTFL

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

MELPILKTNAITTLAAVTLCFASSQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKEIKCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNQARGSGS
 GRSLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPVNNQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVS
 CYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVKNQEGKSLYV
 KGEPINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDG
 QAYVRKDGGEWVLLSTFL

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNNQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLEITREFSVNAGVTTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSSNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKG

VDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDQFDASISQVNEKINQS
LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDNQLLPIVНКQSCSIPNIETVIEFQ
QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKG
VDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQS
LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNRARRELPR
FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVНКQSCSIPNIETVIEFQ
QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKG
VDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQS
LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR

FMNYTLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSNEFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSK
 DQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV

SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLY
VKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNI
MITTHIIVIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNRARRELPR
FMNYTLNNAKKTNTVTLSSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLLPIVНКQSCSIPNIETVIEFQ
QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKG
VDTVSVGNTLYYVНКQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSL
LAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNI MITTHIIVIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSK
DQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTDLQLLMQSTPATNNQARGSGS
GRSLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
SKVLDLKNYIDKQLLPIVНКQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTP
VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLQ
LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR TDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVНКQEGKSL
YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTN
IMITTHIIVIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNVTLSSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDQFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLHNVNAVSTTNIMITTHIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSK
 DQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVYVQL
 PLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETC
 KVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSDQFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVSTTNIM
 ITTHIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNVTLSSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI

VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSNEFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSK
 DQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGSG
 RSLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS
 KVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPV
 STYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIV
 SCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLY
 VKGEPIINFYDPLVFPSNEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSK
 DQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSV
 ITIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELP
 RFMNYTLNNAKKTNTLSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSVKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVL
 DLKNYIDKQLLPIVVKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNV
 QIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNK
 GVDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQ

SLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTNIMITTHIIVIIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLS
KDQLSGINNIAFSN

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

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLGALRTGWYTSV
ITIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNQARGSGS
GRSLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT
SKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQQKNNRLLEITREFSVNAGVTTP
VSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQ
LPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAET
CKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAI
VSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSGCDYVSNGKGVDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSL
YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAVKSTTN
IMITTHIIVIIIVILLSLIAVGLLLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAFSN

Chuỗi nặng CR9501 (SEQ ID NO: 53):

QVQLVQSGPGLVKPSQTLALTCNVSGASINSDNYYWTWIRQRPGGGLEWIGHISY
TGNTYYTPSLKSRLSMSLETSQSQFSLRLTSVTAADSAVYFCAACGAYVLISNCG
WFDSWGQGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KKVEPKSC

Chuỗi nhẹ CR9501 (SEQ ID NO: 61):

EIVMTQSPSSLSASIGDRVTITCQASQDISTYLNWYQQKPGQAPRLLIYGASNLET
GVPSRFTGSGYGTDFTSVTISSLQPEDIATYYCQQYQYLPYTFAPGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Chuỗi nặng CR9502 (SEQ ID NO: 57):

EVQLQLQSGAELKKPGASVKISCKTSGFTFSGHTIAWVRQAPGQGLEWMGWVSTN
 NGNTEYAQKIQGRVTMTMDTSTSTVYMELRSLTSDDTAVYFCAREWLVMGGFA
 FDHWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
 RVEPKSC

CR9502 light chain (SEQ ID NO: 65):

QSVLTQASSVSVAPGQTARITCGANNIGSQNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDRDRP
 SGIPDRFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSRDQAVIFGGGTKLTVL
 GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVET
 TTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTIAPTECS

PreF N67I E161P S215P E487Q, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 90)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLPGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTRYVYVNBKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDQFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL

PreF N67I E161P S215P, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 91)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLLGVGSAIASGVAVSKVLHLPGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLPIVNBKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI

VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL

PreF N67I S173P S215P, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 92)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLPTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL

PreF N67I S182P S215P, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 93)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
 TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
 FMNYTLNNAKKTNTVLSKKRKRRLGFLGVGSAIASGVAVSKVLHLEGEVNKI
 KSALLSTNKAVVSLPNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVVKQSCSIPNIETVIEFQ
 QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
 VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
 TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
 YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSSNGCDYVSNKG
 VDTVSVGNTLYYVVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQS
 LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGWVLLSTFL

PreF N67I S215P D486C E487C, RSV A2, fibrin (SEQ ID NO: 94)

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVI
TIELSNIKKIKCNGTDAKIKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPR
FMNYTLNNAKKTNVTLSSKKRKRRLGFLGVSASGVAVSKVLHLEGEVNKI
KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSIPNIETVIEFQ
QKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVSTYMLTNSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQI
VRQQSYSIMSIIKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTR
TDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNVDIFNPK
YDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTKCTASNKNRGIKTFSNGCDYVSNKG
VDTVSVGNTRYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSCCFDASISQVNEKINQS
LAFIRKSDELLSAIGGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit dung hợp (F) của virus hợp bào hô hấp (RSV) trước dung hợp tái tổ hợp bao gồm ít nhất một epitop là đặc trưng đối với protein F cấu trúc trước dung hợp, trong đó ít nhất một epitop được nhận ra bởi kháng thể đơn dòng đặc trưng trước dung hợp, bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 54, vùng CDR2 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 55, vùng CDR3 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 56 và vùng CDR1 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 62, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 63, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64 và/hoặc kháng thể đơn dòng đặc trưng trước dung hợp, bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 58, vùng CDR2 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 59, vùng CDR3 chuỗi nặng có SEQ ID NO: 60 và vùng CDR1 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 66, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 67, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 68, trong đó polypeptit bao gồm vùng F1 và vùng F2, và trong đó polypeptit bao gồm ít nhất một đột biến, so với các vùng F1 và F2 loại hoang dại,

trong đó ít nhất một đột biến được chọn từ nhóm bao gồm:

- (a) đột biến của gốc axit amin E ở vị trí 161 thành P, Q hoặc G (E161P, E161Q) hoặc E161G);
- (b) đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 182 thành P (S182P);
- (c) đột biến của gốc axit amin S, T hoặc N ở vị trí 173 thành P (S173P); và
- (d) đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 486 thành C (D486C) kết hợp với đột biến của gốc axit amin D ở vị trí 489 thành C (D489C), và trong đó

các vị trí axit amin được đưa ra có viện dẫn đến trình tự của protein RSV F từ chủng A2 (SEQ ID NO: 1).

2. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm 1, trong đó polypeptit là trime.

3. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó polypeptit còn bao gồm đột biến của gốc axit amin ở vị trí 67 và/hoặc đột biến của gốc axit amin ở vị trí 215.

4. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm 3, trong đó polypeptit bao gồm đột biến của gốc axit amin N hoặc T ở vị trí 67 và/hoặc đột biến của gốc axit amin S ở vị trí 215.

5. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo một điểm bất kỳ trong các điểm nêu trên, trong đó polypeptit bao gồm trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 10 gốc axit amin, liên kết miền F1 và miền F2.
6. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo một điểm bất kỳ trong các điểm nêu trên, trong đó polypeptit bao gồm miền F1 được cắt ngắn.
7. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm 6, trong đó polypeptit bao gồm miền trime hóa khác loại được liên kết với miền F1 được cắt ngắn.
8. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm 7, trong đó miền trime hóa khác loại bao gồm trình tự axit amin GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (SEQ ID NO: 4).
9. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm 8, trong đó miền trime hóa được liên kết với gốc axit amin 513 của protein RSV F.
10. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó miền F1 và/hoặc miền F2 là từ chủng RSV A.
11. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên 1-10, trong đó miền F1 và/hoặc miền F2 là từ chủng RSV B.
12. Polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó polypeptit bao gồm trình tự axit amin được lựa chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 90 – SEQ ID NO: 94.
13. Phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12.

14. Phân tử axit nucleic theo điểm 13, trong đó phân tử axit nucleic đã được tối ưu hóa-codon để biểu hiện trong các tế bào động vật có vú.
15. Vector bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 13 hoặc điểm 14.
16. Chế phẩm bao gồm polypeptit RSV F trước dung hợp theo điểm bất kỳ từ 1 đến 12, phân tử axit nucleic theo điểm 13 hoặc điểm 14 và/hoặc vector theo điểm 15.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Crucell Holland B.V.

<120> POLYPEPTIT DUNG HỢP CỦA VIRUT HỢP BÀO HỒ HẤP (RSV F) DÙNG ĐỂ GÂY ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH VỚI PROTEIN RSV F VÀ CHẾ PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY

<130> 0234 WO 00 ORD

<150> EP13172256

<151> 2013-06-17

<160> 94

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 574

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 2

<211> 574

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
 <223> Miền trime hóa

<400> 3

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

Lys Ile Glu Ala
 20

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

<220>
 <223> Miền trime hóa

<400> 4

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

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

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> liên kết

<400> 5

Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5

<210> 6

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền trime hóa

<400> 6

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

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

Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 35 40

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền kéo khóa isoleuxin

<400> 7

Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys

1 5

<210> 8

<211> 31

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Khóa kéo isoleuxin (L)

<400> 8

Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu

1 5 10 15

Lys Lys Ile Glu Ala Ile Glu Ala Ile Glu Lys Lys Ile Glu Ala

20 25 30

<210> 9

<211> 28

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> GCN4II

<400> 9

Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn

1 5 10 15

Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Ala

20 25

<210> 10

<211> 28

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> GCN4II tối ưu hóa

<400> 10

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

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

<210> 11

<211> 43

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Matrilin -1 (phiên bản dài)

<400> 11

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

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

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

<210> 12

<211> 26

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Matrilin- 1 (phiên bản ngắn)

<400> 12

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

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

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

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

<400> 13

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu His His His His His His His His
 515 520

<210> 14

<211> 521

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F11: RSV B1, miền ngoại bào wt

<400> 14

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu His His His His His His His His
 515 520

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

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

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 16
 <211> 495
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

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

<400> 16

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 17

<211> 505

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 17

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Gly Arg His His His His His His
 500 505

<210> 18
 <211> 534

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His His His His His His
 530

<210> 19

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 19

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 20

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 20

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

Ile Asn Ala Leu Tyr Leu Thr Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Phe Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Thr Lys Cys Asn Gly Thr Asp Thr Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110
 Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125
 Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140
 Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175
 Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
 180 185 190
 Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
 195 200 205
 Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 21

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 21

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 22

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 22

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 23

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 23

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 24
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> F24- N67I+E92D RSV B1, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 25

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+K465Q RSV A2, liên kết được ổn định, fibrin

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 26
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> F24- N67I+K465Q RSV B1, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 26

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 27
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S46G RSV A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 27

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

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

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

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110
 Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125
 Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140
 Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160
 Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175
 Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190
 Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205
 Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220
 Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 28

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24- N67I+S46G RSV B1, liên kết được ổn định, fibrin

<400> 28

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 29

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 E92D+S215P: A2, liên kết được ổn định, fibrin

<400> 29

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 30

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> F24-E92D+S215P: RSV B1, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 30

Met Glu Leu Leu Ile His Arg Leu Ser Ala Ile Phe Leu Thr Leu Ala
 1 5 10 15

Ile Asn Ala Leu Tyr Leu Thr Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Phe Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Thr Lys Cys Asn Gly Thr Asp Thr Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Arg Ile
180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Ser Arg Leu
195 200 205

Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
210 215 220

Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Ser Asn Val
245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Ile Tyr Gly Val Ile Asp
275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Ile
290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Asp Thr Cys
325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr Asp Ile Phe Asn Ser Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Ile Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly Lys Asn Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 31

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K508E: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 31

