



(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)



1-0032036

(51)⁷ **A61K 39/135**; A61K 39/12

(13) **B**

(21) 1-2017-03102

(22) 15/01/2016

(86) PCT/US2016/013587 15/01/2016

(87) WO/2016/115456 21/07/2016

(30) 62/104,314 16/01/2015 US

(45) 25/05/2022 410

(43) 25/12/2017 357A

(73) 1. ZOETIS SERVICES LLC (US)

10 Sylvan Way Parsippany, New Jersey 07054, United States of America

2. UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY OF AGRICULTURE (US)

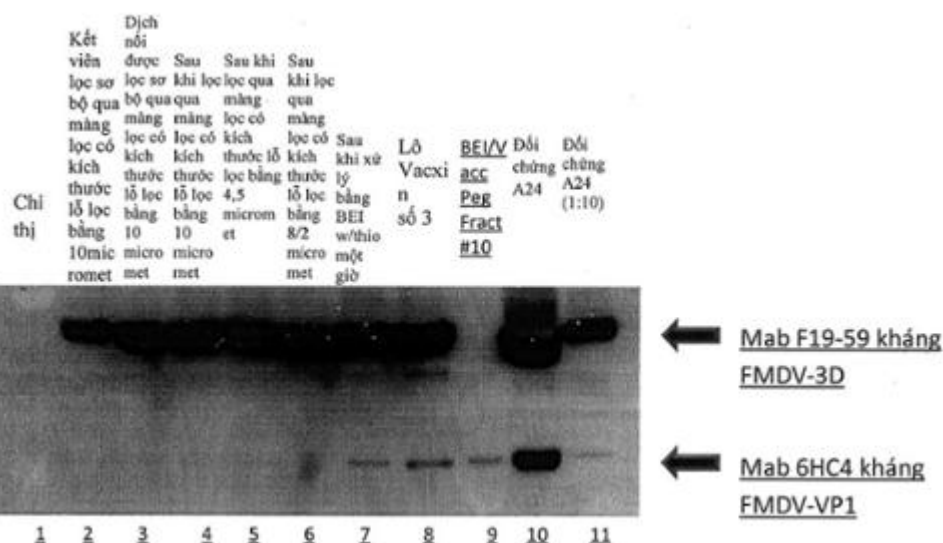
1400 Independence Avenue SW, Washington, DC 20250, United States of America

(72) DOMINOWSKI, Paul, Joseph (US); HARDHAM, John Morgan (US); JACKSON, James Alan (US); GAY, Cyril Gerard (US); RODRIGUEZ, Luis Leandro (US); KRUG, Peter William (US); RIEDER, Aida Elizabeth (US).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyên (INVENCO.,LTD)

(54) CHẾ PHẨM MIỄN DỊCH DÙNG ĐỂ PHÒNG NGỪA BỆNH LỞ MÒM LONG MÓNG

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm phòng ngừa bệnh lở mồm long móng (Foot and mouth disease-FMD) chứa thành phần kháng nguyên với lượng tương đương với 0,5 đến 20 μ g virut FMD và thành phần tá dược chứa dầu, oligonucleotit kích thích miễn dịch, và chất mang đa cation.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm phòng ngừa bệnh lở mồm long móng (Foot and mouth disease -FMD) chứa thành phần kháng nguyên là thành phần virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 20 μ g và thành phần tá được bao gồm nhũ tương chứa dầu, oligonucleotit kích thích miễn dịch, và chất mang đa cation.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh lở mồm long móng (Foot and mouth disease-FMD) là một bệnh do virus gây ra rất dễ lây nhiễm ở các động vật bốn chân có móng chẻ bao gồm vật nuôi trong nhà (gia súc, lợn, cừu, dê và các vật nuôi khác) và nhiều loại động vật hoang dã. Các triệu chứng bệnh rõ nhất ở gia súc bị nhiễm FMDV bao gồm các tổn thương bong nước trên biểu mô miệng, lưỡi, đầu vú và chân. Mặc dù ở một vài nước, trong số các nước này là Mỹ, Canada, Mexico, Úc và phần lớn châu Âu, được cho là không mắc FMD, bệnh này được phân bố trên toàn thế giới và có tác động kinh tế mạnh đến ngành công nghiệp xuất khẩu. Quả thực, đã xảy ra một vài đợt bùng phát bệnh làm ảnh hưởng đến kinh tế ở thập kỷ trước ở hầu hết mọi lục địa.

Các vacxin chứa kháng nguyên FMDV chết hiện nay chủ yếu được sản xuất trong các nhà máy sinh học chia ngăn tốn kém, bằng cách nuôi một thể tích lớn (hàng nghìn lít) FMDV độc hại mà đã được làm thích nghi để phát triển trong các tế bào, mà đôi lúc có thể gặp khó khăn. Quy trình sản xuất này có thể làm thoát virus độc hại từ nhà máy sản xuất dẫn đến làm bùng phát bệnh lớn ở vật nuôi (xem tài liệu Cottam et al. 2008. PLoS Pathogen 4:1-8). Sau khi phát triển, virus được bất hoạt sau đó bằng hóa chất và thu được dịch cô kháng nguyên, sau đó tinh chế để loại bỏ các protein tạp nhiễm. Rất khó để phân biệt giữa động vật bị nhiễm bệnh với động vật được tiêm chủng (differentiate infected from vaccinated animal-DIVA) thông qua các thử nghiệm chẩn đoán huyết thanh. Có rất ít hoặc không có sự bảo vệ chéo giữa các typ huyết thanh và các typ phụ cần cho sự tương hợp thích hợp giữa vacxin và các chủng đang lưu hành để tạo ra sự bảo vệ. Cho dù các vacxin này còn có các nhược điểm như vậy,

nhưng hàng tỷ liều vaccin vẫn được sản xuất hàng năm trên toàn thế giới. Việc sử dụng vaccin này là cơ sở để xóa sổ FMDV ở châu Âu và kiểm soát được bệnh này ở nhiều nơi trên thế giới nhờ chiến dịch tiêm chủng mở rộng. Việc tạo ra các virus được thao tác di truyền chứa khung và các vị trí giới hạn thích hợp đã khắc phục được phần nào các nhược điểm của các vaccin bất hoạt vì các vị trí giới hạn tạo ra vị trí để đưa các protein vỏ capsit của các chủng FMD khác nhau vào. Tuy nhiên, chi phí kháng nguyên là chi phí chủ yếu góp phần vào chi phí sản xuất các vaccin FMD và hầu hết các vaccin khác.

