



(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)



1-0031621

(51)⁷ A61K 39/09; C07K 14/00

(13) B

(21) 1-2016-04878

(22) 29/05/2015

(86) PCT/EP2015/061961 29/05/2015

(87) WO2015/181356 03/12/2015

(30) 14170637.4 30/05/2014 EP

(45) 25/04/2022 409

(43) 25/04/2017 349A

(73) Ceva Santé Animale S.A. (FR)

10 avenue de la Ballastière, 33500 Libourne, France

(72) SEELE, Jana (DE); BAUMS, Christoph (DE); VALENTIN-WEIGAND, Peter (DE).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM VACXIN CHỐNG LẠI SỰ NHIỄM *STREPTOCOCCUS SUI*S

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm vacxin bao gồm lượng hữu hiệu của ít nhất một polypeptit được chọn từ nhóm gồm IdeSsuis, rIdeSsuis, chất tương tự hoặc đoạn của nó, hoặc polynucleotit mã hóa chúng. Chế phẩm vacxin này được sử dụng để điều trị phòng ngừa hoặc dự phòng bùng phát hoặc trị liệu sự nhiễm *Streptococcus suis* ở lợn hoặc người. Sáng chế cũng đề cập đến các protein IdeSsuis và rIdeSsuis, kháng thể và tế bào chủ có liên quan.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm vacxin và sử dụng nó để gây miễn dịch và bảo vệ động vật có vú, cụ thể là lợn và người, chống lại *Streptococcus suis*.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Streptococcus suis (*S. suis*) cư trú ở đường hô hấp, đường tiêu hóa và đường sinh dục của lợn. *S. suis* cũng là một trong số những tác nhân gây bệnh quan trọng nhất ở lợn, gây ra các bệnh lý học khác nhau như viêm màng não, nhiễm khuẩn huyết, viêm khớp và viêm màng trong tim.

Nhiễm *S. suis* là nguyên nhân gây ra sự thiệt hại lớn về mặt sản lượng trong ngành công nghiệp lợn trên toàn thế giới. Các chất kháng sinh thường được sử dụng để điều trị nhiễm *S. suis*. Sự nhiễm tái diễn đều đặn thường xảy ra cũng như những tranh luận đang diễn ra liên quan đến việc giảm sử dụng chất kháng sinh cho thấy cần có các biện pháp kiểm soát thay thế. Ở châu Âu, không có vacxin nào được cấp phép nhưng các vacxin vô hoạt tự thân không chứa chất bổ trợ (autologous bacterin) thường được sử dụng. Hạn chế chính là ở chỗ các vacxin này chỉ bảo vệ chống lại typ huyết thanh tương đồng. Nhưng *S. suis* là sinh vật cực kỳ đa dạng và các typ huyết thanh khác nhau chịu trách nhiệm cho tình trạng bệnh tật ở lợn. Đặc biệt, các chủng có typ huyết thanh 2 đóng vai trò quan trọng đối với các bệnh ở lợn trên toàn thế giới.

S. suis typ huyết thanh 2 được xác định là gây ra bệnh viêm màng não ở người trưởng thành ở châu Á, nhưng cho đến nay không phát hiện thấy sự lây truyền *S. suis* giữa người với người.

Nhìn chung, sự nhiễm gây ra đáp ứng globulin miễn dịch M (Immunoglobulin M - IgM) đặc hiệu kháng nguyên sớm dẫn đến sự trưởng thành về mặt ái lực và sự chuyển đổi kiểu tương đương. Ngoài ra, các kháng thể IgM xuất hiện trong tự nhiên có mặt trước khi nhiễm là quan trọng để liên kết miễn dịch bẩm sinh với miễn dịch thích ứng.

Ở lợn, IgM là đặc biệt quan trọng với tư cách là TgM màng monome (monomeric membrane IgM - mIgM) do nó là thụ thể tế bào B duy nhất được tìm thấy

do IgD không có mặt ở lợn. Ngoài ra, việc tổng hợp IgM ở lợn con mới sinh được bắt đầu sớm hơn nhiều so với sự tổng hợp IgG và IgA. IgM trong sữa non là yếu tố quyết định để bảo vệ chống lại các tác nhân gây bệnh, việc bảo vệ này được thực hiện bằng cách tiêu diệt qua trung gian bổ thể. Vì vậy, các kháng thể IgM là quan trọng trong quá trình bảo vệ chống lại các tác nhân gây bệnh khác nhau.

Các yếu tố tính độc hoặc có liên quan đến tính độc khác nhau của *S. suis* typ huyết thanh 2 đã được nhận biết, ngoài màng bao là yếu tố tính độc thiết yếu duy nhất đã biết cho đến nay bảo vệ tác nhân gây bệnh chống lại sự thực bào. Một số protein được tiết và liên kết với bề mặt của *S. suis* typ huyết thanh 2 có cùng chức năng hoặc chức năng rất giống với các yếu tố tương đồng của các liên cầu khuẩn gây bệnh khác. Các tác nhân gây bệnh khác nhau ở người và động vật như *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus equi* loài phụ *equi* và *Streptococcus equi* loài phụ *zooepidemicus* biểu hiện các IgG endopeptidaza đặc hiệu tương đồng với nhau.

Một yếu tố được tiết và liên kết với bề mặt với chức năng duy nhất đối với *S. suis* lần đầu tiên được mô tả bởi Seele và đồng tác giả ("Identification of a Novel Host-specific IgM Protease in *Streptococcus suis*." 2013; Journal of Bacteriology, 195: 930-940). Seele và đồng tác giả đã chỉ ra rằng IgM proteaza này, được chỉ định là IdeSsuis, không thực hiện chức năng như IgG endopeptidaza. IgM proteaza phân giải IgM opsonin hóa trên bề mặt vi khuẩn và vì vậy thúc đẩy sự sống sót của *S. suis* trong máu của lợn được chủng mỗi bằng vaccin vô hoạt không chứa chất bổ trợ. IdeSsuis cực kỳ đặc hiệu đối với IgM không phân cắt IgG hoặc IgA. Tuy nhiên, Seele và đồng tác giả, không đề cập đến chức năng của IdeSsuis, rIdeSsuis và các chất tương tự và các đoạn của nó dùng làm vaccin hữu hiệu chống lại sự nhiễm *S. suis*. Tài liệu này chỉ giả thuyết rằng sự trung hòa hoạt tính IdeSsuis IgM proteaza có thể cải thiện về cơ bản hiệu lực bảo vệ của vaccin vô hoạt không chứa chất bổ trợ hoặc các vaccin khác trong tương lai sinh ra kháng thể opsonin hóa. Tuy nhiên, tài liệu này không bộc lộ rằng IdeSsuis và các protein có liên quan có thể được sử dụng làm tác nhân gây miễn dịch độc nhất (riêng biệt) trong vaccin chống lại sự nhiễm *S. suis*.

Baums và đồng tác giả bộc lộ trong tài liệu *Surface-associated and secreted factors of Streptococcus suis in epidemiology, pathogenesis and vaccine development, Animal Health Research Reviews, Volume 10, Issue 01, June 2009, pp 65-83* các yếu

tổ liên quan đến vi khuẩn, cả các yếu tố được tiết và liên kết với bề mặt, được xem là góp phần vào các tương tác giữa *S. suis* với các yếu tố và tế bào chủ. Các yếu tố được trình bày về (i) nhận dạng và các đặc trưng của chúng, (ii) sự phân bố chúng trong *S. suis* và (iii) tầm quan trọng của chúng đối với độc lực, đáp ứng miễn dịch và chủng ngừa. Tài liệu này nhấn mạnh nhiều câu hỏi hóc búa vẫn cần phải trả lời trong tương lai.

Vấn đề được giải quyết theo sáng chế là nhằm khắc phục các vấn đề đã được mô tả trước đây trong lĩnh vực và đề xuất chế phẩm vaccin mới để gây miễn dịch và bảo vệ cho động vật, cụ thể là lợn và người, chống lại sự nhiễm *S. suis*.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo sáng chế, vấn đề này được giải quyết bằng cách đề xuất chế phẩm vaccin bao gồm lượng hữu hiệu của ít nhất một polypeptit hoặc ít nhất một vector được chọn từ nhóm gồm

- (a) protein có tên gọi IdeSsuis, chất tương tự hoặc đoạn của nó,
 - (b) protein có tên gọi rIdeSsuis, chất tương tự hoặc đoạn của nó,
 - (c) vector với polynucleotit được cài xen trong đó mã hóa protein IdeSsuis, chất tương tự hoặc đoạn của nó,
 - (d) vector với polynucleotit được cài xen trong đó mã hóa protein rIdeSsuis, chất tương tự hoặc đoạn của nó và
- ít nhất một chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sáng chế còn được mô tả có tham chiếu đến các hình vẽ sau, trong đó:

Fig. 1 là bảng thời gian mô tả thí nghiệm chủng ngừa bằng liều thử thách với *S. suis* ở lợn,

Fig. 2 là đồ thị thể hiện kết quả đạt được với các thí nghiệm chủng ngừa bằng liều thử thách ở Fig. 1,

Fig. 3 là biểu đồ của thử nghiệm diệt khuẩn bao gồm việc chủng ngừa bằng giả dược so với rIdeSsuis, và

Fig. 4 mô tả biểu đồ của thử nghiệm diệt khuẩn bao gồm việc chủng ngừa bằng rIdeSsuis hoặc chất tương tự rIdeSsuis so với nhóm đối chứng.

Ngoài ra, danh mục trình tự được gắn kèm với phần mô tả này.

SEQ ID NO: 1 là trình tự axit amin của protein IdeSsuis;

SEQ ID NO: 2 là trình tự axit amin của protein tái tổ hợp rIdeSsuis không chứa peptit tín hiệu;

SEQ ID NO: 3 là trình tự nucleotit mã hóa IdeSsuis và

SEQ ID NO: 4 là trình tự nucleotit mã hóa rIdeSsuis.

SEQ ID NO: 5 là trình tự axit amin của phần có tính bảo toàn cao của miền Mac-1 của IdeSsuis.

SEQ ID NO: 6 là trình tự axit amin của trình tự tương đồng rIdeSsuis của chất tương tự rIdeSsuis.

SEQ ID NO: 7 là trình tự axit amin của chất tương tự rIdeSsuis là rIdeSsuisB2.

SEQ ID NO: 8 là trình tự nucleotit mã hóa trình tự tương đồng rIdeSsuis của chất tương tự rIdeSsuis.

SEQ ID NO: 9 là trình tự nucleotit mã hóa chất tương tự rIdeSsuis là rIdeSsuisB2.

SEQ ID NO: 10 là trình tự axit amin gồm các axit amin từ 91 đến 425 của WP_044671938.

SEQ ID NO: 11 là trình tự axit amin gồm các axit amin từ 91 đến 425 của WP_002935529.

SEQ ID NO: 12 là trình tự axit amin gồm các axit amin từ 92 đến 426 của WP_015647040.

SEQ ID NO: 13 là trình tự axit amin gồm các axit amin từ 92 đến 426 của WP_023370787.

SEQ ID NO: 14 là trình tự axit amin gồm các axit amin từ 92 đến 426 của WP_044678723.

Mô tả chi tiết sáng chế

Chế phẩm vaccin được sử dụng trong sáng chế chứa ít nhất một polypeptit duy nhất được xác định bởi (a) hoặc (b) cùng với chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng hoặc hỗn hợp của chúng. Ngoài ra, vaccin này có thể còn chứa ít nhất một vectơ duy nhất được xác định bởi (c) hoặc (d) với chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng hoặc hỗn hợp của chúng.

Tốt hơn là, chế phẩm vaccin theo sáng chế, trong đó IdeSsuis ở (a) bao gồm

(a.a) trình tự axit amin SEQ ID NO: 1;

(a.b) đoạn hoặc trình tự tương tự của trình tự axit amin SEQ ID NO: 1;

hoặc

(a.c) đoạn của trình tự (a.a) hoặc (a.b) có hoạt tính IgM proteaza.

Cũng tốt hơn là chế phẩm vaccin theo sáng chế, trong đó rIdeSsuis ở (b) bao gồm hoặc gồm có

(b.a) trình tự axit amin SEQ ID NO: 2, 6 hoặc 7;

(b.b) đoạn hoặc trình tự tương tự của trình tự axit amin SEQ ID NO: 2, 6 hoặc 7;

(b.c) trình tự axit amin khuyết thiếu các axit amin từ vị trí 1 đến 34 của trình tự axit amin SEQ ID NO: 1;

(b.d) trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất 60%, tốt hơn là mức tương đồng 70% và tốt nhất là mức tương đồng 85% với trình tự axit amin của protein IdeSsuis có trình tự SEQ ID NO: 1;

(b.e) đoạn của (b.a) hoặc (b.b) hoặc (b.c) hoặc (b.d) có hoạt tính IgM proteaza; hoặc

(b.f) đoạn của (b.a) hoặc (b.b) hoặc (b.c) hoặc (b.d) bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất 95% với trình tự này.

Trình tự axit amin SEQ ID NO: 2 là trình tự SEQ ID NO: 1, tuy nhiên khuyết thiếu các axit amin 1-34 (peptit tín hiệu) nhưng bổ sung đuôi HIS. Đáng lưu ý là SEQ ID NO: 1 được bắt nguồn từ chủng *S. suis* typ huyết thanh 2.

Trình tự axit amin SEQ ID NO: 6 là trình tự đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 7 (còn được gọi là kháng nguyên rIdeSsuisB2) chứa trình tự axit amin đầy đủ của protein IdeSsuis trưởng thành của chủng *S. suis* typ huyết thanh 7 nhưng bổ sung thêm đuôi HIS ở đầu tận cùng N. Protein IdeSsuis của chủng *S. suis* typ huyết thanh 7 khác biệt ở nửa đầu tận cùng C của protein này do nó khuyết thiếu trình tự gồm 114 axit amin so với SEQ ID NO: 1. Các axit amin từ 80 đến 414 của SEQ ID NO: 7 (phần được bảo toàn cao của miền được gọi là Mac-1) tương ứng với 97,9% trình tự SEQ ID NO: 5. Mức đồng nhất nói chung giữa SEQ ID NO: 7 và 1 là 96,4% (không tính đến đuôi HIS ở đầu tận cùng N và khe hở của 114 axit amin).

Thuật ngữ "đoạn hoặc trình tự tương tự" như được sử dụng trong bản mô tả này được định nghĩa như sau:

"Trình tự tương tự" có thể được đề cập đến như là trình tự axit amin tương tự với các trình tự được bộc lộ ở trên và có mức tương đồng ít nhất là 60%, tốt hơn là 70% và tốt nhất là 85% với trình tự axit amin gốc (nghĩa là SEQ ID NO: 1, 2, 6 hoặc 7). Mức độ tương đồng cao hơn, như 95%, cũng được dự tính ở đây. Tính tương đồng, như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là tính đồng nhất. Được hiểu theo cách thông thường, các trình tự có thể khác nhau ở sự thế, khuyết đoạn hoặc xen đoạn.

Mức độ đồng nhất có thể được xác định bằng chương trình phân tích BLAST dùng cho protein có sử dụng thuật toán blastp với các thông số mặc định là, chẳng hạn, ngưỡng kỳ vọng: 10, độ dài từ: 3, Ma trận: BLOSUM62, Trị số khoảng hở: Thực tế: 11 Mở rộng: 1 và điều chỉnh thành phần: Điều chỉnh ma trận điểm thành phần điều kiện (BLAST là nhãn hiệu được đăng ký của National Library of Medicine). Chương trình này có thể được sử dụng để tra cứu dữ liệu protein bằng cách sử dụng trình tự nghi ngờ của protein. Tính đồng nhất cho biết sự cặp đôi chính xác giữa trình tự nghi ngờ đã được sắp thẳng hàng và các trình tự có trong cơ sở dữ liệu.