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Glu Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 32

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+E487I: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 32

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Ile Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 33

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+E487Q: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 33

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 34

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+E487N: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 34

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Asn Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 35

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+D486N: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 35

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asn
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 36

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K465E: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 36

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Glu Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 37
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+K465Q: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 37

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Gln Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 38

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+N426S: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 38

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Ser Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 39

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K421N: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 39

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Asn Cys
385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 40

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K209Q: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 40

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Gln Gln Ser Cys Ser Ile
180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 41

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K201Q: A2, liên kết được ổn định, fibrinin

<400> 41

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Gln Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 42

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+V185N: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 42

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Asn Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 43
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+G184N: A2, liên kết được ổn định, fibrin

<400> 43

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Asn Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 44

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+N175P: A2, liên kết được ổn định, fibrinin

<400> 44

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Pro Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 45

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+E92D: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 45

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 46
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24 N67I+S215P+K80E: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 46

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Glu
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 47

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+K77E: A2, liên kết được ổn định, fibrinin

<400> 47

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Glu Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 48

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24 N67I+S215P+S46G: A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 48

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Gly Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 49
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24: RSV S46G A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 49

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Gly Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 50

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24: RSV K465Q A2, liên kết được ổn định, fibrinin

<400> 50

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Gln Ser Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
515 520 525

<210> 51

<211> 528

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A2_F24: RSV N67I A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 51

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 52
 <211> 528
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> A2_F24: RSV E92D A2, liên kết được ổn định, fibritin

<400> 52

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Gly Ile Glu Gly Arg
 515 520 525

<210> 53
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nặng CR9501

<400> 53

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Ala Leu Thr Cys Asn Val Ser Gly Ala Ser Ile Asn Ser Asp
 20 25 30

Asn Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Arg Pro Gly Gly Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Ser Tyr Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Ser Met Ser Leu Glu Thr Ser Gln Ser Gln Phe
 65 70 75 80

Ser Leu Arg Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Ser Ala Val Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Ala Cys Gly Ala Tyr Val Leu Ile Ser Asn Cys Gly Trp Phe
100 105 110

Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys
225

<210> 54
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> CR9501 VH CDR1

<400> 54

Gly Ala Ser Ile Asn Ser Asp Asn Tyr Tyr Trp Thr
1 5 10

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> CR9501 VH CDR2

<400> 55

His Ile Ser Tyr Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> CR9501 VH CDR3

<400> 56

Cys Gly Ala Tyr Val Leu Ile Ser Asn Cys Gly Trp Phe Asp Ser
1 5 10 15

<210> 57

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng CR9502

<400> 57

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Ser Val Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gln Tyr Leu Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Ala Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VH CDR1

<400> 58

Gly Phe Thr Phe Ser Gly His Thr Ile Ala
 1 5 10

<210> 59
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VH CDR2

<400> 59

Trp Val Ser Thr Asn Asn Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Ile Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 60
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VH CDR3

<400> 60

Glu Trp Leu Val Met Gly Gly Phe Ala Phe Asp His
 1 5 10

<210> 61
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ CR9501

<400> 61

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Ser Val Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gln Tyr Leu Pro Tyr
 85 90 95

Thr Phe Ala Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9501 VL CDR1

<400> 62

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9501 VL CDR2

<400> 63

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr
 1 5

<210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9501 VL CDR3

<400> 64

Gln Gln Tyr Gln Tyr Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 65
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ CR9502

<400> 65

Gln Ser Val Leu Thr Gln Ala Ser Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Ala Asn Asn Ile Gly Ser Gln Asn Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Arg Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Arg Asp Gln
85 90 95

Ala Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
 180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 195 200 205

Ile Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215

<210> 66
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VL CDR1

<400> 66

Gly Ala Asn Asn Ile Gly Ser Gln Asn Val His
 1 5 10

<210> 67
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VL CDR2

<400> 67

Asp Asp Arg Asp Arg Pro Ser
 1 5

<210> 68
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> CR9502 VL CDR3

<400> 68

Gln Val Trp Asp Ser Ser Arg Asp Gln Ala Val Ile
 1 5 10

<210> 69
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự chiều dài đầy đủ CL57-v224 protein RSV F

<400> 69

Met Glu Leu Pro Ile Leu Lys Thr Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Val Thr Leu Cys Phe Ala Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Thr Lys Asn Asn Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Ile
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Val Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Phe Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 70
 <211> 513
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Miền ngoại bào, RSV CL57-v224

<400> 70

Met Glu Leu Pro Ile Leu Lys Thr Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Val Thr Leu Cys Phe Ala Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Thr Lys Asn Asn Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Ile
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu

<210> 71
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF, RSV A2, fibritin

<400> 71

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365
 Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445
 Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460
 Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510
 Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 72
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P, RSV A2, fibritin

<400> 72

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 73
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P, RSV B1, fibrinin

<400> 73

Met Glu Leu Leu Ile His Arg Leu Ser Ala Ile Phe Leu Thr Leu Ala
 1 5 10 15

Ile Asn Ala Leu Tyr Leu Thr Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Phe Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Thr Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Ala Pro
 100 105 110

Gln Tyr Met Asn Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser
 115 120 125

Ile Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Gln Gln Ser Cys Arg Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Ser Arg Leu Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Ser Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Ile Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Ile Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Asp Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Ser Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Ile Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly
 450 455 460

Lys Asn Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 74

<211> 544

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> RSV N67I S215P, RSV CL57-v224, fibrinin

<400> 74

Met Glu Leu Pro Ile Leu Lys Thr Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Val Thr Leu Cys Phe Ala Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Thr Lys Asn Asn Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Ile
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 75
 <211> 522
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreFL N67I S215P, RSV CL57-v224, fibritin, Vòng

<400> 75

Met Glu Leu Pro Ile Leu Lys Thr Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Val Thr Leu Cys Phe Ala Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Ala Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Ile Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu Ser Ala Ile Gly Gly
 485 490 495

Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp
 500 505 510

Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 515 520

<210> 76
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P E487Q, RSV A2, fibrin

<400> 76

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 77
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S215P K201N, RSV A2, fibritin

<400> 77

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

<210> 78

<211> 544

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> PreF N67I S215P E92D, RSV A2, fibritin

<400> 78

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

<210> 79
<211> 544
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> PreF N67I S215P D486N, RSV A2, fibrinin

<400> 79

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asn Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 80

<211> 574

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Fwt N67I S215P, RSV F gắn-màng, A2

<400> 80

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 81
 <211> 552
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fsl N67I S215P, RSV F gắn màng, A2

<400> 81

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 82
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P E92D, RSV F gắn màng, A2

<400> 82

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 83
 <211> 552
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fsl N67I S215P E92D, RSV F gắn màng, A2

<400> 83

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Asp Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
545 550

<210> 84
<211> 574
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Fwt N67I S215P E487Q, RSV F gắn màng, A2

<400> 84

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
565 570

<210> 85
<211> 552
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Fsl N67I S215P E487Q, RSV F gắn màng, A2

<400> 85

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
 450 455 460

Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 86
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P D486N, RSV F gắn màng, A2

<400> 86

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asn Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 87
 <211> 552
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fsl N67I S215P D486N, RSV F gắn màng, A2

<400> 87

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
 420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
 435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asn
 450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
 465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
 485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
 500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
 515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
 530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 545 550

<210> 88
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Fwt N67I S215P S46G, RSV F gắn màng, A2

<400> 88

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Gly Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Ala Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525

Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540

Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 89

<211> 552

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Fsl N67I S215P S46G, RSV F gắn màng, A2

<400> 89

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Gly Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Gln Ala Arg Gly Ser Gly Ser
 100 105 110

Gly Arg Ser Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser
 115 120 125

Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys
 130 135 140

Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr
 165 170 175

Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Ser Ile
 180 185 190

Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu
 195 200 205

Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro
 210 215 220

Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn
 225 230 235 240

Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val
 245 250 255

Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu
 260 265 270

Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp
 275 280 285

Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr
 290 295 300

Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr
 305 310 315 320

Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys
 325 330 335

Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr
 340 345 350

Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys
 355 360 365

Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val
 370 375 380

Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys
 385 390 395 400

Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly
 405 410 415

Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn
420 425 430

Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys
435 440 445

Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp
450 455 460

Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser
465 470 475 480

Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu Leu His Asn Val Asn Ala
485 490 495

Val Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr Thr Ile Ile Ile Val Ile
500 505 510

Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val Gly Leu Leu Leu Tyr Cys
515 520 525

Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser Lys Asp Gln Leu Ser Gly
530 535 540

Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
545 550

<210> 90
<211> 544
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> PreF N67I E161P S215P E487Q, RSV A2, fibritin

<400> 90

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Pro Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Gln Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 91

<211> 544

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> PreF N67I E161P S215P, RSV A2, fibrin

<400> 91

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Pro Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 92
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S173P S215P, RSV A2, fibritin

<400> 92

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Pro Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
 515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 530 535 540

<210> 93
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> PreF N67I S182P S215P, RSV A2, fibrin

<400> 93

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Pro Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

<210> 94
<211> 544
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> PreF N67I S215P D486C E487C, RSV A2, fibrin

<400> 94

Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
20 25 30

Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
35 40 45

Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
50 55 60

Lys Lys Ile Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Ile Lys Leu Ile Lys
65 70 75 80

Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95

Met Gln Ser Thr Pro Ala Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110

Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr
 115 120 125

Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140

Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160

Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys
 165 170 175

Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190

Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205

Lys Gln Ser Cys Ser Ile Pro Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220

Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn
 225 230 235 240

Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255

Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270

Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285

Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro
 290 295 300

Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320

Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335

Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350

Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp
 355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu Cys Asn Val
 370 375 380

Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415

Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile
 420 425 430

Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly
 450 455 460

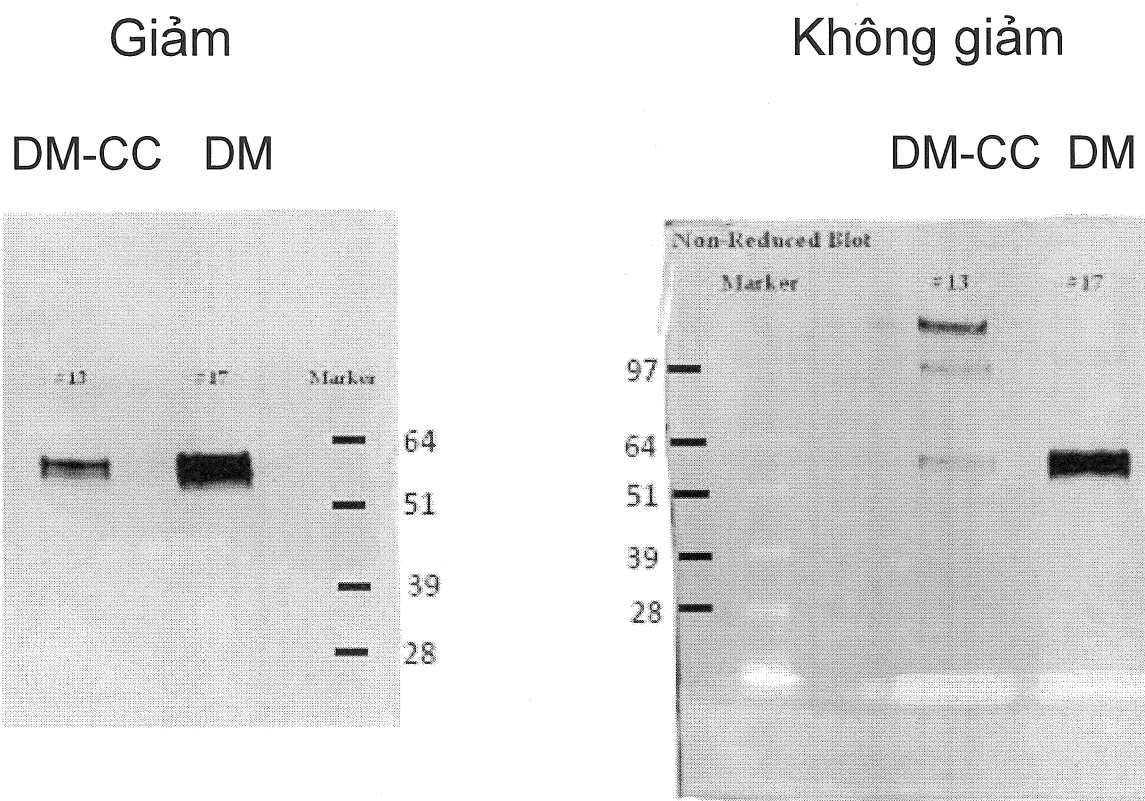
Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro
 465 470 475 480