Vấn đề của việc kiểm soát FMD còn gặp khó khăn do hiện tượng tồn lưu virus. Nói tóm lại, theo truyền thống, các vaccin FMD đã bất hoạt không thể ngăn ngừa được tình trạng tồn lưu và mang virus (được hiểu là sự phát tán virus sau 28 ngày sau khi bị nhiễm và/hoặc phơi nhiễm). Động vật phát tán virus, mặc dù không biểu hiện bất kỳ triệu chứng FMD nào, vẫn có thể là nguồn lây nhiễm FMD cho các động vật khác. Vì thế, các tiêu chuẩn thực hành kiểm soát bệnh thường được chấp nhận đòi hỏi giết mổ tất cả các con vật trong đàn đã được tiêm vaccin ngay cả khi chúng không biểu hiện các dấu hiệu lâm sàng của bệnh.

Vì thế, các phương pháp và chế phẩm mà tạo ra vaccin có tải lượng kháng nguyên thấp hơn mà không làm ảnh hưởng đến hiệu quả và/hoặc làm giảm hoặc loại trừ sự dai dẳng của bệnh FMD vẫn được mong muốn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến chế phẩm gây miễn dịch chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được, trong đó thành phần tá được bao gồm nhũ tương chứa pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch này, oligonucleotit kích thích miễn dịch, và ít nhất một polyme đa cation; nguồn nhôm; và thành phần kháng nguyên là thành phần kháng nguyên FMD với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 8µg virus FMD mỗi liều.

Theo các phương án nhất định, oligonucleotit kích thích miễn dịch là oligonucleotit chứa CpG. Theo các phương án nhất định, polyme đa cation là DEAE Dextran.

Theo các phương án khác, kháng nguyên là thành phần virus FMD, và có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 4 μ g mỗi liều, hoặc nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2 μ g mỗi liều, hoặc nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1 μ g mỗi liều, hoặc với lượng 0,5 μ g mỗi liều.

Virus FMD có thể được bất hoạt hoặc được giảm độc lực. Theo các phương án nhất định, virus FMD là chủng FMD A24 Cruzeiro được làm bất hoạt. Theo các phương án được chọn, chủng được làm bất hoạt là chủng được thao tác di truyền đã làm mất vùng mã hóa trình tự dẫn (LL) và tùy ý, chứa các chỉ thị kháng nguyên âm tính.

Theo các phương án nhất định, virus được thao tác di truyền chứa protein capsit từ chủng khác loài.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa FMD ở động vật cần điều trị, phương pháp này bao gồm cho động vật này sử dụng chế phẩm gây miễn dịch theo các phương án của khía cạnh trước. Theo các phương án khác, động vật này được chọn từ bò, cừu, lợn, và dê.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp làm giảm tần suất dai dẳng FMD ở động vật nhai lại bị mắc FMD bao gồm cho động vật nhai lại này sử dụng chế phẩm gây miễn dịch chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được trước khi bị nhiễm, trong đó thành phần tá được bao gồm nhũ tương chứa pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch này, oligonucleotit kích thích miễn dịch với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200 μ g mỗi liều, và polyme đa cation với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200mg mỗi liều; và thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD với lượng tương đương với 6 đến 10 μ g virus FMD mỗi liều.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp quản lý đàn động vật, bao gồm cho động vật trong đàn này sử dụng chế phẩm gây miễn dịch chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được, trong đó thành phần tá được bao gồm nhũ tương chứa pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch này, oligonucleotit kích thích miễn dịch với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200 μ g mỗi liều, và polyme đa cation với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200mg mỗi liều; và thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD với lượng tương

đương với 6 đến 10 μ g virus FMD mỗi liều, trong đó, khi nghi ngờ tiếp xúc với nguồn lây nhiễm FMD, các con đã tiêm vaccin trong đàn này không bị giết mổ.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp quản lý đàn động vật, bao gồm cho các con trong đàn này sử dụng chế phẩm gây miễn dịch chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được, trong đó thành phần tá được bao gồm nhũ tương chứa pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch này, oligonucleotit kích thích miễn dịch với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200 μ g mỗi liều, và polyme đa cation với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200mg mỗi liều; và thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD với lượng tương đương với 6 đến 10 μ g virus FMD mỗi liều, trong đó, khi nghi ngờ tiếp xúc với nguồn lây nhiễm FMD, các con đã được tiêm vaccin trong đàn được cách ly trong khoảng thời gian từ 0 đến 62 ngày.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp quản lý đàn động vật, bao gồm cho các con trong đàn này sử dụng chế phẩm gây miễn dịch chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được, trong đó thành phần tá được bao gồm nhũ tương chứa pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch này, oligonucleotit kích thích miễn dịch với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200 μ g mỗi liều, và polyme đa cation với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200mg mỗi liều; và thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD với lượng tương đương với 6 đến 10 μ g virus FMD mỗi liều, trong đó, khi nghi ngờ tiếp xúc với nguồn lây nhiễm FMD, các con đã được tiêm vaccin trong đàn này được chuyển ra ngoài khu vực bị nhiễm.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 thể hiện sự khác nhau về chất lượng giữa kháng nguyên được kết tủa bằng PEG và kháng nguyên được cô bằng rây rỗng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

Thuật ngữ "khoảng" hay "xấp xỉ," nếu được sử dụng cùng với biến số có thể đo được, được dùng để chỉ giá trị được nêu của biến số và chỉ tất cả các giá trị của biến số mà nằm trong khoảng sai số thử nghiệm của giá trị được nêu (ví dụ, trong khoảng tin

cây 95% của giá trị trung bình) hoặc trong khoảng 10 phần trăm của giá trị được nêu, bất kể là lớn hơn, trừ khi thuật ngữ khoảng được sử dụng cùng với khoảng thời gian trong tuần, trong đó thuật ngữ "khoảng 3 tuần," là 17 đến 25 ngày, và khoảng 2 đến khoảng 4 tuần là 10 đến 40 ngày.