Tốt hơn là, "sự thế" axit amin là kết quả của việc thay thế một axit amin bằng một axit amin khác có các đặc tính cấu trúc và/hoặc hóa học tương tự, nghĩa là, sự thay thế axit amin có bảo toàn. Sự thế axit amin có thể được thực hiện dựa trên sự tương tự về tính phân cực, tích điện, tính tan, tính kỵ nước, tính ưa nước, và/hoặc bản chất lưỡng tính của các gốc liên quan. Ví dụ, axit amin không phân cực (kỵ nước) bao gồm

alanin, leuxin, isoleuxin, valin, prolin, phenylalanin, tryptophan, và methionin; axit amin trung tính phân cực bao gồm glyxin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, và glutamin; các axit amin tích điện dương (có tính bazơ) bao gồm arginin, lysin, và histidin; và các axit amin tích điện âm (có tính axit) bao gồm axit aspartic và axit glutamic.

"Sự xen đoạn" hoặc "khuyết đoạn" thường là trong phạm vi khoảng 1, 2 hoặc 3 axit amin. Biến thể được chấp nhận có thể được xác định theo thí nghiệm bằng cách cài xen hoặc làm khuyết đoạn một cách có hệ thống các axit amin trong protein bằng cách sử dụng kỹ thuật ADN tái tổ hợp và phân tích hoạt tính của các biến thể tái tổ hợp thu được. Điều này không đòi hỏi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực phải thực hiện các thí nghiệm quá mức thông thường.

"Trình tự tương tự" có thể thay thế cho hoặc theo cách khác được định nghĩa như là trình tự axit amin tương tự với các trình tự axit amin được bộc lộ ở trên và bao gồm phần có tính bảo toàn cao của miền Mac-1 (SEQ ID NO: 5) hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự này. Các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện ra rằng miền này chủ yếu chịu trách nhiệm cho hoạt tính sinh miễn dịch không mong muốn của các protein IdeSsuis và, bản thân miền này, là đủ để tạo ra tác dụng bảo vệ miễn dịch cho động vật được chủng ngừa. Tồn tại các typ huyết thanh khác nhau của *S. suis*, một phần có sự biến đổi lớn về trình tự axit amin của chúng, vì vậy dẫn đến mức tương đồng giảm xuống khoảng 60%. Tuy nhiên, miền Mac-1 có tính bảo toàn cao chỉ thể hiện sự biến đổi nhỏ về trình tự axit amin giữa các typ huyết thanh khác nhau, chẳng hạn 97,9% giữa các chủng có typ huyết thanh 2 và 7.

Vì vậy, có thể chấp nhận rằng axit amin theo sáng chế (và các axit nucleic mã hóa chúng) có mức biến đổi ở bên ngoài miền Mac-1 lớn hơn so với bên trong miền này.

Thuật ngữ "đoạn" có thể được định nghĩa theo cách tương tự (xem ở trên). Thuật ngữ này mô tả trình tự axit amin ngắn hơn so với trình tự tương tự (ít hơn khoảng 400 axit amin). Thuật ngữ này chứa hoặc gồm có phần có tính bảo toàn cao của miền Mac-1 (SEQ ID NO: 5) hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự này. Tùy ý, đoạn có thể được định nghĩa là có hoạt tính IgM proteaza, mặc

dù đây không phải là yêu cầu thiết yếu. Các đoạn này có thể được sử dụng làm thành phần hoạt tính độc nhất trong vaccin theo sáng chế.

Vì vậy, theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm vaccin theo sáng chế bao gồm, về cơ bản gồm có hoặc gồm có protein bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất 95% với trình tự này. Theo một phương án được ưu tiên hơn nữa, protein (hoặc vectơ mã hóa protein này) là thành phần hoạt tính hoặc thành phần sinh miễn dịch duy nhất.

Thuật ngữ "bao gồm" như được sử dụng trong bản mô tả này trong ngữ cảnh của chế phẩm vaccin có nghĩa là các hợp phần hoạt tính hoặc sinh miễn dịch khác có thể có mặt. "Gồm có" có nghĩa là không có mặt các hợp phần khác và "về cơ bản gồm có" có nghĩa là có thể có mặt các hợp phần cụ thể khác, cụ thể là các hợp phần không ảnh hưởng thiết yếu đến các đặc tính cơ bản của vaccin (nghĩa là các thành phần không có hoạt tính hoặc không sinh miễn dịch).

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất chế phẩm vaccin về cơ bản gồm có protein rIdeSsuis có mức tương đồng ít nhất 60%, 70%, 85% hoặc 95% với trình tự axit amin của protein IdeSsuis có SEQ ID NO: 1 và/hoặc bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất 95% với trình tự này.

Những định nghĩa nêu trên cũng có thể được áp dụng có kèm theo những thay đổi cần thiết cho các trình tự axit nucleic theo sáng chế mã hóa những protein này. Các định nghĩa tương đồng là như nhau, chiều dài đoạn sẽ nhỏ hơn khoảng 1.200 axit nucleic.

Tốt hơn nữa là chế phẩm vaccin theo sáng chế trong đó đoạn gồm số lượng hữu hiệu polypeptit đã nêu ở (a) hoặc (b) là một phần của protein dung hợp với ít nhất một protein khác.

Tốt hơn là chế phẩm vaccin theo sáng chế, trong đó polynucleotit ở (c) bao gồm trình tự mã hóa protein được định nghĩa như là IdeSsuis, cụ thể là

(a.a) trình tự axit amin SEQ ID NO: 1;

(a.b) đoạn hoặc trình tự tương tự của trình tự axit amin SEQ ID NO: 1;

hoặc

(a.c) đoạn của trình tự (a.a) hoặc (a.b) có hoạt tính IgM proteaza.

Đặc biệt tốt nếu chế phẩm vaccin theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ polynucleotit bao gồm

(c.a) trình tự SEQ ID NO: 3 hoặc trình tự bổ trợ của nó;

(c.b) đoạn của trình tự (c.a) hoặc

(c.c) đoạn của trình tự (c.a) mã hóa protein có hoạt tính IgM proteaza.

Được ưu tiên hơn nữa là chế phẩm vaccin theo sáng chế, trong đó polynucleotit ở (d) bao gồm trình tự mã hóa protein được định nghĩa như là rIdeSsuis, cụ thể là

(b.a) trình tự axit amin SEQ ID NO: 2;

(b.b) đoạn hoặc trình tự tương tự của trình tự axit amin SEQ ID NO: 2;

(b.c) trình tự axit amin khuyết thiếu các axit amin từ vị trí 1 đến 34 của trình tự axit amin SEQ ID NO: 1;

(b.d) trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất 60%, tốt hơn là mức tương đồng 70% và tốt nhất là mức tương đồng 85% với trình tự axit amin của protein IdeSsuis có trình tự SEQ ID NO: 1; hoặc

(b.e) đoạn của (b.a) hoặc (b.b) hoặc (b.c) hoặc (b.d) có hoạt tính IgM proteaza, và/hoặc

(b.f) đoạn của (b.a) hoặc (b.b) hoặc (b.c) hoặc (b.d) bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất 95% với trình tự này.

Đặc biệt tốt nếu chế phẩm vaccin theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ polynucleotit bao gồm

(d.a) trình tự SEQ ID NO: 4, 8 hoặc 9 hoặc trình tự bổ trợ của nó;

(d.b) đoạn của trình tự (d.a) hoặc

(d.c) đoạn của trình tự (d.a) mã hóa protein có hoạt tính IgM proteaza.

Tốt hơn là chế phẩm vaccin theo sáng chế, trong đó polynucleotit là ADN bổ trợ, ADN hoặc ARN bổ trợ, ARN. Thuật ngữ "trình tự axit nucleic" dùng để chỉ

polyme khác loại của các nucleotit hoặc trình tự của các nucleotit này. Thuật ngữ "axit nucleic" và "polynucleotit" trong bản mô tả này được sử dụng thay cho nhau dùng để chỉ polyme khác loại của các nucleotit.

Còn tốt hơn nếu chế phẩm vaccin theo sáng chế còn được đặc trưng bởi polynucleotit được hợp nhất vào một vector, trong đó polynucleotit này được liên kết có điều khiển với vùng điều hòa biểu hiện của vector.

Vector biểu hiện này tốt hơn là bao gồm một hoặc nhiều trình tự điều hòa. Thuật ngữ "vector biểu hiện" thường dùng để chỉ plasmit hoặc thể thực khuẩn hoặc virus hoặc vector, dùng để biểu hiện polypeptit từ trình tự ADN (ARN). Vector biểu hiện có thể bao gồm đơn vị phiên mã bao gồm tập hợp gồm (1) yếu tố hoặc các yếu tố di truyền có vai trò điều hòa sự biểu hiện gen, ví dụ, yếu tố khởi đầu hoặc yếu tố tăng cường, (2) trình tự cấu trúc hoặc mã hóa được phiên mã thành ARN thông tin và được dịch mã thành protein, và (3) các trình tự khởi đầu và kết thúc phiên mã thích hợp. Các đơn vị cấu trúc được dự định để sử dụng trong hệ biểu hiện nấm men hoặc hệ biểu hiện sinh vật có nhân điển hình, tốt hơn là bao gồm trình tự dẫn cho phép tế bào chủ tiết protein đã được dịch mã ra bên ngoài tế bào. Theo cách khác, ở nơi mà protein tái tổ hợp được biểu hiện không cùng với trình tự dẫn hoặc trình tự vận chuyển, protein này có thể bao gồm gốc methionin ở đầu tận cùng N. Gốc này có thể được hoặc không được tách ra sau đó từ protein tái tổ hợp được biểu hiện này để tạo ra sản phẩm cuối.

Cũng tốt hơn nếu chế phẩm vaccin theo sáng chế được tạo ra ở dạng có thể sử dụng sinh lý và thích hợp để tiêm trong cơ, trong tĩnh mạch, dưới da hoặc tiêm qua da hoặc dùng qua đường niêm mạc. Đáng lưu ý là việc dùng trong tĩnh mạch ít được ưu tiên.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến đoạn của ldeSsuis có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5, hoặc trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất 95% với trình tự này. SEQ ID NO: 5 tương ứng với phần có tính bảo toàn cao của miền Mac-1. Mặc dù miền này có hoạt tính IgM proteaza, hiệu lực sinh miễn dịch không nhất thiết phải có liên quan đến hoạt tính này. Ví dụ, các trình tự tương tự của SEQ ID NO: 5 trong đó trung tâm hoạt động của proteaza bị bất hoạt bằng quy trình sinh đột biến gốc Cys cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Cũng trong trường hợp này, trình tự tương tự sẽ

hữu dụng làm vaccin để gây ra đáp ứng miễn dịch.

Ngoài ra, điều này chỉ ra rằng các trình tự axit amin có thể hữu hiệu để làm vaccin chống lại sự nhiễm *S. suis* nếu chúng duy trì mức tương đồng ít nhất là 95% với SEQ ID NO: 5. Các trình tự axit amin này bao gồm sự thế, sự xen đoạn hoặc khuyết đoạn của các axit amin đơn lẻ. Điều này chỉ ra rằng các miền Mac-1 xuất hiện trong tự nhiên, mặc dù có một số biến đổi, không khác biệt nhau nhiều hơn 5%, hoặc nói theo cách khác, có cùng độ đồng nhất 95% hoặc lớn hơn trong miền này. Các trình tự *Streptococcus suis* được nêu làm ví dụ thu được từ chủng được phân lập ở các vùng địa lý khác nhau (America, Asia, Châu Âu) và có nguồn gốc từ các sinh vật chủ khác nhau (người, lợn). Các chủng này thuộc các typ huyết thanh khác nhau (1 đến 4, 7 đến 9, 14 và 16 hoặc không xác định được typ huyết thanh). Điều này được tóm tắt trong bảng 1 kèm theo:

Mã nhận dạng protein	Mức tương đồng với SEQ ID NO: 5	(Các) chủng	Được phân lập từ các loài	Nguồn gốc địa lý	Typ huyết thanh
WP_011922092	100 %	05ZYH33 P1/7 S15W S12W	Người Lợn Lợn Lợn	Trung quốc Châu Âu Anh Anh	2 2 9 14
WP_044670034	100 %	E10N E30Y	Lợn Người	Việt Nam Việt Nam	2 2
WP_012775646	100 %	JS14	Lợn	Trung quốc	14
WP_044671938	99 %	LS0C	Lợn	Anh	1
WP_002935529	98 %	89-1591 D9 LL-S	Lợn Lợn Lợn	Ca-na-đa Trung quốc Anh	2 7 3
WP_015647040	98 %	TL13	Lợn	Trung quốc	16
WP_023370787	97 %	T15 S97A S16Z	Lợn Lợn Lợn	Hà Lan Anh Anh	2 4 8
WP_044678723	96 %	LS1B	Lợn	Anh	Không xác định được typ huyết thanh

Thông tin về trình tự của miền Mac-1 của các protein WP_044671938, WP_002935529, WP_015647040, WP_023370787 và WP_044678723 được bộc lộ

trong SEQ ID NO: 10 đến SEQ ID NO: 14. Do mức tương đồng của chúng đối với SEQ ID NO: 5 cao hơn 95%, chúng không thuộc định nghĩa của đoạn hoặc trình tự tương đồng theo sáng chế.

Một khía cạnh khác nữa là protein rIdeSsuis bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO: 6 hoặc 7, hoặc trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất là 60%, tốt hơn là 70%, 85% hoặc 95% với trình tự axit amin của protein IdeSsuis có SEQ ID NO: 6 hoặc 7.

Một đối tượng khác của sáng chế là tế bào chủ được chuyển nhiễm vector này.

Một đối tượng khác nữa của sáng chế là phương pháp sản xuất protein được định nghĩa như là rIdeSsuis dùng làm kháng nguyên tham dự trong vector hoặc một sinh vật khác, một cách tương ứng, tế bào chủ được chuyển nhiễm trong điều kiện thích hợp để biểu hiện protein tái tổ hợp đã nêu.

Một khía cạnh khác của sáng chế là kháng thể nhận biết protein IdeSsuis hoặc rIdeSsuis, trình tự tương tự hoặc đoạn như được định nghĩa ở trên.

Kháng thể tốt hơn là được chọn từ nhóm, gồm có kháng thể đa dòng, kháng thể đơn dòng, kháng thể được làm giống như của người, kháng thể khảm và kháng thể tổng hợp.

Thuật ngữ “kháng thể”, được sử dụng trong bản mô tả này để chỉ kháng thể nguyên vẹn cũng như đoạn kháng thể, có khả năng gắn kết chọn lọc nhất định với một epitop. Các đoạn như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các đoạn kháng thể Fab, F(ab')₂ và Fv. Thuật ngữ “epitop” có nghĩa là yếu tố quyết định kháng nguyên của một kháng nguyên, mà paratop của kháng thể có thể gắn kết với nó. Các yếu tố quyết định epitop thường gồm có các nhóm hóa học hoạt hóa bề mặt của phân tử (chẳng hạn các gốc axit amin hoặc các gốc đường) và thường có cấu trúc ba chiều cũng như các đặc tính vật lý đặc trưng.

Các kháng thể theo sáng chế có thể được sản xuất theo quy trình bất kỳ đã biết. Ví dụ protein IdeSsuis hoặc rIdeSsuis hoàn toàn tinh khiết theo sáng chế hoặc đoạn/trình tự tương tự của nó có thể được sản xuất và được sử dụng làm chất sinh miễn dịch, để gây miễn dịch cho động vật và để sinh ra các kháng thể đặc hiệu.