Leu Val Phe Pro Ser Cys Cys Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
485 490 495

Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu
500 505 510

Leu Ser Ala Ile Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
515 520 525

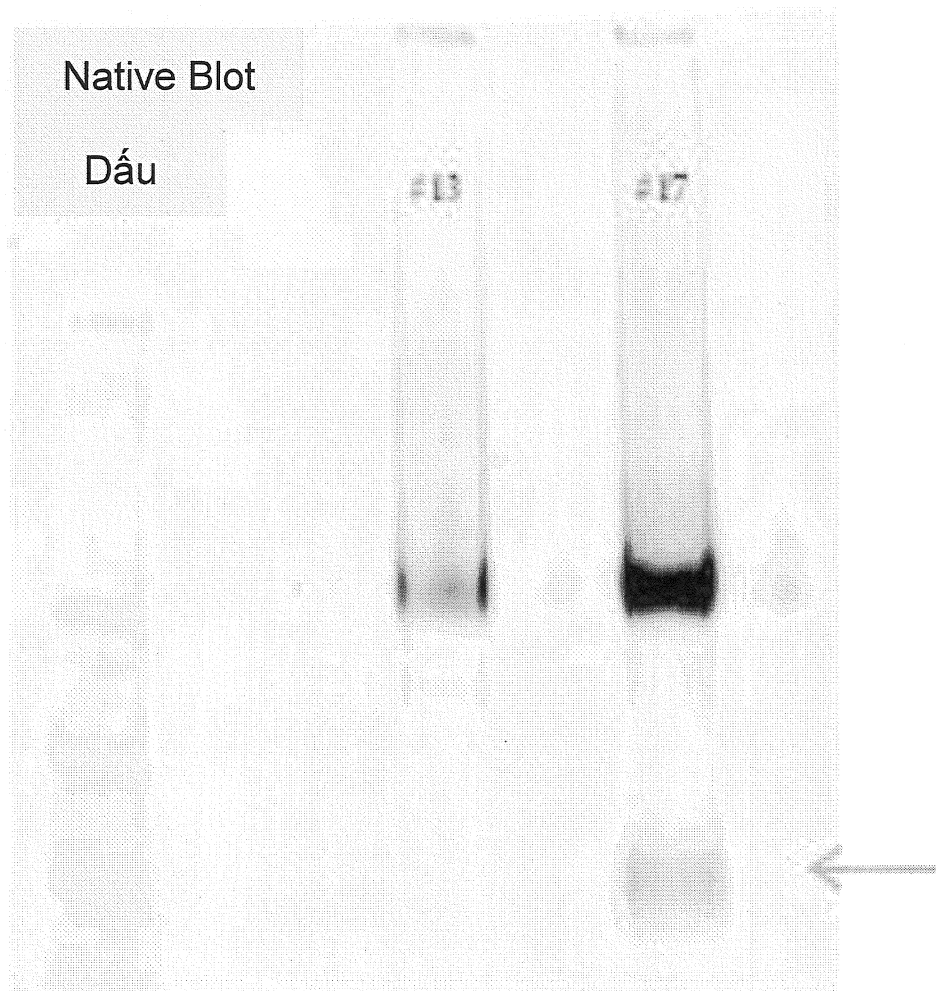
Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
530 535 540