Thuật ngữ "tá dược" có nghĩa là chất bất kỳ mà làm tăng đáp ứng miễn dịch tế bào hoặc thể dịch với kháng nguyên. Các tá dược thường được sử dụng nhằm thực hiện hai mục đích: giải phóng có kiểm soát kháng nguyên từ vị trí tiêm, và kích thích hệ miễn dịch.

Thuật ngữ "kháng thể" được dùng để chỉ phân tử globulin miễn dịch có thể liên kết được với một kháng nguyên đặc hiệu nhờ kết quả của đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên đó. Các globulin miễn dịch là các protein huyết thanh bao gồm các chuỗi polypeptit "nhẹ" và "nặng" có các vùng "cố định" và "biến đổi" và được chia thành các lớp (ví dụ, IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM) dựa trên thành phần của các vùng cố định.

Thuật ngữ "kháng nguyên" hay "chất sinh miễn dịch" được dùng để chỉ cơ chất bất kỳ mà được nhận diện bởi hệ miễn dịch của động vật và tạo ra đáp ứng miễn dịch. Thuật ngữ này bao gồm vi khuẩn, virus hoặc ký sinh trùng chết, được làm bất hoạt, hoặc được giảm độc lực. Thuật ngữ "kháng nguyên" cũng bao gồm các polynucleotit, polypeptit, protein tái tổ hợp, peptit tổng hợp, dịch chiết protein, tế bào (kể cả tế bào khối u), mô, polysacarit, hoặc lipid, hoặc các đoạn của chúng, riêng rẽ hoặc kết hợp với nhau. Thuật ngữ kháng nguyên cũng bao gồm kháng thể, như kháng thể kháng idiotyp hoặc các đoạn của chúng, và cả các mimotop peptit tổng hợp có thể bắt chước kháng nguyên hoặc quyết định kháng nguyên (epitop).

Thuật ngữ "dung dịch đệm" có nghĩa là hệ hóa học mà ngăn ngừa sự thay đổi nồng độ của hóa chất khác, ví dụ hệ cho và nhận proton dùng làm dung dịch đệm ngăn ngừa sự thay đổi đáng kể về nồng độ ion hydro (pH). Một ví dụ khác về dung dịch đệm là dung dịch chứa hỗn hợp của axit yếu và muối của nó (bazơ liên hợp) hoặc bazơ yếu và muối của nó (axit liên hợp).

Thuật ngữ "chủ yếu bao gồm" nếu được áp dụng cho các chế phẩm tá dược được dùng để chỉ chế phẩm mà không chứa chất điều biến miễn dịch hoặc bổ trợ khác không được viện dẫn với lượng mà tại đó chất này gây ra các tác dụng điều biến miễn dịch hoặc bổ trợ đo được.

Thuật ngữ "liều" được dùng để chỉ vaccin hoặc chế phẩm miễn dịch được đưa vào đối tượng. Thuật ngữ "liều thứ nhất" hay "vaccin liều đầu tiên" được dùng để chỉ liều của chế phẩm được dùng vào ngày 0. "Liều thứ hai" hoặc "liều thứ ba" hay "liều hằng năm" được dùng để chỉ lượng chế phẩm như vậy được dùng sau liều thứ nhất, mà có thể có hoặc không cùng loại vaccin hoặc chế phẩm miễn dịch với liều đầu tiên.

Thuật ngữ "chất nhũ hóa" được sử dụng rộng rãi trong sáng chế. Thuật ngữ này bao gồm các chất thường được chấp nhận là chất nhũ hóa, ví dụ các sản phẩm khác của dòng sản phẩm TWEEN® hoặc SPAN® (este axit béo của sorbitol được polyetoxyl hóa và chất hoạt động bề mặt sorbitan được thể axit béo, tương ứng), và các chất làm tăng độ hòa tan khác như dầu thầu dầu PEG-40 hoặc dầu được hydro hóa được PEGyl hóa khác.

Thuật ngữ "đáp ứng miễn dịch thể dịch" được dùng để chỉ đáp ứng mà do kháng thể gây ra.

Thuật ngữ "đáp ứng miễn dịch" ở đối tượng được dùng để chỉ sự phát triển của đáp ứng miễn dịch thể dịch, đáp ứng miễn dịch tế bào, hoặc đáp ứng miễn dịch thể dịch và tế bào với kháng nguyên. Các đáp ứng miễn dịch có thể thường được xác định bằng các thử nghiệm miễn dịch chuẩn và các thử nghiệm trung hòa, mà đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu về mặt miễn dịch" hay "lượng hữu hiệu để tạo ra đáp ứng miễn dịch" của một kháng nguyên là lượng hữu hiệu để gây ra đáp ứng miễn dịch ở người nhận. Đáp ứng tạo miễn dịch có thể thích hợp cho các mục đích chẩn đoán hoặc thử nghiệm khác, hoặc có thể đủ để ngăn ngừa các dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh, kể cả các tác động bất lợi đến sức khỏe hoặc các biến chứng của chúng, do bị nhiễm tác nhân gây bệnh. Tính miễn dịch thể dịch hoặc tính miễn dịch qua trung gian tế bào hoặc cả hai có thể được gây ra. Đáp ứng miễn dịch của động vật với chế phẩm gây miễn dịch có thể được đánh giá, ví dụ trực tiếp bằng cách đánh giá hiệu giá kháng thể, các thử nghiệm tăng sinh tế bào lympho, hoặc trực tiếp bằng cách kiểm soát các dấu hiệu và các triệu chứng sau khi thử với chủng kiểu đại, trong đó tính miễn dịch bảo vệ được tạo ra bởi vaccin có thể được đánh giá bằng cách định lượng, ví dụ, mức giảm các dấu hiệu lâm sàng như tỷ lệ chết, tỷ suất bệnh, nhiệt độ, tình trạng thể chất chung, và tình trạng sức khỏe và biểu hiện chung của đối tượng. Đáp ứng

miễn dịch có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc gây ra tính miễn dịch tế bào và/hoặc thể dịch.