Việc sản xuất kháng thể đa dòng thường đã được biết rõ. Các quy trình cụ thể có thể được tìm thấy chẳng hạn trong tài liệu: Green et al, Production of Polyclonal Antisera, trong *Immunochemical Protocols* (Manson, editor), trang 1 - 5 (Humana Press 1992) và Coligan et al, Production of Polyclonal Antisera in Rabbits, Rats, Mice and Hamsters, trong *Current Protocols In Immunology*, phần 2.4.1 (1992). Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình đã biết rõ một số công nghệ liên quan đến việc tinh chế và cô đặc kháng thể đa dòng, cũng như kháng thể đơn dòng (Coligan et al, Unit 9, *Current Protocols in Immunology*, Wiley Interscience, 1994).

Việc sản xuất kháng thể đơn dòng cũng thường đã được biết rõ. Các ví dụ bao gồm phương pháp tế bào lai (Kohler and Milstein, 1975, *Nature*, 256:495-497, Coligan et al., section 2.5.1 - 2.6.7; and Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, page 726 (Cold Spring Harbor Pub. 1988).), kỹ thuật trioma, kỹ thuật lai tế bào B ở người (Kozbor et al., 1983, *Immunology Today* 4:72), và kỹ thuật lai EBV để tạo ra kháng thể đơn dòng ở người (Cole, et al., 1985, in *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96).

Tóm lại, kháng thể đơn dòng có thể thu được bằng cách tiêm một hỗn hợp chứa protein theo sáng chế vào chuột nhắt. Việc sản sinh kháng thể ở chuột nhắt được kiểm tra thông qua khảo sát huyết thanh. Trong trường hợp chuẩn độ kháng thể thích đáng, chuột nhắt được giết và lá lách được lấy ra để phân lập tế bào B. Tế bào B được dung hợp với tế bào u tủy để tạo ra tế bào lai. Các tế bào lai này được tạo dòng và các dòng được phân tích. Các dòng dương tính chứa kháng thể đơn dòng kháng protein này được chọn và các kháng thể được phân lập từ môi trường nuôi cấy tế bào lai. Có nhiều kỹ thuật đã biết rõ để phân lập và tinh chế kháng thể đơn dòng. Các kỹ thuật như vậy bao gồm sắc ký ái lực với protein A sepharosa, sắc ký loại trừ theo kích thước và sắc ký trao đổi ion. Cũng xem tài liệu: Coligan et al., phần 2.7.1 – 2.7.12 và phần “Immunoglobulin G (IgG)” trong *Methods In Molecular Biology*, tập 10, trang 79 – 104 (Humana Press 1992).

Tốt hơn là, sáng chế đề xuất kháng thể chuột đặc hiệu IdeSsuis hoặc rIdeSsuis được làm giống như của người.

Các kháng thể nêu trên có thể tạo thành một phần của chế phẩm dùng ngoài

đường tiêu hóa để điều trị nhằm mục đích trị liệu cho các đối tượng bị bệnh là người hoặc động vật (lợn) bị nhiễm *S. suis*. Tuy nhiên, nó cũng có thể được sử dụng nhằm mục đích dự phòng.

Cũng theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng protein như đã bộc lộ trên đây để sản xuất các kháng thể đã nêu ở trên.

Một đối tượng khác của sáng chế là việc sử dụng vaccin hoặc chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa theo sáng chế để thực hiện điều trị dự phòng hoặc dự phòng bùng phát hoặc điều trị trị liệu sự nhiễm *Streptococcus suis* ở lợn. Cũng được dự tính ở đây là việc sử dụng vaccin hoặc chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa theo sáng chế điều trị dự phòng hoặc dự phòng bùng phát hoặc điều trị trị liệu sự nhiễm *S. suis* ở người bệnh.

Việc sử dụng chế phẩm vaccin theo sáng chế, trong đó việc điều trị này gây ra đáp ứng miễn dịch ở lợn, trong đó đáp ứng miễn dịch này là sự hoạt hóa đáp ứng tế bào và thể dịch kháng lại protein IdeSsuis được sản sinh bởi *Streptococcus suis* được đặc biệt ưu tiên.

Việc điều trị (chủng ngừa) bao gồm ít nhất một hoặc hai lần gây miễn dịch. Tổng liều lượng được dùng trên lợn/người là khoảng 0,05 -2,0 mg protein.

Việc bào chế chế phẩm vaccin theo sáng chế là đã biết trong lĩnh vực, và được mô tả trong sổ tay hướng dẫn mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết rõ. Để sản xuất chế phẩm vaccin theo sáng chế, các chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dùng có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất sau: các tá dược muối khoáng (chẳng hạn, trên cơ sở nhôm, canxi, sắt, ziricon), tá dược tensoactive (chẳng hạn, Quil A, QS-21, các saponin khác), các tá dược có nguồn gốc vi khuẩn (chẳng hạn, N-axetyl muramyl-L-alanyl-D-isoglutamin (MDP), lipopolysaccharit (LPS), monophosphoryl lipit A, trehaloza dimycolat (TDM), DNA, CpGs, các độc tố vi khuẩn), các chất nhũ hóa dùng làm tá dược (chẳng hạn, FIA, Montanide, Adjuvant 65, Lipovant), tá dược liposom, tá dược polyme và chất mang, xytokin (chẳng hạn, yếu tố kích thích phát triển đại thực bào bạch cầu hạt), tá dược carbohydrat, hệ vận chuyển kháng nguyên sống (chẳng hạn, vi khuẩn, virus). Ngoài ra, các chất mang cũng có thể bao gồm các dạng bào chế khô như các miếng

đáp được làm từ titan hoặc polyme. Kỹ thuật để bào chế và sử dụng vaccin theo sáng chế cũng có thể được tìm thấy trong tài liệu "Remington, The Science and Practice of Pharmacy", xuất bản lần thứ 22.

Vì vậy, sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin bao gồm protein có tên gọi IdeSsuis hoặc rIdeSsuis hoặc đoạn của một trong hai protein này; hoặc polynucleotit biểu hiện protein IdeSsuis hoặc rIdeSsuis hoặc đoạn của một trong hai protein này mà được hợp nhất vào vector biểu hiện, trong đó protein tái tổ hợp là được ưu tiên.

Tác giả sáng chế đã phát hiện ra những vấn đề sau:

- (a) sự tạo ra các kháng thể opsonin hóa là yếu tố quyết định đối với hiệu lực phòng ngừa của vắc xin chứa vi khuẩn *S. suis* vô hoạt nhưng không chứa chất bổ trợ.
- (b) IdeSsuis thúc đẩy sự sống sót của *S. suis* trong máu của lợn đã được chủng ngừa.

Ngoài ra, các tá giả sáng chế đã chỉ ra rằng việc chủng ngừa lợn bằng cách sử dụng protein rIdeSsuis một mình ở dạng kháng nguyên duy nhất tạo ra sự bảo vệ cho lợn bị nhiễm *S. suis*. Việc chủng ngừa bằng rIdeSsuis theo sáng chế ngăn ngừa sự phân cắt IgMs bởi enzym IdeSsuis IgM proteaza của *S. suis* bằng cách gây ra các kháng thể trung hòa.

Theo sáng chế, việc chủng ngừa lợn bằng protein tái tổ hợp rIdeSsuis hoặc đoạn của nó dẫn đến độ chuẩn của kháng thể IgG đặc hiệu IdeSsuis là cao với hoạt tính trung hòa trái với lợn tái bình phục hoặc lợn được gây miễn dịch bằng vaccin chứa *S. suis* bất hoạt nhưng không chứa chất bổ trợ. Ngoài ra, theo ví dụ 1, đã chỉ ra rằng rIdeSsuis tạo ra khả năng miễn dịch chống lại sự nhiễm *S. suis* cao hơn các vaccin đã biết chứa vi khuẩn bất hoạt nhưng không chứa chất bổ trợ.

Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã chỉ ra rằng, việc chủng ngừa lợn bằng protein tái tổ hợp rIdeSsuis hoặc các trình tự tương tự hoặc đoạn của nó làm giảm khả năng sống sót của *S. suis* trong máu.

Một khía cạnh quan trọng của sáng chế – như đã nêu ở trên – tập trung vào phát hiện đáng ngạc nhiên rằng protein, axit nucleic và các trình tự tương tự và các đoạn như được xác định trên đây có thể được sử dụng làm tác nhân sinh miễn dịch duy nhất để tạo ra tác dụng bảo vệ chống lại sự nhiễm *S. suis*. Không cần đến các thành phần

hoạt tính khác như các vaccin bất hoạt được sử dụng trước đây chẳng hạn. Điều này được chứng minh bởi các bằng chứng thí nghiệm được nêu trong ví dụ 2. Đã chỉ ra rằng các vaccin theo sáng chế có hiệu lực được tăng cường rõ rệt so với các giả dược/vaccin đối chứng, xem dữ liệu thử nghiệm diệt khuẩn của các thử nghiệm 1 và 2 của ví dụ 2 (Fig. 3 và 4). Kết luận có thể rút ra được từ các kết quả thử nghiệm là như sau:

- rIdeSsuis (SEQ ID NO: 2) tạo ra tác dụng bảo vệ miễn dịch ở tất cả các typ huyết thanh khác nhau của *S. suis*,
- Protein ít nhất chứa miền Mac-1 có tính bảo toàn cao (SEQ ID NO: 5) là đủ để tạo ra tác dụng bảo vệ miễn dịch,
- Các protein IdeSsuis thuộc các typ huyết thanh khác, ít nhất chứa miền Mac-1 có tính bảo toàn cao (SEQ ID NO: 5) cũng gây ra tác dụng bảo vệ, ngay cả khi trình tự chung của chúng nằm ngoài miền này khác với trình tự chung của các chủng thuộc typ huyết thanh 2 (ngay cả khi một số đoạn trình tự hoàn toàn vắng mặt).

Theo sáng chế, protein IdeSsuis hoặc rIdeSsuis hoặc các trình tự tương tự/các đoạn của nó cũng có thể được sử dụng trong các protein dung hợp. Các protein dung hợp được tạo ra bằng cách kết hợp hai hoặc nhiều gen mà ban đầu được mã hóa cho các protein riêng biệt. Việc dịch mã của gen dung hợp này tạo ra một hoặc nhiều polypeptit với các chức năng, mỗi chức năng được bắt nguồn từ các protein ban đầu. Trong tình trạng kỹ thuật này, protein dung hợp thường được sử dụng để đơn giản hóa các ứng dụng cụ thể, như phát hiện, hợp nhất hoặc vận chuyển của protein quan tâm. Một thành phần dễ phát hiện bởi kính hiển vi huỳnh quang là protein phát huỳnh quang màu xanh lá cây (green fluorescent protein - GFP) được dung hợp với protein quan tâm.

Các protein khác có thể được dung hợp với IdeSsuis để cải tiến khả năng phân phối và tính sinh miễn dịch của kháng nguyên là đoạn FC globulin miễn dịch, cấu trúc dưới phân tử không độc của độc tố gây bệnh tả CTA, các độc tố không bền nhiệt đã được gây đột biến, protein vỏ bào tử *Bacillus subtilis* hoặc flagelin vi khuẩn. Ngoài ra, protein dung hợp với protein của virus hoặc thể thực khuẩn (chẳng hạn virus Ankara gây bệnh đậu mùa ở súc vật đã được cải biến (modified vaccinia virus Ankara -

MVA), virus viêm gan B, thể thực khuẩn Lambda hoặc thể thực khuẩn dạng sợi như fd, M13 hoặc f1) có thể được sử dụng để biểu hiện IdeSsuis trên bề mặt của hạt virus hoặc hạt tương tự virus.

Một khả năng nữa để phát hiện protein dung hợp là sử dụng cái gọi là nhãn protein mà thường được sử dụng trong quá trình sản xuất protein dung hợp tương ứng để tinh chế và phát hiện chúng bằng cách thực hiện sắc ký ái lực, thấm Western, hóa miễn dịch mô hoặc kính hiển vi huỳnh quang. Các nhãn protein thường là các trình tự axit amin ngắn, chẳng hạn Tag HIS, Tag myc, Tag HA, Tag Step, Tag GST, Tag protein gắn kết maltoza hoặc Tag Thioredoxin.

Phương pháp sản xuất protein tái tổ hợp như rIdeSsuis, các đoạn hoặc trình tự tương tự của nó, theo sáng chế là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và cũng được mô tả trong các sổ tay hướng dẫn mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ. Thông thường, tế bào chủ được sử dụng để được chuyển nhiễm với vector mã hóa protein quan tâm để tạo ra protein tái tổ hợp. Thông thường, các tế bào chủ đó có thể là vi khuẩn (chẳng hạn các chủng *E.coli*, *Bacillus* hoặc *Lactococcus*), người (chẳng hạn 293-T, HEK-293), dòng tế bào chuột nhắt, dòng tế bào côn trùng, tế bào nấm men hoặc các hệ thống trên cơ sở thực vật.

Để chuyển nhiễm tế bào chủ, vector biểu hiện như plasmit (chẳng hạn pET, pQE), virus và thể thực khuẩn (chẳng hạn baculovirus, thể thực khuẩn Lambda hoặc thể thực khuẩn dạng sợi) có thể được sử dụng.

Vaccine hoặc chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa điển hình được bào chế ở dạng chế phẩm tiêm được, dưới dạng dung dịch hoặc hỗn dịch lỏng.

Đối tượng theo sáng chế cũng là vaccine hoặc chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa để dùng dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, dùng cho da hoặc dùng cho niêm mạc.

Các vaccine theo sáng chế được sử dụng để thực hiện điều trị phòng ngừa hoặc dự phòng bùng phát hoặc trị liệu sự nhiễm *Streptococcus suis* ở lợn hoặc người. Việc điều trị bao gồm ít nhất một, tốt hơn là hai lần gây miễn dịch. Mặc dù một lần gây miễn dịch duy nhất là được ưu tiên trên thực tiễn, việc gây miễn dịch tiêu chuẩn thường bao gồm phác đồ tăng cường mỗi, nghĩa là 2 lần chủng ngừa khác biệt. Việc chủng ngừa tăng cường thường được thực hiện trong khung thời gian từ 1 đến 3, tốt

hơn là khoảng 2 tuần sau khi chủng mới. Liều lượng của mỗi lần chủng ngừa có thể là giống nhau hoặc khác nhau, mặc dù tốt hơn là liều lượng vaccin ở các lần chủng ngừa là giống nhau.

Liều lượng tổng cần phải sử dụng cho đối tượng bị bệnh là động vật hoặc người là khoảng 0,05 - 2,0 mg IdeSsuis hoặc protein rIdeSsuis, chất tương tự hoặc đoạn trình tự như được xác định trên đây. Liều được ưu tiên bao gồm 0,1-1,0, tốt hơn là khoảng 0,5 mg. Liều này được dùng trong một liều nếu một lần chủng ngừa là đủ. Nếu áp dụng nhiều hơn một lần chủng ngừa, liều lượng tổng được chia thành một số liều nhỏ bằng nhau, chẳng hạn, nếu hai lần chủng ngừa được sử dụng, các liều riêng rẽ của mỗi lần chủng ngừa là khoảng 0,025-1,0 mg protein.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây sẽ giải thích sáng chế. Các ví dụ này sẽ chỉ được hiểu như là phương án ưu tiên của sáng chế. Không dự định giới hạn sáng chế ở phạm vi của các ví dụ được đưa ra.

Ví dụ 1

Ví dụ sau đây đưa ra dữ liệu thí nghiệm sau khi thực hiện thí nghiệm chủng ngừa với liều thử thách ở lợn nhiễm *S. suis*.

Thiết lập thí nghiệm thử thách chủng ngừa ở lợn đối với các typ huyết thanh *S. suis* khác nhau (Typ huyết thanh 2 và 9) và các đường gây nhiễm khác nhau (trong tĩnh mạch và trong mũi).