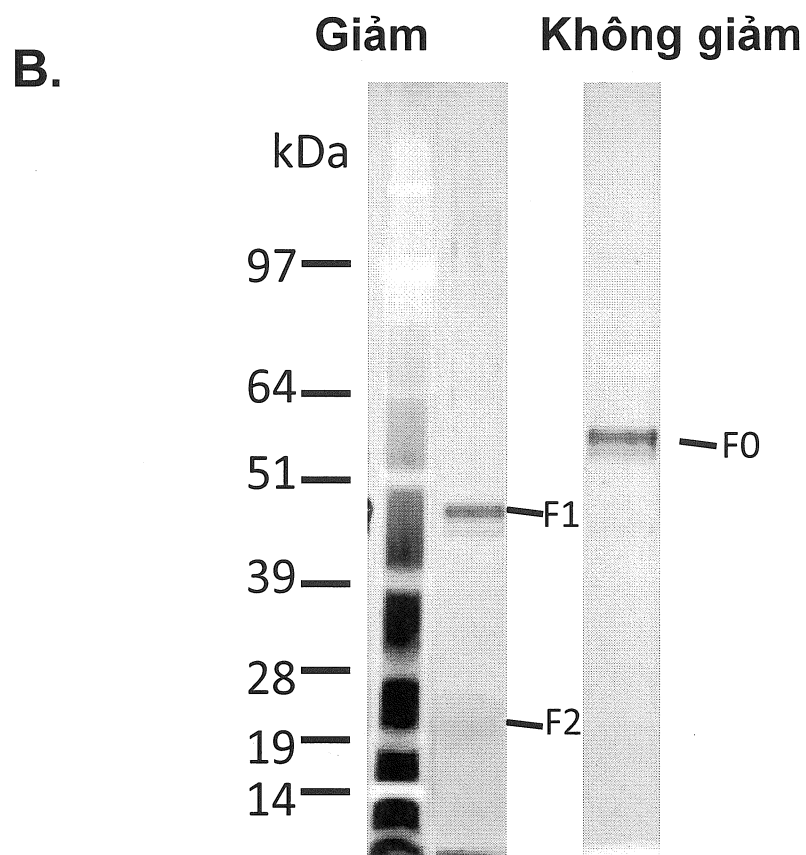
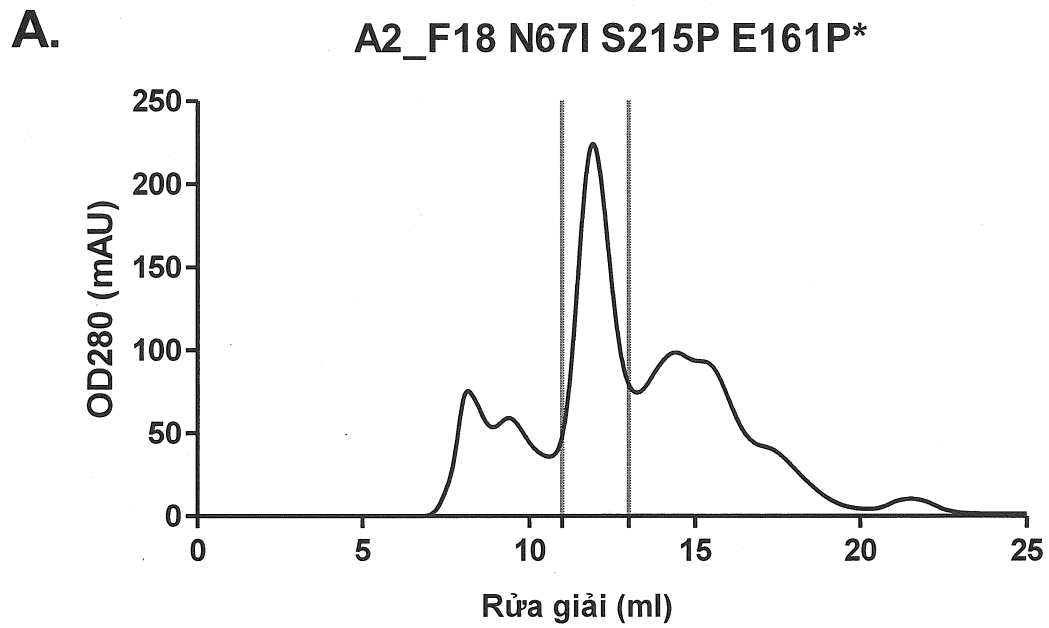
**Fig. 1**