"Sinh miễn dịch" có nghĩa là việc gây ra đáp ứng miễn dịch hoặc đáp ứng với kháng nguyên. Do đó, chế phẩm gây miễn dịch là chế phẩm gây ra đáp ứng miễn dịch.

"Chuồng bị nhiễm" được dùng để chỉ các chuồng mà có trường hợp dương tính có cơ sở hoặc trường hợp dương tính được xác nhận dựa trên các kết quả nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, các dấu hiệu lâm sàng thích hợp, xác định trường hợp mắc FMD, và các tiêu chuẩn quốc tế.

"Vùng bị nhiễm" được dùng để chỉ vùng cách vành đai của chuồng bị nhiễm được khẳng định hoặc có cơ sở trong vòng 3km.

Thuật ngữ "lipit" được dùng để chỉ hợp chất bất kỳ của nhóm các hợp chất hữu cơ, bao gồm chất béo, dầu, sáp, sterol, và triglyxerit mà không hòa tan trong nước nhưng hòa tan trong các dung môi hữu cơ không phân cực, nhòen khi chạm vào, và cùng với các cacbohydrat và protein tạo nên nguyên liệu cấu trúc chính của các tế bào sống.

Thuật ngữ "dược dụng" được dùng để chỉ các cơ chất, mà thuộc phạm vi đánh giá y học, thích hợp dùng để tiếp xúc với các mô của đối tượng mà không gây độc, kích ứng, đáp ứng dị ứng quá mức và đáp ứng tương tự, phù hợp với tỷ lệ lợi ích so với nguy cơ hợp lý, và hữu dụng cho mục đích dùng.

Thuật ngữ "TCID₅₀" được dùng để chỉ "liều gây nhiễm môi trường nuôi cấy mô" và được định nghĩa là mức pha loãng virus cần để gây nhiễm 50% mẻ môi trường nuôi cấy tế bào nhất định. Các phương pháp khác nhau có thể được sử dụng để tính toán TCID₅₀, bao gồm phương pháp Spearman-Kärber mà được sử dụng xuyên suốt bản mô tả này. Đối với mô tả phương pháp Spearman-Kärber, xem tài liệu B. W. Mahy & H. O. Kangro, *Virology Methods Manual*, p. 25-46 (1996).

Động vật mang bệnh hoặc bị nhiễm bệnh dai dẳng là các động vật phát tán virus FMD sau 28 ngày sau khi bị nhiễm hoặc khởi phát bệnh lâm sàng.

Các chế phẩm tá dược và phương pháp bào chế

Sáng chế đề cập đến một vài chế phẩm tá dược thích hợp với sáng chế. Đặc điểm chung của các chế phẩm tá dược này là sự có mặt của dầu và một hoặc nhiều

chất nhũ hóa, trong đó pha dầu chiếm ít nhất 50% của chế phẩm vacxin bao gồm các chế phẩm tá dược được mô tả trong đó.

Nhiều loại dầu và hỗn hợp của chúng là thích hợp để sử dụng trong sáng chế. Các loại dầu này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dầu động vật, dầu thực vật, cũng như là dầu không thể chuyển hóa. Các ví dụ không giới hạn về các dầu thực vật thích hợp trong sáng chế là dầu ngô, dầu lạc, dầu đậu nành, dầu dừa, và dầu oliu. Một ví dụ không giới hạn về dầu động vật là squalan. Các ví dụ không giới hạn thích hợp về các dầu không thể chuyển hóa bao gồm dầu khoáng nhẹ, dầu bão hòa mạch thẳng hoặc mạch nhánh, và dầu tương tự.

Theo một vài phương án, dầu được sử dụng trong các chế phẩm tá dược theo sáng chế là dầu khoáng nhẹ. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "dầu khoáng" được dùng để chỉ hỗn hợp các hydrocacbon lỏng thu được từ vazolin vàng nhờ kỹ thuật chưng cất. Thuật ngữ này đồng nghĩa với thuật ngữ "parafin lỏng", "vazolin vàng lỏng" và "dầu khoáng trắng." Thuật ngữ này cũng được dự định bao gồm "dầu khoáng nhẹ," tức là, dầu mà tương tự thu được bằng cách chưng cất vazolin vàng, nhưng có tỷ trọng riêng thấp hơn một chút so với dầu khoáng trắng. Ví dụ, xem tài liệu, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1990, at pages 788 và 1323). Dầu khoáng có thể thu được từ các nguồn khác nhau trên thị trường, ví dụ, J. T. Baker (Phillipsburg, Pa.) hoặc USB Corporation (Cleveland, Ohio). Dầu khoáng được ưu tiên là dầu khoáng nhẹ sẵn có trên thị trường dưới tên DRAKEOL®.