Tóm lại, như được chỉ ra trên Fig. 1, lợn ở 5 tuần tuổi được chủng mỗi bằng vaccin rIdeSsuis. Ở 7 tuần tuổi, lợn được chủng tăng cường bằng rIdeSsuis và ở một nhóm còn được chủng mỗi bằng vaccin vô hoạt không chứa chất bổ trợ bằng cách tiêm trong cơ (được nêu trong bảng trên Fig. 1). Một nhóm gồm lợn chỉ được chủng mỗi bằng vaccin vô hoạt không chứa chất bổ trợ ở 7 tuần tuổi và nhóm cuối cùng gồm các động vật được chủng ngừa hai lần bằng giả được chứa dung dịch đệm và tá dược. Lợn được thử thách hai tuần sau khi gây miễn dịch lần thứ hai qua mũi. Các động vật cũng được giám sát tám giờ một lần. Vì lý do bảo vệ sức khỏe cho động vật, các động vật được giết trong trường hợp khi lợn bị sốt cao kết hợp với vô cảm và chán ăn cũng như trong trường hợp có các dấu hiệu lâm sàng của chứng viêm da khớp cấp tính hoặc

viêm màng não trầm trọng.

Tất cả các lợn sống sót được giết ở 14 ngày sau khi gây nhiễm.

Thí nghiệm đã bột lộ rằng việc gây miễn dịch lợn bằng cách sử dụng protein tái tổ hợp rIdeSsuis một mình là đủ để bảo vệ lợn khỏi sự lây nhiễm *S. suis* typ huyết thanh 2 (Fig. 2).

Ví dụ 2

Trong thí nghiệm này, thử nghiệm diệt khuẩn đã được sử dụng để đánh giá hiệu lực của vacxin đã nêu. Thử nghiệm này bao gồm bước xác định khả năng sống sót của vi khuẩn *S. suis* thuộc một typ huyết thanh nhất định sau khi đưa chúng vào máu của động vật thử nghiệm. Nếu các kháng thể bảo vệ chống lại một typ huyết thanh nhất định mà có mặt trong máu của động vật thử nghiệm này, vi khuẩn này sẽ bị giết một cách hữu hiệu trong khoảng thời gian ủ là 2 giờ. Mức độ bảo vệ được định rõ là "hệ số sống sót" (survival factor - SF) và là tỷ lệ giữa số khuẩn lạc sau 120 phút và số khuẩn lạc ngay sau khi đưa vi khuẩn vào máu của động vật thử nghiệm. Hệ số sống sót thấp có nghĩa là việc tiêu diệt vi khuẩn trong máu đạt hiệu quả cao và vì vậy, việc bảo vệ động vật thử nghiệm là có hiệu quả.

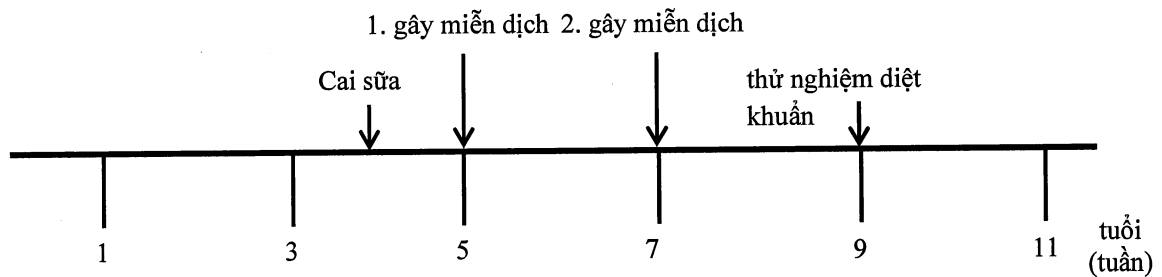
Sự biểu hiện và tinh chế IdeSsuis tái tổ hợp (SEQ ID NO: 2), IdeSsuisB2 tái tổ hợp (SEQ ID NO: 7) và trình tự tương đồng IdeSsuis tái tổ hợp (SEQ ID NO: 6) được thực hiện bằng cách nuôi cấy các chủng thích hợp trong canh trường LB có bổ sung ampicillin. Sự biểu hiện protein được tạo ra bằng cách bổ sung IPTG. Việc tinh chế protein tái tổ hợp bằng sắc ký ái lực Ni^{2+} -axit nitrilotriacetic trong các điều kiện tự nhiên được thực hiện như được đề xuất bởi nhà sản xuất (Macherey-Nagel).

Gây miễn dịch lợn: Lợn được chủng mỗi và chủng tăng cường với 1,5 ml vacxin chứa 0,25 mg rIdeSsuis hoặc 0,25 mg rIdeSsuisB2 hoặc 0,5 mg trình tự tương đồng rIdeSsuis chứa 20 % [vol/vol] Emulsigen làm tá được.

Thử nghiệm 1:

Hai hoặc bốn con đẻ cùng một lứa được phân ngẫu nhiên thành hai nhóm thử nghiệm ($n=9$ /nhóm), nhóm 1 là nhóm đối chứng (giả dược), nhóm 2 được gây miễn dịch với rIdeSsuis (SEQ ID NO: 2). Các động vật được gây miễn dịch và thử nghiệm

theo sơ đồ thử nghiệm sau đây:



nhóm	số lợn	1. gây miễn dịch	2. gây miễn dịch	thử nghiệm diệt khuẩn	
1	9	Giả được (PBS cộng với tá được)	Giả được (PBS cộng với tá được)	Typ huyết thanh 2 (St. 10)	Typ huyết thanh 9 (A3286/94)
2	9	rIdeSsuis (0,25mg/lợn)	rIdeSsuis (0,25mg/lợn)	Typ huyết thanh 2 (St. 10)	Typ huyết thanh 9 (A3286/94)

Fig. 3 là kết quả thu được.

Nhóm đối chứng (giả được) thể hiện hệ số sống sót cao hơn nhiều so với nhóm được chủng ngừa. rIdeSsuis kháng nguyên tái tổ hợp (nhóm được chủng ngừa), chứa trình tự đầy đủ của protein IdeSsuis của các chủng thuộc typ huyết thanh 2 (SEQ ID NO: 2) tạo ra các kháng thể có hiệu lực trong việc tiêu diệt hữu hiệu vi khuẩn *S. suis* thuộc chủng 2 cũng như thuộc chủng 9.

Thử nghiệm 2:

Bốn con đê cùng một lứa được phân ngẫu nhiên thành bốn nhóm thử nghiệm (n=6/nhóm, ngoại trừ nhóm 4 có n=5), nhóm 1 là nhóm đối chứng (không được gây miễn dịch), nhóm 2 được gây miễn dịch với trình tự tương đồng rIdeSsuis (SEQ ID NO: 6), nhóm 3 được gây miễn dịch với IdeSsuis bắt nguồn từ chúng có typ huyết thanh 7 (rIdeSsuisB2; SEQ ID NO: 7), nhóm 4 được gây miễn dịch với SEQ ID NO: 2. Các động vật được gây miễn dịch và thử nghiệm theo sơ đồ thử nghiệm sau đây:

		1. gây miễn dịch		2. gây miễn dịch		thử nghiệm diệt khuẩn	
		Cai sữa					
nhóm	số lợn	1. gây miễn dịch	2. gây miễn dịch	thử nghiệm diệt khuẩn	diệt tuổi		
1	3	5	7	9	11 (tuần)		
1	6	không gây miễn dịch	không gây miễn dịch	<i>S. suis</i> typ huyết thanh 9 chủng A3286/94			
2	6	trình tự tương đồng rIdeSsuis (0,5mg/lợn)	trình tự tương đồng rIdeSsuis (0,5mg/lợn)	<i>S. suis</i> typ huyết thanh 9 chủng A3286/94			
3	6	rIdeSsuisB2 (0,25mg/lợn)	rIdeSsuisB2 (0,25mg/lợn)	<i>S. suis</i> typ huyết thanh 9 chủng A3286/94			
4	5	rIdeSsuis (0,25mg/lợn)	rIdeSsuis (0,25mg/lợn)	<i>S. suis</i> typ huyết thanh 9 chủng A3286/94			

Fig. 4 là kết quả thu được.

Kết quả cho thấy hệ số sống sót ở nhóm đối chứng (nhóm 1) cao hơn đáng kể so với ở 3 nhóm chủng ngừa. Trình tự tương đồng kháng nguyên rIdeSsuis tái tổ hợp (nhóm 2), chỉ chứa đoạn đầu tận cùng N bao gồm miền Mac-1 có tính bảo toàn cao (miền IgM-Protease), tạo ra các kháng thể mà dẫn đến sự tiêu diệt vi khuẩn tốt hơn nhiều so với nhóm đối chứng. Kết quả của nhóm 2 có thể được so sánh với kết quả thu được đối với nhóm 4. Cũng vậy, kháng nguyên rIdeSsuis, chứa trình tự axit amin đầy đủ của protein IdeSsuis trưởng thành của chủng *S. suis* typ huyết thanh 2 tạo ra kháng thể làm giảm đáng kể khả năng sống sót của chủng *S. suis* typ huyết thanh 9 trong máu. Khả năng sống sót của chủng typ huyết thanh 9 thậm chí còn bị giảm bởi các kháng thể mà được sinh ra bởi kháng nguyên rIdeSsuisB2 (nhóm 3).

rIdeSsuisB2 (SEQ ID NO: 7) chứa trình tự axit amin đầy đủ của protein IdeSsuis trưởng thành của chủng *S. suis* typ huyết thanh 7 khác ở nửa đầu tận cùng C của protein này do nó không có mặt trình tự aa thứ 114 so với SEQ ID NO: 1. Các Aa từ 80 đến 414 của SEQ ID NO: 7 (phần có tính bảo toàn cao của miền được gọi là Mac-1) tương đương với 97,9% trình tự của SEQ ID NO: 5. Mức đồng nhất giữa phần đầu tận cùng C còn lại của SEQ ID NO: 7 và 1 là 96,4 %.

Kết luận có thể rút ra được từ các kết quả thử nghiệm là như sau:

- rIdeSsuis (SEQ ID NO: 2) tạo ra tác dụng bảo vệ miễn dịch ở tất cả các typ huyết thanh khác nhau của *S. suis*,
- Axit amin ít nhất chứa miền Mac-1 có tính bảo toàn cao là đủ để tạo ra tác dụng miễn dịch,
- Protein IdeSsuis của các typ huyết thanh khác, ít nhất chứa miền Mac-1 có tính bảo toàn cao cũng tạo ra tác dụng bảo vệ, ngay cả khi trình tự tổng thể của chúng ở bên ngoài miền này khác với trình tự tổng thể của các chủng typ huyết thanh 2 (cho dù là một số đoạn trình tự hoàn toàn vắng mặt).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm vaccin dùng để điều trị dự phòng, dự phòng bùng phát dịch hoặc điều trị trị liệu sự nhiễm *Streptococcus suis* ở lợn và người bao gồm lượng hữu hiệu của ít nhất một protein hoặc ít nhất một vectơ được chọn từ nhóm gồm:
 - (a) protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 1 hoặc đoạn sinh miễn dịch của nó, đoạn sinh miễn dịch này bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với nó và có hoạt tính sinh miễn dịch,
 - (b) protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 2, 6 hoặc 7, hoặc đoạn sinh miễn dịch của nó, đoạn sinh miễn dịch này bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với nó và có hoạt tính sinh miễn dịch,
 - (c) vectơ với polynucleotit được cài xen trong đó mã hóa protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 1, đoạn sinh miễn dịch của nó, như được xác định theo (a),
 - (d) vectơ với polynucleotit được cài xen trong đó mã hóa protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 2, 6 hoặc 7, đoạn sinh miễn dịch của nó, như được xác định theo (b), và ít nhất một chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng.
2. Chế phẩm vaccin theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ, protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 1 bao gồm đoạn có hoạt tính IgM proteaza.
3. Chế phẩm vaccin theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ, protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 2, 6 hoặc 7 bao gồm trình tự axit amin không có các axit amin từ vị trí 1 đến 34 của trình tự axit amin SEQ ID NO: 1 hoặc đoạn có hoạt tính IgM proteaza.
4. Chế phẩm vaccin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó protein hoặc vectơ là thành phần hoạt tính hoặc thành phần sinh miễn dịch duy nhất.
5. Chế phẩm vaccin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, đặc trưng ở chỗ, đoạn của protein đã nêu ở (a) hoặc (b) với lượng hữu hiệu là một phần của protein dung hợp với ít nhất một protein khác.
6. Chế phẩm vaccin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó chế phẩm này chứa tổng lượng gồm khoảng 0,05-2 mg protein.

7. Chế phẩm vaccin theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ, polynucleotit đã nêu chứa trình tự SEQ ID NO: 3 hoặc trình tự bổ trợ của nó;

một đoạn của trình tự của nó, mã hóa cho trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với nó và có hoạt tính sinh miễn dịch, tốt hơn là, đoạn có hoạt tính IgM proteaza.

8. Chế phẩm vaccin theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ, polynucleotit đã nêu chứa trình tự SEQ ID NO: 4, 8 hoặc 9 hoặc trình tự bổ trợ của nó;

đoạn của nó hoặc

đoạn của nó mà mã hóa trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với nó và có hoạt tính sinh miễn dịch, tốt hơn là, đoạn có hoạt tính IgM proteaza.

9. Chế phẩm vaccin theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 7 đến 8, đặc trưng ở chỗ, polynucleotit đã nêu là ADN hoặc ARN, trong đó polynucleotit đã nêu tốt hơn là được hợp nhất vào vector, trong đó polynucleotit này được liên kết có điều khiển với vùng điều hòa biểu hiện của vector, và trong đó vector này là vector biểu hiện mà là vector plasmid hoặc virus.

10. Chế phẩm vaccin theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, đặc trưng ở chỗ, chế phẩm này được tạo ra ở dạng có thể sử dụng sinh lý và thích hợp để tiêm trong cơ, trong tĩnh mạch, dưới da hoặc qua da hoặc dùng qua đường niêm mạc.

11. Chất tương tự của protein có trình tự SEQ ID NO: 1 hữu hiệu trong điều trị dự phòng, dự phòng bùng phát dịch hoặc điều trị trị liệu sự nhiễm *Streptococcus suis*, trong đó chất tương tự này bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5, hoặc bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với nó và có hoạt tính sinh miễn dịch.