Native PAGE

DM+CC

DM

**Fig. 2**

**Fig. 3**

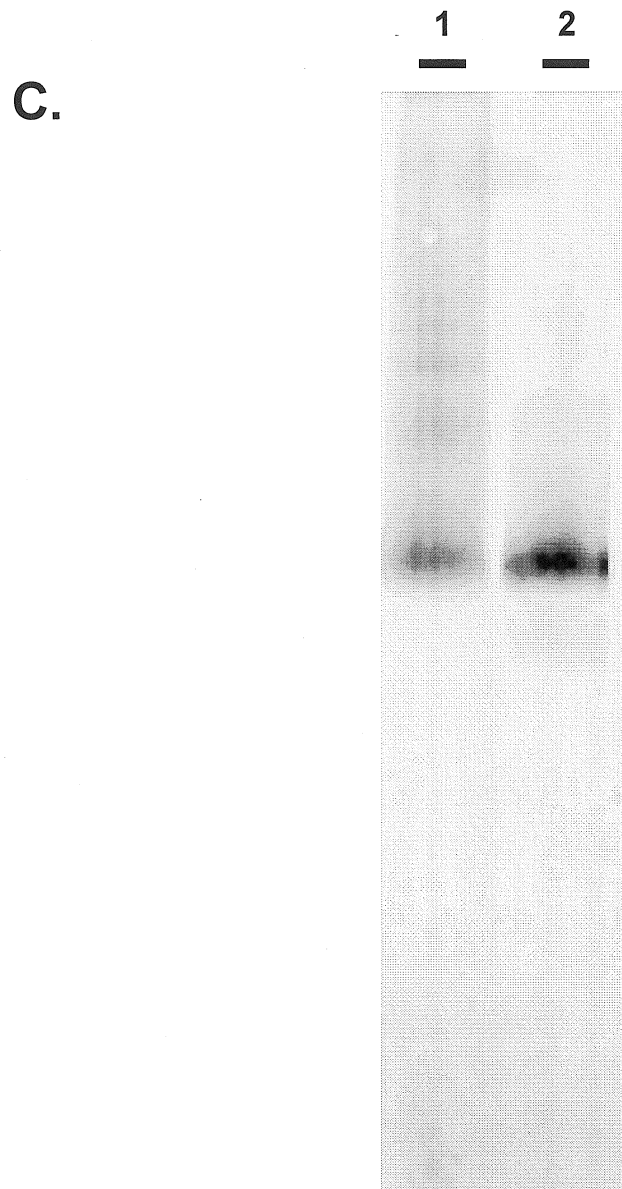


Fig. 3 – tiếp

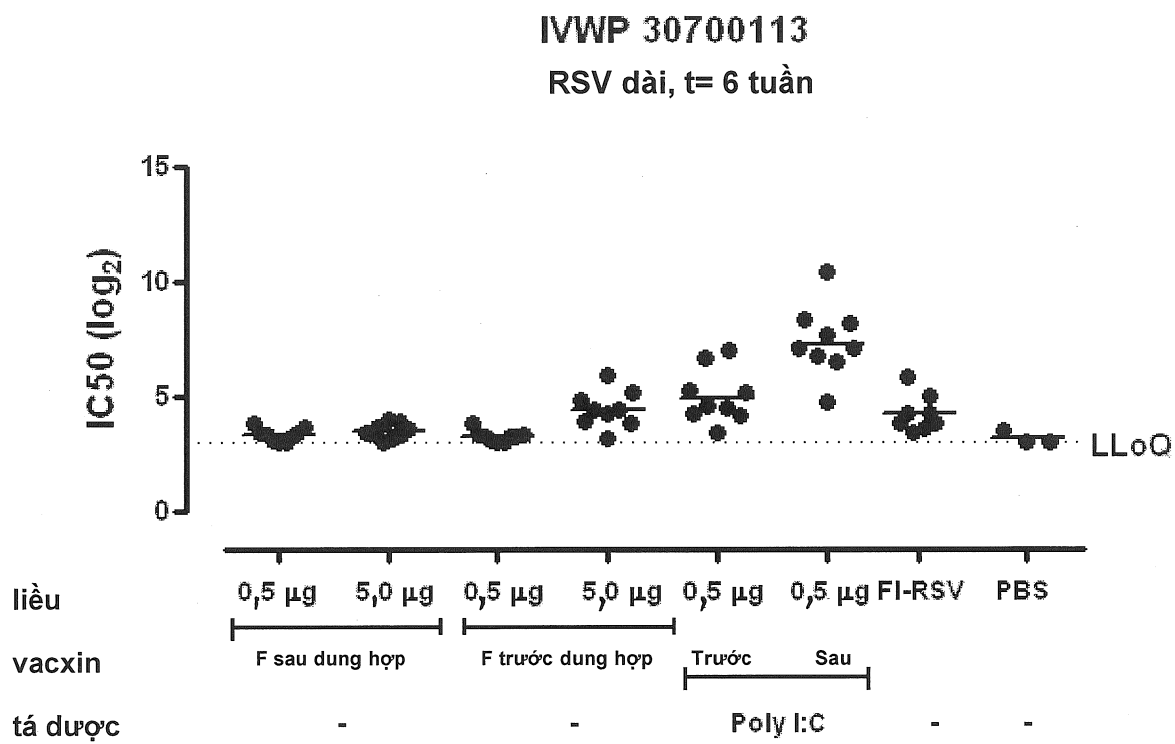


Fig. 4

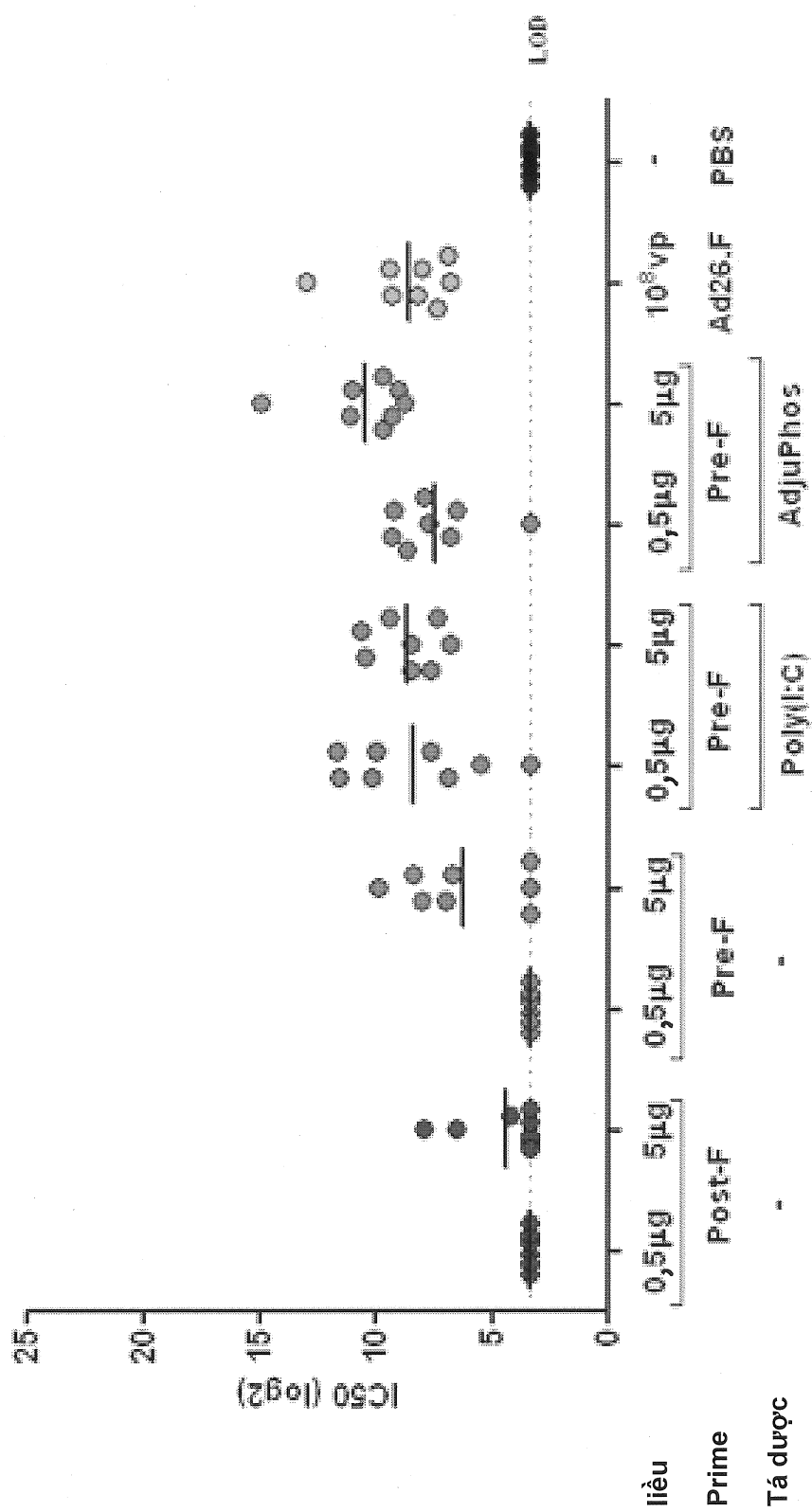
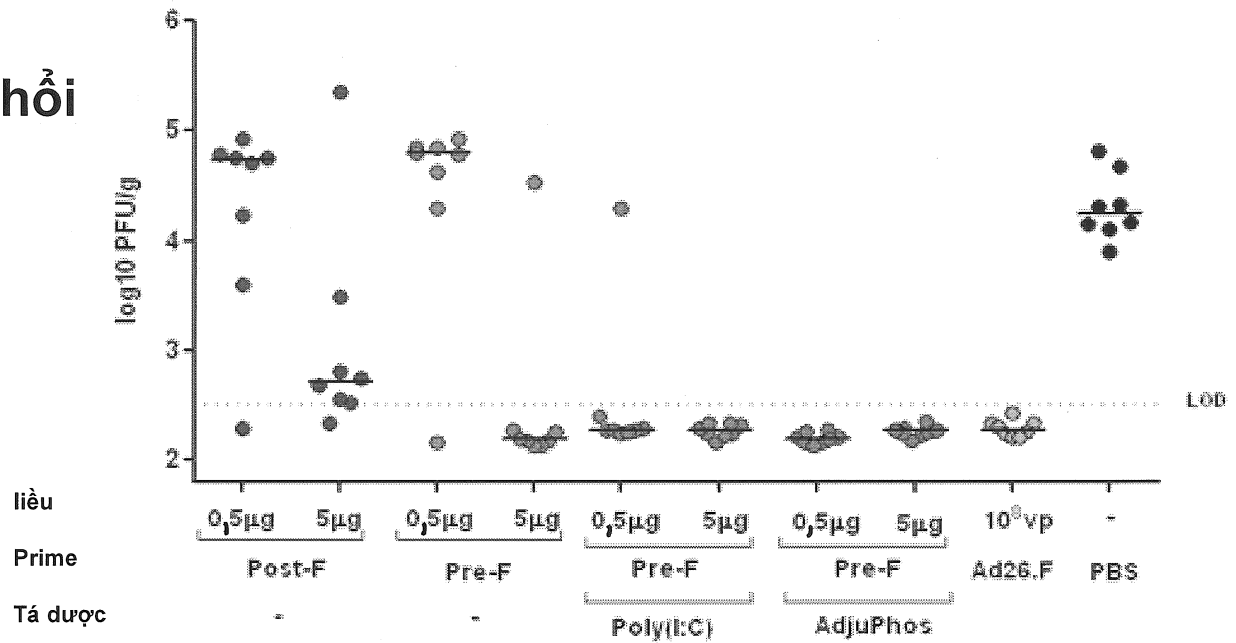