Theo các phương án nhất định đặc biệt thích hợp để ngăn ngừa hoặc làm giảm sự dai dẳng của bệnh FMD, pha dầu có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 50% đến 95% thể tích; tốt hơn là, với lượng lớn hơn khoảng từ 50% đến 85%; tốt hơn nữa, với lượng lớn hơn khoảng từ 50% đến 60%, và tốt hơn nữa với lượng lớn hơn khoảng từ khoảng 50 đến 52% thể tích/thể tích của chế phẩm vacxin. Pha dầu bao gồm dầu và các chất nhũ hóa (ví dụ, SPAN® 80, TWEEN® 80, v.v.), nếu các chất nhũ hóa bất kỳ này có mặt. Thể tích của pha dầu được tính là tổng thể tích của dầu và (các) chất nhũ hóa. Do đó, ví dụ, nếu thể tích của dầu là 40% và thể tích của (các) chất nhũ hóa là 12% của chế phẩm, thì pha dầu sẽ có mặt với lượng 52% thể tích/thể tích của chế phẩm. Tương tự, nếu dầu có mặt với lượng 45% và (các) chất nhũ hóa có mặt với

lượng 6% của chế phẩm, thì pha dầu có mặt với lượng 51% thể tích/thể tích của chế phẩm.

Cũng cần hiểu rằng vì các tá dược theo sáng chế chỉ là một phần của vaccin theo sáng chế, nên pha dầu có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 50% đến 95% thể tích; tốt hơn là, với lượng lớn hơn khoảng từ 50% đến 85%; tốt hơn là, với lượng nằm trong khoảng từ 50% đến 60%, và tốt hơn nữa là với lượng nằm trong khoảng từ 50 đến 52% thể tích/thể tích của mỗi tá dược theo sáng chế.

Theo một vài phương án, phần trăm thể tích của dầu cùng với chất nhũ hóa hòa tan trong dầu ít nhất là 50%, ví dụ, từ 50% đến 95% thể tích; tốt hơn là, với lượng lớn hơn khoảng từ 50% đến 85%; tốt hơn nữa là, với lượng nằm trong khoảng từ 50% đến 60%, và tốt hơn nữa là với lượng nằm trong khoảng từ 50 đến 52% thể tích/thể tích của chế phẩm vaccin. Do đó, ví dụ nhưng không chỉ giới hạn ở, dầu có thể có mặt với lượng 45% và chất nhũ hóa hòa tan trong lipid có mặt với lượng lớn hơn 5% thể tích/thể tích. Do đó, phần trăm thể tích của dầu cùng với chất nhũ hóa hòa tan trong dầu ít nhất là 50%.

Theo các phương án khác, phần trăm thể tích của dầu là hơn 40%, ví dụ, từ 40% đến 90% thể tích; từ 40% đến 85%; từ 43% đến 60%, từ 44 đến 50% thể tích/thể tích của chế phẩm vaccin có thể áp dụng cho tất cả các vaccin theo sáng chế.

Các chất nhũ hóa thích hợp để sử dụng trong các nhũ tương theo sáng chế bao gồm các chất nhũ hóa tương thích sinh học tự nhiên và các chất hoạt động bề mặt tổng hợp không tự nhiên. Các chất nhũ hóa tương thích sinh học bao gồm các hợp chất phospholipit hoặc hỗn hợp của các phospholipit. Các phospholipit được ưu tiên là phosphatidylcholin (lexithin), như lexithin đậu tương hoặc trứng. Lexithin có thể thu được ở dạng hỗn hợp của phosphatit và triglyxerit bằng cách rửa bằng nước dầu thực vật thô, và tách và làm khô các gom được hydrat thu được. Sản phẩm tinh chế có thể thu được bằng cách phân đoạn hỗn hợp đối với các phospholipit không hòa tan trong axeton và glycolipit còn lại sau khi loại bỏ các triglyxerit và dầu thực vật bằng cách rửa bằng axeton. Theo cách khác, lexithin có thể thu được từ nhiều nguồn khác nhau trên thị trường. Các phospholipit thích hợp khác bao gồm phosphatidylglyxerol, phosphatidylinositol, phosphatidylserin, axit phosphatidic, cardiolipin, và

phosphatidyletanolamin. Các phospholipit này có thể được phân lập từ các nguồn trong tự nhiên hoặc được tổng hợp thông thường.

Theo các phương án khác, các chất nhũ hóa được sử dụng ở đây không bao gồm lexithin, hay sử dụng lexithin với lượng mà không có tác dụng miễn dịch.

Các chất nhũ hóa tổng hợp, không tự nhiên thích hợp để sử dụng trong các chế phẩm tá dược theo sáng chế bao gồm các chất hoạt động bề mặt không ion trên cơ sở sorbitan, ví dụ các chất hoạt động bề mặt sorbitan được thể axit béo (sẵn có trên thị trường dưới tên SPAN® hoặc ARLACEL®), các este axit béo của sorbitol được polyetoxyl hóa (TWEEN®), các este polyetylen glycol của axit béo từ các nguồn như dầu thầu dầu (EMULFOR®); axit béo được polyetoxyl hóa (ví dụ, axit stearic sẵn có dưới tên SIMULSOL® M-53), polyme isooctylphenol/formaldehyt được polyetoxyl hóa (TYLOXAPOL®), ete hydroxyl béo polyoxyetylen (BRIJ®); ete không phenyl polyoxyetylen (TRITON® N), ete polyoxyetylen isooctylphenyl (TRITON® X). Các chất hoạt động bề mặt tổng hợp được ưu tiên là các chất hoạt động bề mặt sẵn có dưới tên SPAN® và TWEEN®, như TWEEN®-80 (Polyoxyetylen (20) sorbitan monoleat) và SPAN®-80 (sorbitan monoleat).

Nói chung, (các) chất nhũ hóa có thể có mặt trong chế phẩm vaccin với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 40% thể tích, tốt hơn là, với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 15%, tốt hơn nữa là với lượng nằm trong khoảng từ 2% đến 10%.

Các thành phần khác có mặt trong các chế phẩm tá dược theo sáng chế bao gồm các chất mang cation, oligonucleotit kích thích miễn dịch, monophospholipit A và các chất đồng đẳng của chúng (MPL-A), polyinosinic:axit polyxytidylic (poly I:C), saponin, amoni bậc bốn, sterol, glycolipit, nguồn nhôm (ví dụ, REHYDRAGEL® hoặc gel ước VAC 20®) và tổ hợp của chúng.