12. Protein có hoạt tính sinh miễn dịch hữu hiệu trong điều trị dự phòng, dự phòng bùng phát dịch hoặc điều trị trị liệu sự nhiễm *Streptococcus suis*, trong đó protein này bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin SEQ ID NO: 6 hoặc 7, hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 60%, tốt hơn là 70% và tốt nhất là 85% với trình tự axit amin của protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 6 hoặc 7, hoặc đoạn sinh miễn dịch của

nó, đoạn sinh miễn dịch này bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 95% với nó và có hoạt tính sinh miễn dịch.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> IDT Biologika GmbH

<120> Chế phẩm vacxin chống lại sự nhiễm Streptococcus suis

<130> P37819-WO

<150> EP14170637.4

<151> 2014-05-30

<160> 14

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1141

<212> PRT

<213> Streptococcus suis

<400> 1

Met Asn Ile Gln Glu Arg Phe Ser Leu Arg Lys Ser Ala Val Gly Leu
 1 5 10 15

Val Ser Val Ser Leu Leu Cys Ala Ile Tyr Thr Ser Thr Val Ala Ala
 20 25 30

Asp Thr Val Val Thr Gly Val Asn Glu Ile Ile Glu Glu Ser Gln Val
 35 40 45

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

Ser Asn Ile Glu Ile Val Glu Glu Ile Ala Asp Asn Ile Pro Ser Pro
 65 70 75 80

Val Ile Ala Glu Gly Glu Val Ala Val Glu Met Lys Val Asp Arg Gly
 85 90 95

Thr Glu Asn Val Val Ser Arg Asn Asp Thr Glu Val Thr Thr Ser Glu
 100 105 110

Gln Asn Gln Ile Glu Val Thr Glu Thr Lys Glu Ile Leu Asn Gln Thr
 115 120 125

Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg Gln Ile Ile Trp Ala His
 130 135 140

Gly Ile Thr Pro Pro Ala Met Glu Gln Ser Gly Gly Phe Val Lys Glu
 145 150 155 160

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

Gly Tyr Tyr Asp Thr Asn Lys Ser Leu Asn Ala Ser Phe Ile Asp Leu
 180 185 190

Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn Met Val His Trp Trp Leu
 195 200 205

Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Gly
 210 215 220

Thr Val Asn Val Glu Glu Asn Tyr Ala Ile Thr Asp Leu Arg Arg Tyr
 225 230 235 240

Ile Asn Ser Phe Gln Asn Gln Gln Asn Ser Arg Val Phe Asp Met Phe
 245 250 255

Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly Phe Val Ser Asp Ala Leu
 260 265 270

Val Asp Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Lys Pro Lys Ala Gln Gly Gly Val
 275 280 285

Asn Leu Glu Asp Ser Gln Leu Val Pro Asp Ser Arg Gly Gly Phe Phe
 290 295 300

Tyr Asp Val Phe Lys Glu Lys Lys Leu Thr Asn Arg Ile Phe Ser Gly
 305 310 315 320

Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg Thr Val Leu Glu Ser Lys
 325 330 335

Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu Gly Tyr Ala Thr His Ile
 340 345 350

Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn Gln Gly Lys Ile Lys Ala
 355 360 365

Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln Glu Gln Ile Gly Leu Lys
 370 375 380

Arg Met Gly Ile Thr Arg Asp Ala Ser Gly Asn Pro Arg Leu Asn Asn
 385 390 395 400

His Met Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu Leu Asp Tyr Val His Thr
 405 410 415

Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu Glu Tyr Phe Asn Pro Leu Ala
 420 425 430

Lys Ala Lys Glu Thr Ala Ser Gln Thr Leu Ala Asp Thr Lys Lys Ala
 435 440 445

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

Leu Ile Tyr Leu Glu Lys Leu Asn Asn Leu Tyr Asn Gln Gly Ile Leu
 465 470 475 480

Ser Ile Gln Lys Ala Glu Ser Ser Glu Met Leu Ser Gly Ala Leu Glu
 485 490 495

Asn Gly Leu Asn Ser Leu Lys Ser Leu Asp Phe Pro Ile Ser Glu Val
 500 505 510

Gly Asn Ala Leu Ala Pro Asp Leu Pro Val Gly Asp Arg Ser Thr Val
 515 520 525

Ser Asp Val Asp Ser Leu Ser Ser Gln Glu Thr Ser Ser Thr Asn Leu
 530 535 540

Glu Ala Asp Thr Glu Asn Ala Gly Ile Ile Ala Asp Gly Thr Asn Gln
 545 550 555 560

Leu His Phe Pro Val Glu Ala Gln Thr Thr Ser Ser Val Glu Ala Glu
 565 570 575

Gly Asp Asn Val Phe Glu Gln Glu Ala Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ile
 580 585 590

Glu Asn Lys Asp Glu Phe Gly Ser Glu Leu Ser Arg Asn Met Gln Thr
 595 600 605

Ser Glu Thr Asp Ser Leu Val Val Ala Val Glu Glu Asp Val Lys Asn
 610 615 620

Asp Glu Val Ala Gln Val Glu Glu Leu Leu Glu Ser Glu Lys Val Glu
 625 630 635 640

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

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

Asp Ser Ile Pro His Gln Asn Val Glu Ile Ser Leu Val Glu Pro Thr
 675 680 685

Asn Val Glu Thr Glu Thr Val Val Thr Pro Ile Asn Asp Ala Ala Thr
 690 695 700

Pro His Gly Ser Pro Thr Tyr Ile Asp Asn Ser Val Thr Glu Ser Val
 705 710 715 720

Ala Thr Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Ala Gly Glu Thr Glu Ile
 725 730 735

Ala Glu Pro Thr Ser Ser Glu Ser Thr Asn Val Glu Thr Glu Thr Val
 740 745 750

Val Thr Pro Val Asn Asp Val Ala Thr Pro His Gly Ser Pro Thr Tyr
 755 760 765

Ile Asp Asn Ser Val Thr Glu Ser Val Ala Thr Pro Leu Glu Lys Asp
 770 775 780

Ser Ile Gln Ala Gly Glu Thr Glu Ile Ala Glu Pro Thr Ser Ser Glu
 785 790 795 800

Ser Thr Asn Val Glu Thr Glu Thr Val Val Thr Pro Val Asn Asp Val
 805 810 815

Ala Thr Pro His Gly Ser Pro Thr Tyr Ile Asp Asn Ser Val Thr Glu
 820 825 830

Ser Val Ala Thr Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Ala Gly Glu Thr
 835 840 845

Glu Ile Ala Glu Pro Thr Ser Ser Glu Ser Thr Ser Val Glu Ala Glu
 850 855 860

Leu Val Asp Asn Ser Glu Ile His Ala Ala Thr Ser Ser Val Thr Pro
 865 870 875 880

Cys Gly Ser Ser Ala Tyr Ala Asp Gly Ser Thr Thr Glu Ser Val Ala
 885 890 895

Thr Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Thr Gly Asn Thr Glu Ile Ala
 900 905 910

Glu Pro Thr Ser Ser Lys Ser Thr Asn Val Glu Ala Ala Ser Val Asp
 915 920 925

Asn Ser Glu Ile His Ala Asp Ala Ser Leu Thr Ala Val Ser Ser Val
 930 935 940

Asn Leu Asp Asn Pro Val Ile Glu Pro Val Ala Ile Ser Leu Ile Gly
 945 950 955 960

Ser Lys Arg Asp Thr Asn Ala Glu Val Glu Val Ser Ser Leu Ser Lys
 965 970 975

Arg Glu Val Arg Lys Thr Asn Thr Asp Gly Leu Ile Ser Val Gln Ser
 980 985 990

Lys Val Ile Lys Lys Glu Leu Leu Glu Ser Ser Leu Ala Glu Ala Gly
 995 1000 1005

Ser Pro Leu Leu Glu Ala Thr Ile Ala Gln Ser Ser Asn Ser Asn
 1010 1015 1020

Ser Thr Glu Ile Gly Met Ser Tyr Gln Asn Thr Val Leu Leu Glu
 1025 1030 1035

Ser Asn Asn Thr Glu Arg Gln Val Ser Lys Ala Glu Ile Val Met
 1040 1045 1050

Glu His Lys Glu Thr Glu Leu Val Glu Thr Val Ser Ser Ala Ser
 1055 1060 1065

Glu Pro Val Val Leu Val Glu Asn Ile Ser Gln Thr Ser Asn Asn
 1070 1075 1080

Thr Ile Glu Ser Gly Lys Asn Met Gly Val Gln Ser Gln Ala Gly
 1085 1090 1095

Ala Lys Gln Ile Leu Gly Val Glu Gln Ser Ser Lys Val Ser Thr
 1100 1105 1110

Pro Thr Ser Arg Gln Ile Met Gly Val Gly Leu Leu Thr Leu Val
 1115 1120 1125

Leu Gly Ser Ala Leu Gly Leu Leu Lys Lys Arg Arg Lys
 1130 1135 1140

<210> 2
 <211> 1130

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> rIdeSsuis

<400> 2

Met Ala His His His His His His Val Gly Thr Gly Ser Asn Asp Asp
 1 5 10 15

Asp Asp Lys Ser Pro Asp Pro Val Val Thr Gly Val Asn Glu Ile Ile
 20 25 30

Glu Glu Ser Gln Val Lys Asp Glu Val Ser Ile Glu Ser Glu Lys Asn
 35 40 45

Glu Ser Leu Asp Gly Ser Asn Ile Glu Ile Val Glu Glu Ile Ala Asp
 50 55 60

Asn Ile Pro Ser Pro Val Ile Ala Glu Gly Glu Val Ala Val Glu Met
 65 70 75 80

Lys Val Asp Arg Gly Thr Glu Asn Val Val Ser Arg Asn Asp Thr Glu
 85 90 95

Val Thr Thr Ser Glu Gln Asn Gln Ile Glu Val Thr Glu Thr Lys Glu
 100 105 110

Ile Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg Gln
 115 120 125

Ile Ile Trp Ala His Gly Ile Thr Pro Pro Ala Met Glu Gln Ser Gly
 130 135 140

Gly Phe Val Lys Glu Lys Tyr Gly Asp Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala Pro
 145 150 155 160

Phe Glu Ala Gly Lys Gly Tyr Tyr Asp Thr Asn Lys Ser Leu Asn Ala
 165 170 175

Ser Phe Ile Asp Leu Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn Met
 180 185 190

Val His Trp Trp Leu Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr Leu
 195 200 205

Lys Glu Lys Lys Gly Thr Val Asn Val Glu Glu Asn Tyr Ala Ile Thr
 210 215 220

Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Ser Phe Gln Asn Gln Gln Asn Ser Arg
 225 230 235 240

Val Phe Asp Met Phe Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly Phe
 245 250 255

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

Ala Gln Gly Gly Val Asn Leu Glu Asp Ser Gln Leu Val Pro Asp Ser
 275 280 285

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

Arg Ile Phe Ser Gly Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg Thr
 305 310 315 320

Val Leu Glu Ser Lys Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu Gly
 325 330 335

Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn Gln
 340 345 350

Gly Lys Ile Lys Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln Glu
 355 360 365

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

Pro Arg Leu Asn Asn His Met Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu Leu
 385 390 395 400

Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu Glu Tyr
 405 410 415

Phe Asn Pro Leu Ala Lys Ala Lys Glu Thr Ala Ser Gln Thr Leu Ala
 420 425 430

Asp Thr Lys Lys Ala Leu Asp Leu Ser Ile Gln Gly Gln Ser Glu Leu
 435 440 445

Pro Glu Ser Met Arg Leu Ile Tyr Leu Glu Lys Leu Asn Asn Leu Tyr
 450 455 460

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

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

Pro Ile Ser Glu Val Gly Asn Ala Leu Ala Pro Asp Leu Pro Val Gly
 500 505 510

Asp Arg Ser Thr Val Ser Asp Val Asp Ser Leu Ser Ser Gln Glu Thr
 515 520 525

Ser Ser Thr Asn Leu Glu Ala Asp Thr Glu Asn Ala Gly Ile Ile Ala
 530 535 540

Asp Gly Thr Asn Gln Leu His Phe Pro Val Glu Ala Gln Thr Thr Ser
 545 550 555 560

Ser Val Glu Ala Glu Gly Asp Asn Val Phe Glu Gln Glu Ala Asp Thr
 565 570 575

Leu Pro Ile Ile Ile Glu Asn Lys Asp Glu Phe Gly Ser Glu Leu Ser
 580 585 590

Arg Asn Met Gln Thr Ser Glu Thr Asp Ser Leu Val Val Ala Val Glu
 595 600 605

Glu Asp Val Lys Asn Asp Glu Val Ala Gln Val Glu Glu Leu Leu Glu
 610 615 620

Ser Glu Lys Val Glu Asn Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Asp Thr Leu
 625 630 635 640

Ile Val Glu Ser Ala Asn Asp Lys Glu Glu Asp Arg Val Glu Ala Val
 645 650 655

Val Ser Glu Gln Pro Asp Ser Ile Pro His Gln Asn Val Glu Ile Ser
 660 665 670

Leu Val Glu Pro Thr Asn Val Glu Thr Glu Thr Val Val Thr Pro Ile
 675 680 685

Asn Asp Ala Ala Thr Pro His Gly Ser Pro Thr Tyr Ile Asp Asn Ser
 690 695 700

Val Thr Glu Ser Val Ala Thr Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Ala
 705 710 715 720

Gly Glu Thr Glu Ile Ala Glu Pro Thr Ser Ser Glu Ser Thr Asn Val
 725 730 735

Glu Thr Glu Thr Val Val Thr Pro Val Asn Asp Val Ala Thr Pro His
 740 745 750

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

Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Ala Gly Glu Thr Glu Ile Ala Glu
 770 775 780

Pro Thr Ser Ser Glu Ser Thr Asn Val Glu Thr Glu Thr Val Val Thr
 785 790 795 800

Pro Val Asn Asp Val Ala Thr Pro His Gly Ser Pro Thr Tyr Ile Asp
 805 810 815

Asn Ser Val Thr Glu Ser Val Ala Thr Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile
 820 825 830

Gln Ala Gly Glu Thr Glu Ile Ala Glu Pro Thr Ser Ser Glu Ser Thr
 835 840 845

Ser Val Glu Ala Glu Leu Val Asp Asn Ser Glu Ile His Ala Ala Thr
 850 855 860

Ser Ser Val Thr Pro Cys Gly Ser Ser Ala Tyr Ala Asp Gly Ser Thr
 865 870 875 880

Thr Glu Ser Val Ala Thr Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Thr Gly
 885 890 895

Asn Thr Glu Ile Ala Glu Pro Thr Ser Ser Lys Ser Thr Asn Val Glu
 900 905 910

Ala Ala Ser Val Asp Asn Ser Glu Ile His Ala Asp Ala Ser Leu Thr
 915 920 925

Ala Val Ser Ser Val Asn Leu Asp Asn Pro Val Ile Glu Pro Val Ala
 930 935 940

Ile Ser Leu Ile Gly Ser Lys Arg Asp Thr Asn Ala Glu Val Glu Val
 945 950 955 960

Ser Ser Leu Ser Lys Arg Glu Val Arg Lys Thr Asn Thr Asp Gly Leu
 965 970 975

Ile Ser Val Gln Ser Lys Val Ile Lys Lys Glu Leu Leu Glu Ser Ser
 980 985 990

Leu Ala Glu Ala Gly Ser Pro Leu Leu Glu Ala Thr Ile Ala Gln Ser
 995 1000 1005

Ser Asn Ser Asn Ser Thr Glu Ile Gly Met Ser Tyr Gln Asn Thr
 1010 1015 1020

Val Leu Leu Glu Ser Asn Asn Thr Glu Arg Gln Val Ser Lys Ala
 1025 1030 1035

Glu Ile Val Met Glu His Lys Glu Thr Glu Leu Val Glu Thr Val
 1040 1045 1050

Ser Ser Ala Ser Glu Pro Val Val Leu Val Glu Asn Ile Ser Gln
 1055 1060 1065

Thr Ser Asn Asn Thr Ile Glu Ser Gly Lys Asn Met Gly Val Gln
 1070 1075 1080

Ser Gln Ala Gly Ala Lys Gln Ile Leu Gly Val Glu Gln Ser Ser
 1085 1090 1095

Lys Val Ser Thr Pro Thr Ser Arg Gln Ile Met Gly Val Gly Leu
 1100 1105 1110

Leu Thr Leu Val Leu Gly Ser Ala Leu Gly Leu Leu Lys Lys Arg
 1115 1120 1125

Arg Lys
 1130

<210> 3
 <211> 3426
 <212> ADN
 <213> Streptococcus suis

<400> 3
 atgaacattc aagaacgatt ttctttgaga aaatccgcgg ttggcttggt ctcagtctct 60
 ttgctatgtg ctatttatac atccactgtt gctgccgata cagttgttac aggagtgaat 120
 gaaataattg aagaatcaca agtcaaggat gaggtatcta ttgaatcaga aaaaaatgaa 180
 tccctagatg gttctaatat tgaaattgta gaggaaatag cagacaacat cccatcacct 240
 gttatcgctg aaggggaagt agcggtagag atgaaagttg acagagggac cgagaatgta 300