Fig. 5

Phổi



Mũi

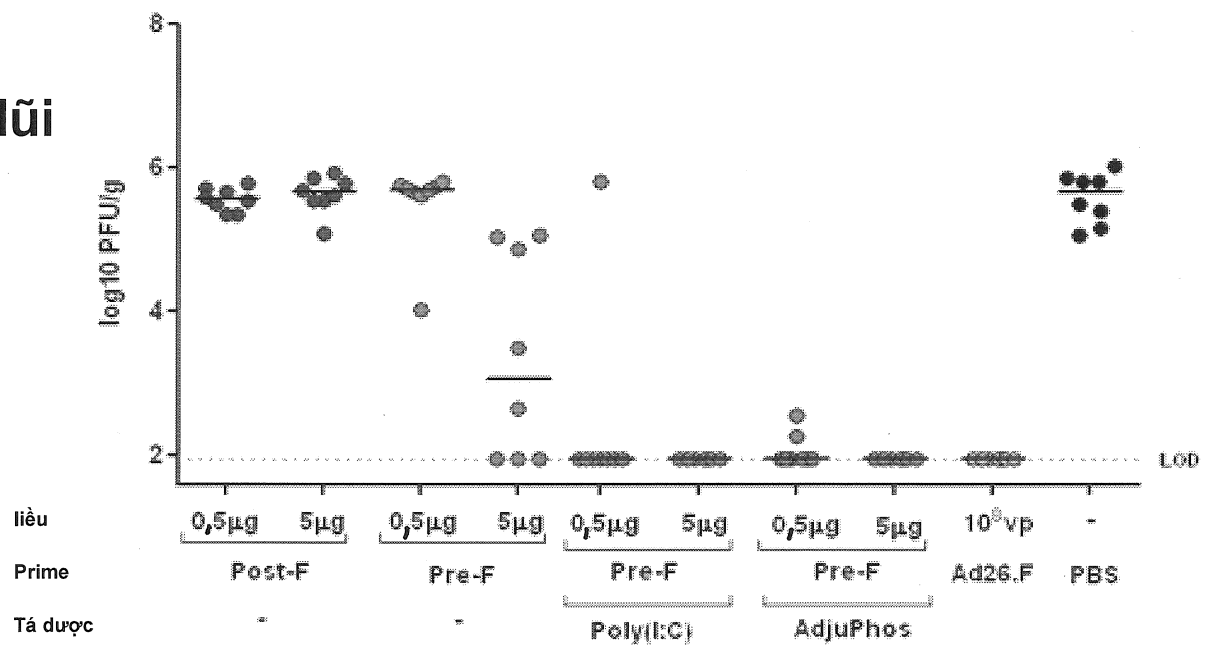


Fig. 6