Các chất mang cation thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dextran, Dextran DEAE (và các dẫn xuất của chúng), PEG, gôm guar, các dẫn xuất chitosan, các dẫn xuất polyxenluloza như hydroxyetyl xenluloza (HEC) polyetylenimin, poly amino như polylysin và chất mang tương tự.

Oligonucleotit kích thích miễn dịch thích hợp bao gồm các oligonucleotit ODN (trên cơ sở ADN), ORN (trên cơ sở ARN), hoặc các cấu trúc khảm ODN-ORN, mà có thể được cải biến khung bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các cải biến

phosphorothioat, halogen hóa, alkyl hóa (ví dụ, các cải biến etyl hoặc metyl), và các cải biến phosphodiester. Theo một vài phương án, axit polyinosinic-cytidylic hoặc dẫn xuất của chúng (poly I:C) có thể được sử dụng.

Các oligonucleotit CpG là một nhóm các chất điều trị dược học mới đây được mô tả mà được đặc trưng bởi sự có mặt của dinucleotit CG không được metyl hóa trong trình tự bazơ cụ thể (motip CpG). (Hansel TT, Barnes PJ (eds): *New Drugs for Asthma, Allergy và COPD*. Prog Respir Res. Basel, Karger, 2001, vol 31, pp 229-232, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Các motip CpG này không được thấy ở ADN của tế bào có nhân thực, trong đó các dinucleotit CG được loại bỏ và, nếu có mặt, thường được metyl hóa, nhưng có mặt trong ADN vi khuẩn mà chúng tạo ra các đặc tính kích thích miễn dịch.

Theo các phương án được chọn, các tá dược theo sáng chế sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch được gọi là nhóm P, cụ thể hơn là, oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P đã cải biến, thậm chí tốt hơn nữa là, các oligonucleotit nhóm P được cải biến E. Oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P là các oligonucleotit CpG được đặc trưng bởi sự có mặt của palindrom, thường có chiều dài từ 6 đến 20 nucleotit. Các oligonucleotit nhóm P có khả năng tự lắp ghép tự phát thành các concatame in vitro và/hoặc in vivo. Các oligonucleotit này là, theo nghĩa hạn chế, có mạch đơn, nhưng sự có mặt của palindrom cho phép tạo thành các concatame hoặc cấu trúc thân và vòng có thể có. Tổng chiều dài của oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P là nằm trong khoảng từ 19 đến 100 nucleotit, ví dụ, từ 19 đến 30 nucleotit, nằm trong khoảng từ 30 đến 40 nucleotit, nằm trong khoảng từ 40 đến 50 nucleotit, nằm trong khoảng từ 50 đến 60 nucleotit, nằm trong khoảng từ 60 đến 70 nucleotit, nằm trong khoảng từ 70 đến 80 nucleotit, nằm trong khoảng từ 80 đến 90 nucleotit, nằm trong khoảng từ 90 đến 100 nucleotit.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa vùng hoạt hóa 5' TLR và ít nhất hai vùng lặp đảo, một vùng lặp đảo là vùng lặp đảo ở đầu 5' có chiều dài gồm ít nhất 6 nucleotit và được nối với vùng lặp đảo ở đầu 3' có chiều dài gồm ít nhất 8 nucleotit hoặc trực tiếp với nhau hoặc qua một đoạn đệm.

Oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P có thể được cải biến bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, cải biến J được dùng để chỉ các

nucleotit được cải biến iodo. Cải biến E được dùng để chỉ các nucleotit được cải biến etyl. Do đó, oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P được cải biến E là oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P, trong đó ít nhất một nucleotit (tốt hơn là 5' nucleotit) được etyl hóa. Các cải biến khác bao gồm gắn 6-nitro-benzimidazol, O-metyl hóa, cải biến bằng proynyl-dU, cải biến bằng inosin, gắn 2-bromovinyl (tốt hơn là uridin).

Oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P cũng có thể chứa liên kết nội nucleotit cải biến bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các liên kết phosphodiester và các liên kết phosphorothioat. Các oligonucleotit theo sáng chế cũng có thể được tổng hợp hoặc thu được từ các nguồn trên thị trường.

Các oligonucleotit nhóm P và các oligonucleotit nhóm P được cải biến còn được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2008/068638, được công bố ngày 12/6/2008. Các ví dụ không giới hạn về các oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P được đề xuất dưới đây (“*” được dùng để chỉ liên kết phosphorothioat và “-” được dùng để chỉ liên kết phosphodiester).

SEQ ID NO: 1	5' T*C-G*T*C-G*A*C-G*A*T*C-G*G*C*G*C-G*C*G*C*C*G 3'
SEQ ID NO: 2	5' T*C-G*A*C*G*T*C*G*A*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*C*G 3'
SEQ ID NO: 3	5' T*C*G*A*C*G*T*C*G*A*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*C*G*T 3'
SEQ ID NO: 4	5' JU*C-G*A*C*G*T*C*G*A*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*C*G 3'
SEQ ID NO: 5	5' JU*C-G*A*C*G*T*C*G*A*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*C* G*T 3'
SEQ ID NO: 6	5' JU*C*G*A*C*G*T*C*G*A*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*C* G*T 3'
SEQ ID NO: 7	5' EU*C-G*A*C*G*T*C*G*A*T*C*G*G*C*G*C*G*C*G*C*C*G 3'
SEQ ID NO: 8	5' JU*C-G*T*C*G*A*C*G*A*T*C*G*G*C*G*G*C*C*G*C*C* G*T 3'
SEQ ID NO: 9	5' JU*C*G*T*C*G*A*C*G*A*T*C*G*G*C*G*G*C*C*G*C*C* G*T 3'
SEQ ID NO: 10	5' T*C-G*T*C-G*A*C-G*A*T*C-G*G*C*G*C-G*C*G*C*C*G 3'
SEQ ID NO: 11	5'-UUGUUGUUGUUGUUGUUGUU-3'
SEQ ID NO: 12	5'-UUAUUAUUAUUAUUAUUAUU-3'
SEQ ID NO: 13	5'-AAACGCUCAGCCAAAGCAG-3'
SEQ ID NO: 14	dTdTdCdGdTdTdTdTdTdTdTdTdTdTdTdTdTdTdTdTdT-3'

Lượng oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P dùng trong các chế phẩm tá được tùy thuộc vào bản chất của oligonucleotit kích thích miễn dịch nhóm P được dùng và đối tượng dự định dùng.