gtttctagaa atgatacaga agttacgacg agcgagcaaa atcagataga ggttactgag	360
acaaaagaaa ttttgaatca gaccagttat caaacggaga gtggcgagca acgacaaatt	420
atatgggccc atggaattac tcctcctgca atggaacaaa gcggtgggtt tgtaaaggaa	480
aagtatggag actatttaaa ctatacagcg ccatttgagg ctggaaaagg ctactatgat	540
accaataaga gtctgaatgc ttcatttatt gaccttaatc tttgttttgc agctgtgtct	600
tcaaacatgg tacattggtg gttggaacag aatagttcct atgttgagcg atatctcaaa	660
gaaaaaaagg gtacagtaaa tgttgaagaa aactacgcaa taacggactt acggcgctat	720
attaattcat tccaaaatca acaaaatagt cgagtttttg atatgttcaa aacttactat	780
ggttatcgta caaatgggtt tgtatcagat gccttggttg acttgtttat taacggatat	840
aaacctaagg cacagggcgg tgtcaatctg gaagatagcc agttagtacc agatagtagg	900
ggtggccttt tctacgacgt tttcaaagag aaaaaactga caaatcgaat ttttagtggt	960
agttatgagc ggtttgggtg ggatgttcga actgttttgg aaagcaaagg attactcggc	1020
ttaacttata gaacattagg ttatgcaacg catattgtga cggtatgggg tgctgagtac	1080
gacaatcaag gtaagattaa ggctgtctat atcacagatt ctgatgatca acaagaacaa	1140
attggtttga agcgtatggg aatcactcgt gatgcttccg gaaatccacg tttgaataat	1200
catatgaaaa ataattcagc tggagcgctt ttggattatg tccatacaat ccgtctgggt	1260
caagacttat gggaagaata tttcaatccg cttgcaaaag ccaaagaaac agctagtcag	1320
acattagccg atacaaagaa ggcgttggat ttgtctattc aaggacaatc tgaattgcca	1380
gaatcaatgc gactgattta tcttgaaaaa ctaaataatc tctataatca aggaattcta	1440
tctattcaaa aggcagaaag ttctgagatg ctaagtgggt cattggaaaa tggtttaa	1500
agtttaaaga gtttagattt tcctatttca gaagttggaa atgctttggc accagattta	1560
ccagtaggtg atcgctcaac ggtttcagat gttgattctc tatcatctca agaaacaagt	1620
tccacaaatt tggaagcaga cacagagaat gcaggtatta ttgcagatgg taccaatcaa	1680
ttgcattttc cagtggaggc ccaaacgaca tcttcagtag aggctgaggg agataatggt	1740
tttgaacaag aggcagatac attaccaata attattgaaa acaaggatga atttggttca	1800
gaactatcaa gaaacatgca aacgtcagaa acggattcgc tagtagtagc tgttgaagaa	1860

gatgtgaaaa atgatgaggt agcccaagtt gaagagcttc ttgaatcaga aaaagttgaa	1920
aatcagagtt cggaacttct gtcagacacc ctaatcgtag agagtgcaaa tgacaaagaa	1980
gaagatagag tggaggcggt tgtttctgaa caaccagact caataccaca tcaaaatgta	2040
gaaatctctc ttgtagaacc aacgaatgtc gaaactgaaa ctgtgggtcac tcctattaat	2100
gatgcagcta ctctcatgg ttccccgacg tatatagata attccgtaac tgaatctgta	2160
gctactccac ttgaaaaaga ctccattcaa gccggggaga cagagattgc agaaccaacc	2220
tcgagcgaat caacgaatgt cgaaactgaa actgtggtca ctctgttaa tgatgtagct	2280
actcctcatg gttccccgac gtatatagat aattccgtaa ctgaatctgt agctactcca	2340
cttgaaaaag actccattca agccggagag acagaaattg cagaaccaac ctcgagcgaa	2400
tcaacgaatg tcgaaactga aactgtggtc actcctgtta atgatgtagc tactcctcat	2460
ggttccccga cgtatataga taattccgta actgaatctg tagctactcc acttgaaaaa	2520
gactccattc aagccgggga gacagagatt gcagaaccaa cctcgagcga atcaactagt	2580
gttgaagctg aacttgctga caattctgaa attcatgcag ctacctcttc agttactccc	2640
tgtgggtcct cggcatatgc agatggttcc acaactgaat ctgtagccac tccgcttgaa	2700
aaagactcca ttcagactgg aaatacagaa attgcagaac caacctcgag caaatcaact	2760
aatgtagaag ctgcatctgt cgacaattct gaaattcatg cagatgcctc tctaactgct	2820
gtttcatcag ttaatctgga taatccagtg attgaaccag tagctatctc ccttatcggt	2880
tctaagaggg acacgaatgc agaagtagaa gtttcttcat tatcgaaaag agagggtaga	2940
aaaacaaata ctgacgggct aatctctgtt caatcaaaag ttattaagaa agaattgcta	3000
gaatcaagct tagcagaagc agggctctcca ttgctagaag ccaccattgc tcagtcttca	3060
aactcaaata gtactgagat aggtatgagc tatcagaata ctgtgttatt agagtcta	3120
aatacagagc gtcagggtgc taaagcagaa attgttatgg aacacaagga gacagagtta	3180
gttgaaacgg tttcatctgc ttctgagcct gtagtgctcg tagaaaatat ctacaaaacc	3240
tcaaataata ctattgaatc tggtaagaat atgggagttc aatctcaagc aggtgcaaaa	3300
caaatttttag gcgtagaaca atcttcgaaa gtaagtacac ctacttcaag acagattatg	3360
ggagtcggtc tattgactct tgttcttggg agtgcttttag gtttggttaa gaaaagacgt	3420

aagtaa

3426

<210> 4

<211> 3393

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa rIdeSsuis

<400> 4

atggcacatc accaccacca tcacgtgggt accggttcga atgatgacga cgacaagagt	60
ccggatccag ttgttacagg agtgaatgaa ataattgaag aatcacaagt caaggatgag	120
gtatctattg aatcagaaaa aaatgaatcc ctagatgggt ctaatattga aattgtagag	180
gaaatagcag acaacatccc atcacctggt atcgctgaag gggaagtagc ggtagagatg	240
aaagttgaca gagggaccga gaatgtagtt tctagaaatg atacagaagt tacgacgagc	300
gagcaaaatc agatagaggt tactgagaca aaagaaattt tgaatcagac cagttatcaa	360
acggagagtg gcgagcaacg acaaattata tgggcccatt gaattactcc tcctgcaatg	420
gaacaaagcg gtggttttgt aaaggaaaag tatggagact atttaaaacta tacagcgcca	480
tttgaggctg gaaaaggcta ctatgatacc aataagagtc tgaatgcttc atttattgac	540
cttaatcttt gttttgcagc tgtgtcttca aacatgggtac attgggtggtt ggaacagaat	600
agttcctatg ttgagcgata tctcaaagaa aaaaagggtta cagtaaattgt tgaagaaaac	660
tacgcaataa cggacttacg gcgctatatt aattcattcc aaaatcaaca aaatagtcga	720
gtttttgata tgttcaaaac ttactatggt tatcgtacaa atgggttttgt atcagatgcc	780
ttgggtgact tgtttattaa cggatataaa cctaaggcac agggcggtgt caatctggaa	840
gatagccagt tagtaccaga tagtaggggt ggctttttct acgacgtttt caaagagaaa	900
aaactgacaa atcgaatttt tagtggttagt tatgagcgggt ttggtgagga tggtcgaact	960
gttttggaag gcaaaggatt actcggctta acttatagaa cattaggtta tgcaacgcat	1020
attgtgacgg tatggggtgc tgagtacgac aatcaaggta agattaaggc tgtctatatc	1080
acagattctg atgatcaaca agaacaaatt ggtttgaagc gtatgggaat cactcgtgat	1140
gcttccggaa atccacgttt gaataatcat atgaaaaata attcagctgg agcgcttttg	1200

gattatgtcc atacaatccg tctgggtcaa gacttatggg aagaatattt caatccgctt	1260
gcaaaagcca aagaaacagc tagtcagaca ttagccgata caaagaaggc gttggatttg	1320
tctattcaag gacaatctga attgccagaa tcaatgcgac tgatttatct tgaaaaacta	1380
aataatctct ataatcaagg aattctatct attcaaaagg cagaaagttc tgagatgcta	1440
agtgggtgcat tggaaaatgg tttaaatagt ttaaagagtt tagattttcc tatttcagaa	1500
gttgaaaatg ctttggcacc agatttacca gtaggtgatc gctcaacggt ttcagatggt	1560
gattctctat catctcaaga aacaagttcc acaaatttg aagcagacac agagaatgca	1620
ggtattattg cagatggtac caatcaattg cattttccag tggaggccca aacgacatct	1680
tcagtagagg ctgagggaga taatgttttt gaacaagagg cagatacatt accaataatt	1740
attgaaaaca aggatgaatt tggttcagaa ctatcaagaa acatgcaaac gtcagaaacg	1800
gattcgctag tagtagctgt tgaagaagat gtgaaaaatg atgaggtagc ccaagttgaa	1860
gagcttcttg aatcagaaaa agttgaaaat cagagttcgg aacttctgtc agacacccta	1920
atcgtagaga gtgcaaatga caaagaagaa gatagagtgg aggcggttgt ttctgaacaa	1980
ccagactcaa taccacatca aaatgtagaa atctctcttg tagaaccaac gaatgtcgaa	2040
actgaaactg tggtcactcc tattaatgat gcagctactc ctcatggttc cccgacgtat	2100
atagataatt ccgtaactga atctgtagct actccacttg aaaaagactc cattcaagcc	2160
ggggagacag agattgcaga accaacctcg agcgaatcaa cgaatgtcga aactgaaact	2220
gtggtcactc ctgttaatga tgtagctact cctcatgggt ccccgacgta tatagataat	2280
tccgtaactg aatctgtagc tactccactt gaaaaagact ccattcaagc cggagagaca	2340
gaaattgcag aaccaacctc gagcgaatca acgaatgtcg aaactgaaac tgtggtcact	2400
cctgttaatg atgtagctac tcctcatgggt tccccgacgt atatagataa ttccgtaact	2460
gaatctgtag ctactccact tgaaaaagac tccattcaag ccggggagac agagattgca	2520
gaaccaacct cgagcgaatc aactagtgtt gaagctgaac ttgtcgacaa ttctgaaatt	2580
catgcagcta cctcttcagt tactccctgt ggctcctcgg catatgcaga tggttccaca	2640
actgaatctg tagccactcc gcttgaaaaa gactccattc agactggaaa tacagaaatt	2700
gcagaaccaa cctcgagcaa atcaactaat gtagaagctg catctgtcga caattctgaa	2760

attcatgcag atgcctctct aactgctggt tcatcagtta atctggataa tccagtgtatt 2820
 gaaccagtag ctatctccct tatcggttct aagagggaca cgaatgcaga agtagaagtt 2880
 tcttcattat cgaaaagaga ggtagaaaa acaataactg acgggctaata ctctgttcaa 2940
 tcaaaagtta ttaagaaaga attgctagaa tcaagcttag cagaagcagg gtctccattg 3000
 ctagaagcca ccattgctca gtcttcaaac tcaaatagta ctgagatagg tatgagctat 3060
 cagaatactg tggtattaga gtctaataat acagagcgctc aggtgtctaa agcagaaatt 3120
 gttatggaac acaaggagac agagttagtt gaaacgggtt catctgcttc tgagcctgta 3180
 gtgctcgtag aaaatatctc acaaacctca aataatacta ttgaatctgg taagaatatg 3240
 ggagttcaat ctcaagcagg tgcaaaacaa attttaggcg tagaacaatc ttcgaaagta 3300
 agtacaccta cttcaagaca gattatggga gtcggtctat tgactcttgt tcttggtagt 3360
 gcttttaggtt tggttaaagaa aagacgtaag taa 3393

<210> 5
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Một phần trình tự của miền Mac-1

<400> 5

Met Lys Val Asp Arg Gly Thr Glu Asn Val Val Ser Arg Asn Asp Thr
 1 5 10 15

Glu Val Thr Thr Ser Glu Gln Asn Gln Ile Glu Val Thr Glu Thr Lys
 20 25 30

Glu Ile Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg
 35 40 45

Gln Ile Ile Trp Ala His Gly Ile Thr Pro Pro Ala Met Glu Gln Ser
 50 55 60

Gly Gly Phe Val Lys Glu Lys Tyr Gly Asp Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala
 65 70 75 80

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

Ala Ser Phe Ile Asp Leu Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn
 100 105 110

Met Val His Trp Trp Leu Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr
 115 120 125

Leu Lys Glu Lys Lys Gly Thr Val Asn Val Glu Glu Asn Tyr Ala Ile
 130 135 140

Thr Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Ser Phe Gln Asn Gln Gln Asn Ser
 145 150 155 160

Arg Val Phe Asp Met Phe Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly
 165 170 175

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

Lys Ala Gln Gly Gly Val Asn Leu Glu Asp Ser Gln Leu Val Pro Asp
 195 200 205

Ser Arg Gly Gly Phe Phe Tyr Asp Val Phe Lys Glu Lys Lys Leu Thr
 210 215 220

Asn Arg Ile Phe Ser Gly Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg
 225 230 235 240

Thr Val Leu Glu Ser Lys Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu
 245 250 255

Gly Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn
 260 265 270

Gln Gly Lys Ile Lys Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln
 275 280 285

Glu Gln Ile Gly Leu Lys Arg Met Gly Ile Thr Arg Asp Ala Ser Gly
 290 295 300

Asn Pro Arg Leu Asn Asn His Met Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu
 305 310 315 320

Leu Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu
 325 330 335

<210> 6

<211> 457

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự tương đồng rIdeSsuis

<400> 6

Met Ala His His His His His His Val Gly Thr Gly Ser Asn Asp Asp
 1 5 10 15

Asp Asp Lys Ser Pro Asp Pro Val Val Thr Gly Val Asn Glu Ile Ile
 20 25 30

Glu Glu Ser Gln Val Lys Asp Glu Val Ser Ile Glu Ser Glu Lys Asn
 35 40 45

Glu Ser Leu Asp Gly Ser Asn Ile Glu Ile Val Glu Glu Ile Ala Asp
 50 55 60

Asn Ile Pro Ser Pro Val Ile Ala Glu Gly Glu Val Ala Val Glu Met
 65 70 75 80

Lys Val Asp Arg Gly Thr Glu Asn Val Val Ser Arg Asn Asp Thr Glu
 85 90 95

Val Thr Thr Ser Glu Gln Asn Gln Ile Glu Val Thr Glu Thr Lys Glu
 100 105 110

Ile Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg Gln

115							120									125
Ile	Ile	Trp	Ala	His	Gly	Ile	Thr	Pro	Pro	Ala	Met	Glu	Gln	Ser	Gly	
130						135					140					
Gly	Phe	Val	Lys	Glu	Lys	Tyr	Gly	Asp	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Thr	Ala	Pro	
145					150					155					160	
Phe	Glu	Ala	Gly	Lys	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Thr	Asn	Lys	Ser	Leu	Asn	Ala	
				165					170					175		
Ser	Phe	Ile	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys	Phe	Ala	Ala	Val	Ser	Ser	Asn	Met	
			180					185						190		
Val	His	Trp	Trp	Leu	Glu	Gln	Asn	Ser	Ser	Tyr	Val	Glu	Arg	Tyr	Leu	
		195					200					205				
Lys	Glu	Lys	Lys	Gly	Thr	Val	Asn	Val	Glu	Glu	Asn	Tyr	Ala	Ile	Thr	
	210					215					220					
Asp	Leu	Arg	Arg	Tyr	Ile	Asn	Ser	Phe	Gln	Asn	Gln	Gln	Asn	Ser	Arg	
225					230					235					240	
Val	Phe	Asp	Met	Phe	Lys	Thr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Arg	Thr	Asn	Gly	Phe	
				245					250					255		
Val	Ser	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Leu	Phe	Ile	Asn	Gly	Tyr	Lys	Pro	Lys	
			260					265					270			
Ala	Gln	Gly	Gly	Val	Asn	Leu	Glu	Asp	Ser	Gln	Leu	Val	Pro	Asp	Ser	
		275					280					285				
Arg	Gly	Gly	Phe	Phe	Tyr	Asp	Val	Phe	Lys	Glu	Lys	Lys	Leu	Thr	Asn	
	290					295					300					
Arg	Ile	Phe	Ser	Gly	Ser	Tyr	Glu	Arg	Phe	Gly	Glu	Asp	Val	Arg	Thr	
305					310					315					320	
Val	Leu	Glu	Ser	Lys	Gly	Leu	Leu	Gly	Leu	Thr	Tyr	Arg	Thr	Leu	Gly	

325

330

335

Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn Gln
 340 345 350

Gly Lys Ile Lys Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln Glu
 355 360 365

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

Pro Arg Leu Asn Asn His Met Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu Leu
 385 390 395 400

Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu Glu Tyr
 405 410 415

Phe Asn Pro Leu Ala Lys Ala Cys Arg Ser Thr Ser Leu Arg Pro His
 420 425 430

Ser Ser Leu Val Lys Lys Pro Leu Leu Arg Asn Leu Asn Ala Ser Thr
 435 440 445

Trp Thr Arg Leu Leu Ala Gln Leu Asn
 450 455

<210> 7
 <211> 1016
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> rIdeSsuisB2

<400> 7

Met Ala His His His His His His Val Gly Thr Gly Ser Asn Asp Asp
 1 5 10 15

Asp Asp Lys Ser Pro Asp Pro Val Val Thr Gly Val Asn Glu Ile Ile
 20 25 30

Glu Glu Ser Gln Val Lys Asp Glu Val Ser Ile Glu Ser Glu Lys Asn
 35 40 45

Glu Ser Leu Asp Gly Ser Asn Ile Glu Ile Val Glu Glu Ile Ala Asp
 50 55 60

Asn Ile Pro Ser Pro Val Ile Ala Glu Gly Glu Val Ala Val Glu Met
 65 70 75 80

Lys Val Asp Arg Gly Thr Glu Asn Val Val Ser Arg Asn Asp Thr Glu
 85 90 95

Val Thr Thr Ser Glu Gln Asn Gln Ile Glu Val Thr Glu Thr Lys Glu
 100 105 110

Ile Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg Gln
 115 120 125

Ile Ile Trp Ala His Gly Ile Thr Pro Pro Ala Met Glu Gln Ser Gly
 130 135 140

Gly Phe Val Lys Glu Lys Tyr Gly Asp Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala Pro
 145 150 155 160

Phe Lys Ala Gly Lys Gly Tyr Tyr Asp Thr Asn Lys Ser Leu Asn Ala
 165 170 175

Ser Phe Ile Asp Leu Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn Met
 180 185 190

Val His Trp Trp Leu Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr Leu
 195 200 205

Lys Glu Lys Lys Gly Thr Val Asn Val Gly Glu Asn Tyr Ala Ile Thr
 210 215 220

Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asp Ser Phe Gln Asp Gln Gln Asn Ser Arg
 225 230 235 240

Val Phe Asp Met Phe Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly Phe
 245 250 255

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

Val Gln Gly Gly Val Asn Leu Glu Asp Ser Gln Leu Val Pro Asp Ser
 275 280 285

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

Arg Ile Phe Ser Gly Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg Thr
 305 310 315 320

Val Leu Glu Ser Lys Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu Gly
 325 330 335

Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn Gln
 340 345 350

Gly Lys Ile Arg Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln Glu
 355 360 365

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

Pro Arg Leu Asn Asn His Val Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu Leu
 385 390 395 400

Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu Glu Tyr
 405 410 415

Phe Asn Pro Phe Ala Lys Ala Lys Glu Ile Ala Ser Gln Ile Leu Ala
 420 425 430

Asp Arg Lys Lys Ala Leu Val Leu Ser Ile Gln Gly Gln Ser Glu Leu
 435 440 445

Pro Glu Ser Met Arg Leu Ile Tyr Leu Glu Lys Leu Asn Asn Leu Tyr
 450 455 460

Asn Gln Gly Ile Leu Ser Ile Gln Lys Thr Glu Ser Ser Glu Met Leu
 465 470 475 480

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

Pro Ile Ser Glu Val Gly Asn Ala Leu Ala Pro Asp Leu Ser Val Gly
 500 505 510

Asp Arg Ser Thr Val Ser Asp Val Asp Ser Leu Ser Ser Gln Glu Thr
 515 520 525

Ser Ser Thr Asn Leu Glu Ala Asp Thr Glu Asn Ala Gly Ile Ile Ala
 530 535 540

Asp Gly Thr Asn Gln Leu His Phe Pro Val Glu Ala Gln Thr Thr Ser
 545 550 555 560

Ser Val Glu Ala Glu Gly Asp Asn Val Phe Glu Gln Glu Ala Asp Thr
 565 570 575

Leu Pro Ile Ile Ile Glu Asn Lys Asp Glu Phe Gly Ser Glu Leu Ser
 580 585 590

Gly Asn Met Gln Thr Ser Glu Thr Asp Ser Leu Val Val Ala Val Glu
 595 600 605

Glu Asp Val Lys Asn Asp Glu Val Asp Gln Val Glu Lys Leu Leu Glu
 610 615 620

Ser Glu Lys Val Glu Asn Gln Ser Ser Glu Leu Leu Ser Asp Thr Leu
 625 630 635 640

Ile Val Glu Gly Ala Asn Asp Lys Glu Glu Asp Arg Val Glu Ala Val
 645 650 655

Val Ser Glu Gln Pro Asp Ser Ile Pro His Gln Asn Val Glu Ile Ser
 660 665 670

Pro Val Glu Pro Met Asn Val Glu Thr Glu Ser Val Val Thr Pro Ile
 675 680 685

Asn Asp Ala Ala Thr Pro His Gly Phe Pro Met Tyr Ile Asp Asn Ser
 690 695 700

Val Thr Glu Ser Val Ala Thr Pro Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Ala
 705 710 715 720

Gly Glu Thr Glu Ile Ala Glu Pro Thr Ser Ser Glu Ser Thr Ser Val
 725 730 735

Glu Ala Glu Leu Val Asp Asn Ser Glu Ile His Ser Ala Thr Ser Ser
 740 745 750

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

Ser Val Ala Thr Leu Leu Glu Lys Asp Ser Ile Gln Ala Gly Glu Thr
 770 775 780

Glu Ile Ala Glu Pro Thr Ser Ser Lys Ser Thr Asn Val Glu Ala Ala
 785 790 795 800

Ser Val Asp Asn Ser Glu Ile His Ala Asp Thr Ser Leu Thr Ala Val
 805 810 815

Ser Ser Val Asn Leu Asp Asn Pro Val Ile Glu Pro Val Ala Ile Pro
 820 825 830

Leu Ile Gly Ser Lys Arg Asp Thr Asn Ala Glu Val Glu Val Ser Ser
 835 840 845

Leu Ser Lys Arg Glu Val Arg Lys Pro Asn Thr Glu Gly Leu Ile Ser
 850 855 860

Val Gln Ser Lys Val Ile Lys Lys Glu Leu Leu Glu Ser Ser Leu Val
 865 870 875 880

Glu Ala Gly Ser Pro Leu Leu Glu Ala Thr Ile Ala Gln Ser Ser Asn
 885 890 895

Ser Asn Ser Thr Glu Ile Gly Met Ser Tyr Gln Asn Thr Val Leu Leu
 900 905 910

Glu Ser Asn Asn Thr Glu Arg Gln Val Ser Lys Ala Glu Ile Val Ile
 915 920 925

Glu His Lys Glu Thr Glu Leu Val Glu Thr Val Ser Ser Ala Ser Glu
 930 935 940

Pro Val Val Leu Val Glu Asn Ile Ser Gln Thr Ser Asn Asn Thr Ile
 945 950 955 960

Glu Ser Gly Lys Asn Met Gly Val Gln Ser Gln Ala Gly Ala Lys Gln
 965 970 975

Ile Leu Gly Ile Glu Gln Ser Ser Lys Val Ser Thr Pro Thr Ser Arg
 980 985 990

Gln Ile Met Gly Val Gly Leu Leu Thr Leu Val Leu Gly Ser Ala Leu
 995 1000 1005

Gly Leu Leu Lys Lys Arg Arg Lys
 1010 1015

<210> 8
 <211> 1374
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự tương đồng rIdeSsuis

<400> 8
 atggcacatc accaccacca tcacgtgggt accggttcga atgatgacga cgacaagagt

```

ccggatccag ttgttacagg agtgaatgaa ataattgaag aatcacaagt caaggatgag 120
gtatctattg aatcagaaaa aaatgaatcc ctagatgggt ctaatattga aattgtagag 180
gaaatagcag acaacatccc atcacctgtt atcgctgaag gggaagtagc ggtagagatg 240
aaagttgaca gagggaccga gaatgtagtt tctagaaatg atacagaagt tacgacgagc 300
gagcaaaaatc agatagaggt tactgagaca aaagaaattt tgaatcagac cagttatcaa 360
acggagagtg gcgagcaacg acaaattata tgggcccatt gaattactcc tcttgcaatg 420
gaacaaagcg gtggttttgt aaaggaaaag tatggagact atttaaaacta tacagcgcca 480
tttgaggctg gaaaaggcta ctatgatacc aataagagtc tgaatgcttc atttattgac 540
cttaatcttt gttttgcagc tgtgtcttca aacatgggtac attggtgggt ggaacagaat 600
agttcctatg ttgagcgata tctcaaagaa aaaaagggtta cagtaaatgt tgaagaaaac 660
tacgcaataa cggacttacg gcgctatatt aattcattcc aaaatcaaca aaatagtcga 720
gtttttgata tgttcaaaac ttactatggg tatcgtacaa atggttttgt atcagatgcc 780
ttggttgact tgtttattaa cggatataaa cctaaggcac agggcggtgt caatctggaa 840
gatagccagt tagtaccaga tagtaggggt ggctttttct acgacgtttt caaagagaaa 900
aaactgacaa atcgaatttt tagtggtagt tatgagcggg ttggtgagga tgttcgaact 960
gttttggaag gcaaaggatt actcggttta acttatagaa cattaggtta tgcaacgcat 1020
attgtgacgg tatgggggtgc tgagtacgac aatcaaggta agattaaggc tgtctatatc 1080
acagattctg atgatcaaca agaacaaatt ggtttgaagc gtatgggaat cactcgtgat 1140
gcttccggaa atccacgttt gaataatcat atgaaaaata attcagctgg agcgcttttg 1200
gattatgtcc atacaatccg tctgggtcaa gacttatggg aagaatattt caatccgctt 1260
gcaaaagcct gcaggtcgac aagcttgagg ccgcactcga gtctggtaaa gaaaccgctg 1320
ctgcgaaatt tgaacgccag cacatggact cgtctactag cgcagcttaa ttaa 1374

```

<210> 9
 <211> 3051
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa rIdeSsuisB2

<400> 9

atggcacatc accaccacca tcacgtgggt accggttcga atgatgacga cgacaagagt	60
ccggatccag ttgttacagg agtgaatgaa ataattgaag aatcacaagt caaggatgag	120
gtatctattg aatcagaaaa aaatgaatcc ctagatgggt ctaatattga aattgtagag	180
gaaatagcag acaacatccc atcacctggt atcgctgaag gggaagtagc ggtagagatg	240
aaagttgaca gagggaccga gaatgtagtt tctagaaatg atacagaagt tacgacgagc	300
gagcaaaaatc agatagaggt tactgagaca aaagaaatgt tgaatcagac cagttatcaa	360
acggagagtg gcgagcaacg acaaattata tgggcccatg gaattactcc tcttgcaatg	420
gaacaaagcg gtggttttgt aaaggaaaag tatggagact atttaaacta tacagcgcca	480
tttaaggcag gaaaaggcta ttatgatacc aataaaagtc tcaatgcttc atttattgac	540
cttaacctat gttttgcagc cgtgtcttcc aacatggtag attggtgggt ggaacagaat	600
agttcctatg ttgagcgata tctcaaagaa aaaaagggtg cagtaaagt tggggaaaac	660
tatgcaataa cggacctacg tcgctatatt gattcggtcc aggatcagca aaatagtcga	720
gtctttgata tgttcaaaac ttactacggt tatcgtaaca atgggtttgt gtcagatgcc	780
ctagttgact tgtttattaa tggatataaa cctaaggtag aggggtggtg caatctggaa	840
gatagccagt tagtaccaga tagtaggggt ggctttttct acgacgtttt caaagagaaa	900
aaactgacaa atcgtatttt tagtggtagc tatgagcggt ttggtgagga tgttcgaact	960
gttttggaga gcaaaggatt actcgggtcta acttatagaa cattaggcta tgcaacgcat	1020
attgtgacgg tatgggggtgc tgagtacgat aatcaaggta agattagggc tgtctatatc	1080
actgattccg atgatcaaca agaacaaatt ggtttgaagc gtatgggaat cactcgtgat	1140
gcttctggaa atccgcgttt gaataatcat gtgaaaaata attcagctgg ggcgcttttg	1200
gattatgtcc atacaatccg tcttgggtcaa gacttatggg aagaatattt caatccgttc	1260
gcaaaagcca aagaaatagc tagtcagata ctagctgata gaaagaaggc gttggttctg	1320
tctattcaag gacaatctga attgccagaa tcaatgcggc tgatttatct tgaaaaacta	1380
aataatctct ataataagg gattctatct attcaaaaga cagaaagttc tgagatgcta	1440
agtgggtgcat tggaaaatgg tttaaatagt ttaaagagtt tagattttcc tatttcagaa	1500

gttggaatg ctttggcacc agatttatca gtaggtgatc gctcaacggt ttcagatggt	1560
gattctctat catctcaaga aacaagttcc acaaatttgg aagcagacac agagaatgca	1620
ggtattattg cagatggtac caatcaattg cattttccag tggaggccca aacgacatct	1680
tcagtagagg ctgagggaga taatgttttt gaacaagagg cagatacatt accaataatt	1740
attgaaaaca aggatgaatt tggttcagaa ctatcaggaa acatgcaaac gtcagaaacg	1800
gattcgctag tagtagctgt tgaagaagat gtgaaaaatg atgaggtaga ccaagttgaa	1860
aagcttcttg aatcagaaaa agttgaaaat cagagttcgg aacttctgtc agacacccta	1920
atcgtagagg gtgcaaataa caaagaagaa gatagagtgg aggcggttgt ttctgaacaa	1980
ccagactcaa taccacatca aaatgtagaa atctctcctg tagaaccaat gaatgtcgaa	2040
actgaatctg tggtcactcc tattaatgat gcagctactc ctcatgggtt cccgatgtat	2100
atagataatt ccgtaactga atctgtagct actccacttg aaaaagactc cattcaagcc	2160
ggagagacag aaattgcaga accaacctcg agcgaatcaa ctagtgttga agctgaactt	2220
gtcgacaatt ctgaaatcca ttcagctacc tcttcagtta ctccccgtgg ttccctcggca	2280
tatgcagata gttccacaac tgaatctgta gctactctgc ttgaaaaaga ctccattcag	2340
gctggagaga cagaaattgc agaaccaacc tcgagcaaata caactaatgt cgaagctgca	2400
tctgtcgaca attctgaaat tcatgcagat acctctctaa ctgctgtttc atcagtcaat	2460
ctggataatc cagtgattga accagtagct atccccctta tcggttctaa gagggacacg	2520
aatgcagaag tggaagtttc ttcattatcg aaaagagagg ttagaaaacc aaatactgaa	2580
gggctaattc ctgttcaatc aaaagttatt aagaaagaat tgctagaatc aagcttagta	2640
gaagcagggc ctccattgct agaagccacc attgctcagt cttcaaactc aaatagtact	2700
gagataggta tgagctatca gaatactgtg ttattagagt ctaataatac agagcgtcag	2760
gtgtctaaag cagaaattgt tatagaacac aaggagacag agttagttga aacggtttca	2820
tctgcttctg agcctgtagt gctcgtagaa aatatctcac aaacctcaaa taatactatt	2880
gaatctggta agaatatggg agttcaatct caagcaggtg caaaacaaat ttaggcata	2940
gaacaatctt cgaaagtaag tacacctact tcaagacaga ttatgggagt cggctctattg	3000
actcttgttc ttggtagtgc ttaggtttg ttaaagaaaa gacgtaagta a	3051