Ngoài dầu và (các) chất nhũ hóa, các chế phẩm tá dược cũng chứa (hoặc hầu như chứa, hoặc chứa) hỗn hợp của oligonucleotit kích thích miễn dịch và chất mang đa cation. Các tá dược này được dùng để chỉ là “TXO”.

Theo các phương án, các tá dược TXO cũng có thể bao gồm nguồn nhôm, như gel $\text{Al}(\text{OH})_3$. Các tá dược TXO có nhôm cũng được dùng để chỉ là “TXO-A”.

Theo các phương án, các tá dược TXO và TXO-A có thể tùy ý chứa sterol, như, ví dụ, cholesterol, lanosterol, stigmasterol, v.v.. Các tá dược TXO và TXO-A chứa sterol này cũng lần lượt được gọi là TCXO và TCXO-A. Sterol tùy ý có mặt này có thể có mặt với lượng lên đến $1000\mu\text{g}$ (ví dụ, $100\text{-}1000\mu\text{g}$, $200\text{-}1000\mu\text{g}$, $250\text{-}700\mu\text{g}$, hoặc $400\text{-}500\mu\text{g}$) mỗi liều.

Theo các phương án, trong các tá dược TXO, oligonucleotit kích thích miễn dịch, tốt hơn là ODN, tốt hơn nữa là chứa trình tự lặp đảo, và tùy ý có khung được cải biến, có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ $5\text{-}400\mu\text{g}$ mỗi liều, và chất mang đa cation có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ $5\text{-}400\text{mg}$ mỗi liều.

Ví dụ, theo các phương án nhất định, một liều TXO sẽ chứa từ 5 đến $400\mu\text{g}$ mỗi liều (ví dụ, $6,25\text{-}200\mu\text{g}$ hoặc $6,25\text{-}100\mu\text{g}$ hoặc $6,25\text{-}50\mu\text{g}$ hoặc $6,25\text{-}25\mu\text{g}$ hoặc $6,25\text{-}10\mu\text{g}$ hoặc $10\text{-}200\mu\text{g}$ hoặc $25\text{-}200\mu\text{g}$ hoặc $25\text{-}100\mu\text{g}$ hoặc $25\text{-}50\mu\text{g}$ hoặc $25\text{-}100\mu\text{g}$ hoặc $50\text{-}100\mu\text{g}$ mỗi liều) oligonucleotit kích thích miễn dịch, và chất mang đa cation có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 500mg mỗi liều (ví dụ, $6,25\text{-}200\text{mg}$ hoặc $6,25\text{-}100\text{mg}$ hoặc $6,25\text{-}50\text{mg}$ hoặc $6,25\text{-}25\text{mg}$ hoặc $6,25\text{-}10\text{mg}$ hoặc $10\text{-}200\text{mg}$ hoặc $25\text{-}200\text{mg}$ hoặc $25\text{-}100\text{mg}$ hoặc $25\text{-}50\text{mg}$ hoặc $25\text{-}100\text{mg}$ hoặc $50\text{-}100\text{mg}$ mỗi liều).

Theo các phương án nhất định, tá dược TXO được bào chế như sau:

- a) Sorbitan monooleat được hòa tan trong dầu khoáng nhẹ. Dung dịch dầu thu được được lọc vô trùng;
- b) Oligonucleotit kích thích miễn dịch, Dextran DEAE và polyoxyetylen (20) sorbitan monooleat được hòa tan trong pha nước, nhờ đó tạo ra dung dịch nước; và
- c) Dung dịch nước được bổ sung vào dung dịch dầu trong điều kiện làm đồng nhất liên tục nhờ đó tạo thành chế phẩm tá dược TXO.

Theo các phương án, trong tá dược TXO-A, oligonucleotit kích thích miễn dịch có mặt trong tá dược TXO, nguồn nhôm có mặt với lượng lên đến 40% thể tích/thể tích (ví dụ, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 1%). Theo các phương án, nguồn nhôm có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 2% đến 20% thể tích/thể tích chế phẩm vaccin, tốt hơn nữa có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 17% thể tích/thể tích.

Theo các phương án nhất định, các tá dược TXO-A được bào chế tương tự với các tá dược TXO, và nguồn nhôm được bổ sung vào dung dịch nước.

Trong quy trình bào chế các tá dược TCXO và TCXO-A, cholesterol được hòa tan trong dung dịch dầu, và các bước khác tạo TCXO và TCXO-A là tương tự với các bước được sử dụng để bào chế TXO và TXO-A, tương ứng.

Kháng nguyên

Các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng các tá dược theo sáng chế có khả năng bảo vệ hiệu quả bệnh lở mồm long móng ngay cả khi liều kháng nguyên được giảm từ 10µg virus FMD xuống 0,5µg. Do đó, theo các phương án khác của sáng chế, lượng virus FMD có thể là 0,5µg, 1µg, 2µg, 3µg, 4µg, 5µg, 6µg, 7µg, 8µg, 9µg hoặc 10µg. Lượng kháng nguyên có thể nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1µg, nằm trong khoảng từ 1 đến 2µg, nằm trong khoảng từ 2 đến 3µg, nằm trong khoảng từ 3 đến 4 µg, nằm trong khoảng từ 4 đến 5µg, nằm trong khoảng từ 5 đến 6µg, nằm trong khoảng từ 6 đến 8µg, nằm trong khoảng từ 8 đến 10µg virus FMD (140 hạt S).