<210> 10
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> các axit amin từ 91 đến 425 của WP_044671938

<400> 10

Met Lys Val Asp Arg Gly Thr Glu Asn Val Val Ser Arg Asn Asp Thr
 1 5 10 15

Glu Val Thr Thr Ser Glu Gln Asn Gln Ile Glu Val Thr Glu Thr Lys
 20 25 30

Glu Ile Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg
 35 40 45

Gln Ile Ile Trp Ala His Gly Ile Thr Pro Pro Ala Met Glu Gln Ser
 50 55 60

Gly Gly Phe Val Lys Glu Lys Tyr Gly Asp Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala
 65 70 75 80

Pro Phe Lys Ala Gly Lys Gly Tyr Tyr Asp Thr Asn Lys Ser Leu Asn
 85 90 95

Ala Ser Phe Ile Asp Leu Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn
 100 105 110

Met Val His Trp Trp Leu Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr
 115 120 125

Leu Lys Glu Lys Lys Gly Thr Val Asn Val Gly Glu Asn Tyr Ala Ile
 130 135 140

Thr Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asp Ser Phe Gln Asp Gln Gln Asn Ser
 145 150 155 160

Arg Val Phe Asp Met Phe Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly

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

<210>	11
<211>	335
<212>	PRT
<213>	Nhân tạo

<220>
<223> các axit amin từ 91 đến 425 của WP_002935529

<400> 11

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

Ser Arg Gly Gly Phe Phe Tyr Asp Val Phe Lys Glu Lys Lys Leu Thr
 210 215 220

Asn Arg Ile Phe Ser Gly Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg
 225 230 235 240

Thr Val Leu Glu Ser Lys Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu
 245 250 255

Gly Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn
 260 265 270

Gln Gly Lys Ile Arg Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln
 275 280 285

Glu Gln Ile Gly Leu Lys Arg Met Gly Ile Thr Arg Asp Ala Ser Gly
 290 295 300

Asn Pro Arg Leu Asn Asn His Val Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu
 305 310 315 320

Leu Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu
 325 330 335

<210> 12

<211> 335

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> các axit amin từ 92 đến 426 của WP_015647040

<400> 12

Met Lys Val Asp Arg Gly Thr Glu Asn Val Val Ser Arg Asn Asp Lys
 1 5 10 15

Glu Val Thr Thr Ser Glu Lys Asn Gln Ile Glu Val Thr Glu Thr Lys
 20 25 30

Glu Ile Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg

35	40	45
Gln Ile Ile Trp Ala His Gly Ile Thr Pro Pro Ala Met Glu Gln Ser		
50	55	60
Gly Gly Phe Val Lys Glu Lys Tyr Gly Asp Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala		
65	70	75
Pro Phe Glu Ala Gly Lys Gly Tyr Tyr Asp Thr Asn Lys Ser Leu Asn		
	85	90
Ala Ser Phe Ile Asp Leu Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn		
	100	105
Met Val His Trp Trp Leu Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr		
	115	120
Leu Lys Glu Lys Asn Ser Thr Val Asn Val Gly Glu Asn Tyr Ala Ile		
	130	135
Thr Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Ser Phe Gln Asn Gln Gln Asn Ser		
145	150	155
Arg Val Phe Asp Met Phe Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly		
	165	170
Phe Val Ser Asp Ala Leu Val Asp Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Lys Pro		
	180	185
Lys Ala Gln Gly Gly Val Asn Leu Glu Asp Ser Gln Leu Val Pro Asp		
	195	200
Ser Arg Gly Gly Phe Phe Tyr Asp Val Phe Lys Glu Lys Lys Leu Thr		
	210	215
Asn Arg Ile Phe Ser Gly Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg		
225	230	235
Thr Val Leu Glu Ser Lys Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu		

245 250 255

Gly Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn
260 265 270

Gln Gly Lys Ile Lys Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln
275 280 285

Glu Gln Ile Gly Leu Lys Arg Met Gly Ile Thr Arg Asp Ala Ser Gly
290 295 300

Asn Pro Arg Leu Asn Asn His Val Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu
305 310 315 320

Leu Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu
325 330 335

<210> 13
<211> 335
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> các axit amin từ 92 đến 426 của WP_023370787

<400> 13

Met Lys Ser Asp Asn Gly Asp Glu Asn Ala Val Ser Arg Asp Asp Ser
1 5 10 15

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

Glu Ile Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg
35 40 45

Gln Ile Ile Trp Ala His Gly Ile Thr Pro Pro Ala Met Glu Gln Ser
50 55 60

Gly Gly Phe Val Lys Glu Lys Tyr Gly Asp Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala
65 70 75 80

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

Ala Ser Phe Ile Asp Leu Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn
 100 105 110

Met Val His Trp Trp Leu Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr
 115 120 125

Leu Lys Glu Lys Lys Gly Thr Val Asn Val Glu Glu Asn Tyr Ala Ile
 130 135 140

Thr Asp Ile Arg Arg Tyr Ile Asn Ser Phe Gln Asn Gln Gln Asn Ser
 145 150 155 160

Arg Val Phe Asp Met Phe Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly
 165 170 175

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

Lys Ser Gln Gly Gly Val Asn Leu Glu Asp Ser His Leu Val Pro Asp
 195 200 205

Ser Arg Gly Gly Phe Phe Tyr Asp Val Phe Lys Glu Lys Lys Leu Thr
 210 215 220

Asn Arg Ile Phe Ser Gly Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg
 225 230 235 240

Thr Val Leu Glu Ser Lys Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu
 245 250 255

Gly Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn
 260 265 270

Gln Gly Lys Ile Lys Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln
 275 280 285

Glu Gln Ile Gly Leu Lys Arg Met Gly Ile Thr Arg Asp Ala Ser Gly
 290 295 300

Asn Pro Arg Leu Asn Asn His Met Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu
 305 310 315 320

Leu Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu
 325 330 335

<210> 14
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> các axit amin từ 92 đến 426 của WP_044678723

<400> 14

Met Asn Ser Asp Asn Gly Asp Glu Asn Val Val Ser Arg Asp Asp Ser
 1 5 10 15

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

Glu Ile Leu Asn Tyr Thr Ser Tyr Gln Thr Glu Ser Gly Glu Gln Arg
 35 40 45

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

Gly Gly Phe Val Lys Glu Lys Tyr Gly Asp Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala
 65 70 75 80

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

Ala Ser Phe Ile Asp Leu Asn Leu Cys Phe Ala Ala Val Ser Ser Asn
 100 105 110

Met Val His Trp Trp Leu Glu Gln Asn Ser Ser Tyr Val Glu Arg Tyr
 115 120 125

Leu Lys Glu Lys Lys Gly Thr Val Asn Val Glu Glu Asn Tyr Ala Ile
 130 135 140

Thr Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Ser Phe Gln Asn Gln Gln Asn Ser
 145 150 155 160

Arg Val Phe Asp Met Phe Lys Thr Tyr Tyr Gly Tyr Arg Thr Asn Gly
 165 170 175

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

Lys Ala Gln Gly Gly Val Asn Leu Glu Asp Ser Gln Leu Val Pro Asp
 195 200 205

Ser Arg Gly Gly Phe Phe Tyr Asp Val Phe Lys Glu Lys Lys Leu Thr
 210 215 220

Asn Arg Ile Phe Ser Gly Ser Tyr Glu Arg Phe Gly Glu Asp Val Arg
 225 230 235 240

Thr Val Leu Glu Ser Lys Gly Leu Leu Gly Leu Thr Tyr Arg Thr Leu
 245 250 255

Gly Tyr Ala Thr His Ile Val Thr Val Trp Gly Ala Glu Tyr Asp Asn
 260 265 270

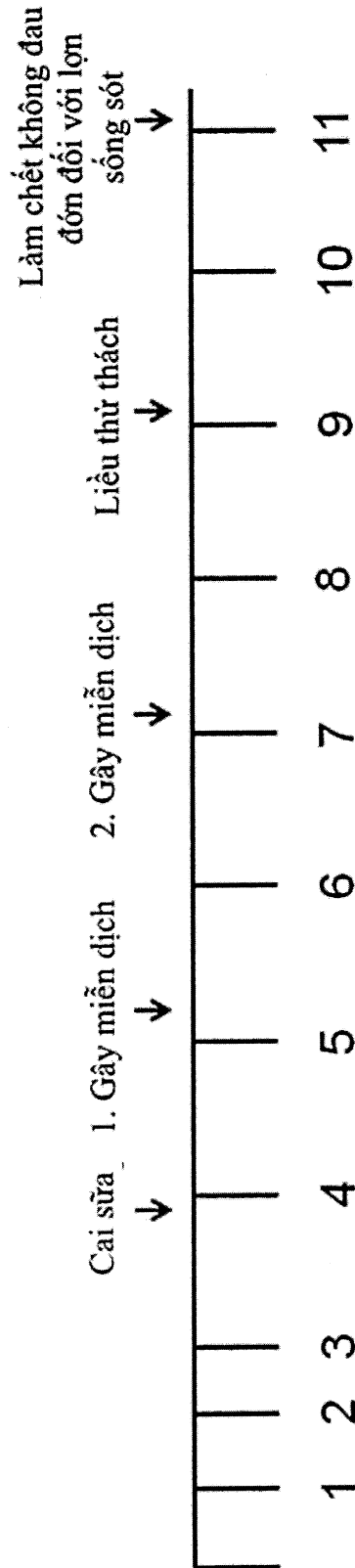
Gln Gly Lys Ile Lys Ala Val Tyr Ile Thr Asp Ser Asp Asp Gln Gln
 275 280 285

Glu Gln Ile Gly Leu Lys Arg Met Gly Ile Thr Arg Asp Ala Ser Gly
 290 295 300

Asn Pro Arg Leu Asn Asn His Met Lys Asn Asn Ser Ala Gly Ala Leu
 305 310 315 320

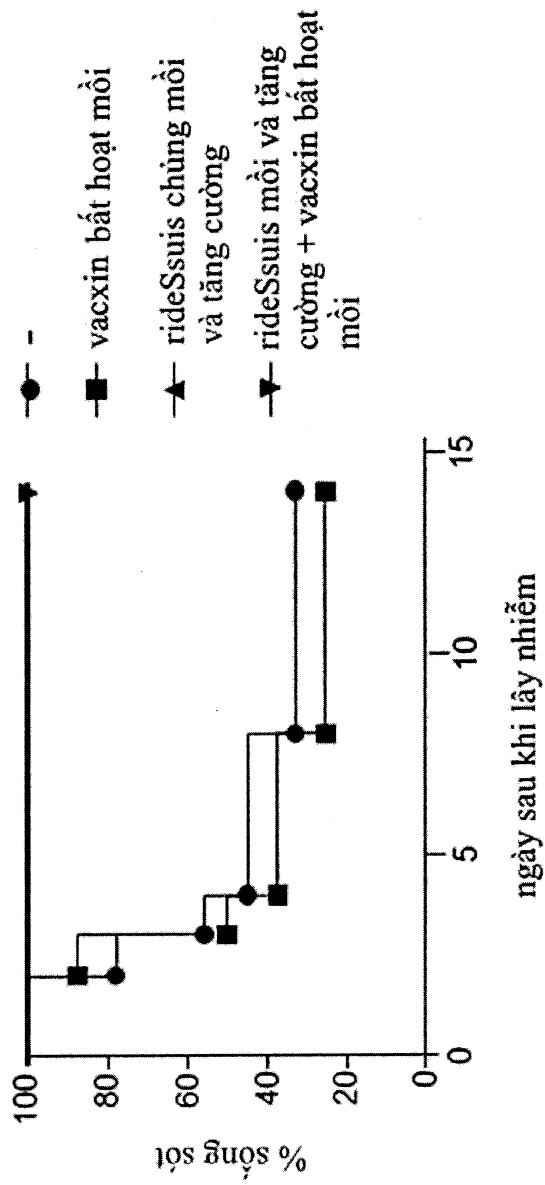
Leu Asp Tyr Val His Thr Ile Arg Leu Gly Gln Asp Leu Trp Glu
 325 330 335

Fig. 1

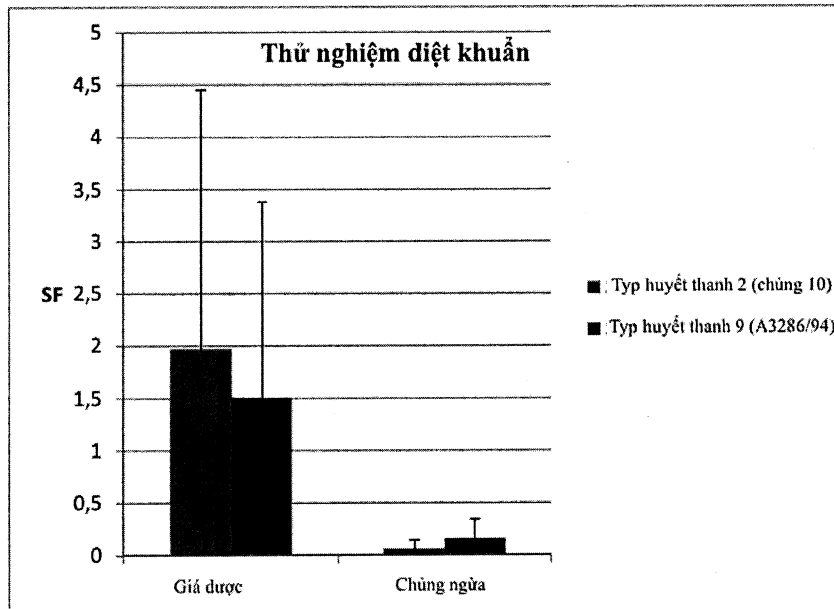


Số con lợn	1. Gây miễn dịch	2. Gây miễn dịch	Chủng thử thách
9	rideSsuis (0,4mg/lợn)	rideSsuis (0,25mg/lợn) + vacxin vô hoạt không chứa chất bổ trợ (S.suis typ huyết thanh 2 chủng [9841])	S.suis typ huyết thanh 2 chủng 10
9	rideSsuis (0,4mg/lợn)	rideSsuis (0,25mg/lợn)	S.suis typ huyết thanh 2 chủng 10
8	già được	vacxin vô hoạt không chứa chất bổ trợ (S.suis typ huyết thanh 2 chủng [9841])	S.suis typ huyết thanh 2 chủng 10
9	già được	Già được	S.suis typ huyết thanh 2 chủng 10

Fig. 2



- Đối với vaccine bất hoạt môi: $p = 0,8237$
- Đối với rideSsuis chủng môi và tăng cường: $p = 0,0031$
- Đối với rideSsuis chủng môi và tăng cường + vaccine bất hoạt môi: $p = 0,0013$
- Đối với vaccine bất hoạt môi so với rideSsuis chủng môi và tăng cường: $p = 0,0031$
- vaccine bất hoạt môi so với rideSsuis chủng môi và tăng cường + vaccine bất hoạt môi: $p = 0,0013$

Fig. 3**Fig. 4**