Hiện nay, bảy typ huyết thanh của FMD đã được phân lập. Trong số bảy typ huyết thanh của virus này, A, C, O, Asia 1, và SAT3 dường như là các dòng riêng biệt; SAT 1 và SAT 2 là các nhánh chưa được giải đáp. Trong mỗi biến thể huyết thanh, tồn tại nhiều chủng. Ví dụ, A24 Cruzeiro thuộc typ huyết thanh A, và O1 Campos thuộc typ huyết thanh O.

Virus FMD thuộc typ huyết thanh bất kỳ có thể được sử dụng làm kháng nguyên trong sáng chế, miễn là virus này không gây bệnh. Khả năng gây bệnh có thể được làm giảm bằng cách làm bất hoạt virus, ví dụ, xử lý bằng formaldehyt hoặc BEI.

Theo các phương án nhất định, virus có thể được giảm độc lực bằng cách cấy chuyển giống hoặc bằng cách tái tổ hợp. Trước đây đã được chứng minh rằng, ví dụ,

việc loại bỏ vùng mã hóa protein dẫn L^{pro} sẽ làm giảm độc lực virus FMD ở gia súc và lợn. Ví dụ, xem tài liệu US5,824,316, US 8,765,141, *Virology* 1997 227(1): 96-102, J.Virol 2012 86:11675-11685. Các đột biến điểm ở các vị trí 55 và 58 trong vùng SAP của protein L cũng tạo ra virus có thể tồn tại biểu hiện kiểu hình được giảm độc lực nhẹ trong môi trường nuôi cấy tế bào và có khả năng bảo vệ ở mô hình FMD ở lợn. Xem patent Mỹ số 8,846,057.

Theo các phương án nhất định, virus này cũng chứa chỉ thị kháng nguyên âm tính để thực hiện các thử nghiệm DIVA (thử nghiệm phân biệt giữa các con bị nhiễm với các con được tiêm vaccin). Theo các phương án nhất định, chỉ thị kháng nguyên âm tính được đưa vào các protein 3D và/hoặc 3B. Ví dụ, xem SEQ ID NO 19, 20, 21, 22.

Giống như các virus khác, virus FMD liên tục tiến hóa và đột biến, do đó một trong số những khó khăn khi tiêm chủng chống lại virus này là sự biến đổi lớn, giữa và thậm chí trong, các typ huyết thanh. Không có sự bảo vệ chéo giữa các typ huyết thanh (vaccin của một typ huyết thanh sẽ không bảo vệ chống lại được các typ huyết thanh khác bất kỳ) và ngoài ra, hai chủng trong một typ huyết thanh nhất định có thể có các trình tự nucleotit khác nhau đến 30% đối với một gen nhất định. Điều này có nghĩa là các vaccin FMD phải rất đặc hiệu với chủng có liên quan.

Do đó, theo các phương án nhất định, các vị trí giới hạn endonucleaza được đưa vào bộ gen của virus, nhờ đó cho phép tạo ra các protein (ví dụ, protein tạo vỏ capsit ngoài) từ các chủng FMD khác loài.

Theo các phương án nhất định, thành phần kháng nguyên là chủng FMD A24 Cruzeiro, mà có thể tùy ý được cải biến bằng cách loại bỏ protein dẫn, gây đột biến chỉ thị âm tính ở các protein 3B và/hoặc 3D, và bằng cách đưa các vị trí endonucleaza giới hạn để dễ dàng đưa vào các trình tự của kháng nguyên (ví dụ, protein capsit) từ các chủng khác loài. Ví dụ không giới hạn thích hợp về các kháng nguyên được mô tả trong patent Mỹ số US 8,765,141. Các trình tự ADN tương ứng với bộ gen ARN của FMDV được cải biến di truyền được đề xuất trong SEQ ID NO: 15 (A₂₄LL3D_{YR}) và SEQ ID NO: 17 (A₂₄LL3B_{PVKV}3D_{YR}). Do đó, trình tự ADN bổ sung với trình tự ADN nêu trong ví dụ, SEQ ID NO: 15 là khuôn mẫu cho, tức là bổ sung với hoặc "mã hóa", bộ gen ARN của virus FMDV (tức là, ARN mà mã hóa FMDV). Theo các phương án

nhất định, virus này bao gồm (các) protein capsit của các chủng FMD khác loài (tức là, các chủng của FMD ngoài A24 Cruzeiro, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, các chủng của dòng C, O, Asia 1, SAT3, SAT 1 và SAT 2, Turkey 06 và các chủng khác của dòng A). Các ví dụ không giới hạn về các kháng nguyên khác loài này được minh họa trong SEQ ID NO: 23 (Asia1-A₂₄LL3B_{PVKV}3D_{YR}) và SEQ ID NO: 24 (A/Turkey/06-A₂₄LL3B_{PVKV}3D_{YR}). Ngoài ra, O1 campos-A₂₄LL3B_{PVKV}3D_{YR} (bộ gen đầy đủ, cũng được dùng để chỉ là O1campos), C3 Indaial-A₂₄LL3B_{PVKV}3D_{YR} (bộ gen đầy đủ), và Argentina 2001 iso93 capsit (capsit và một phần trình tự 2A) được đề cập trong SEQ ID NOs 25, 26, và 27, tương ứng.

Các biến thể của các kháng nguyên này cũng được mô tả. Các biến thể này ít nhất tương đồng 80% (ví dụ, tương đồng 85%, tương đồng 90%, tương đồng 95%, tương đồng 96%, tương đồng 97%, tương đồng 98% hoặc tương đồng 99%) với trình tự tham chiếu sử dụng một trong số các chương trình sắp thẳng hàng được mô tả bằng cách sử dụng các thông số chuẩn. Nhiều công cụ sắp thẳng hàng là sẵn có để xác định mức tương đồng trình tự, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, BLAST, CLUSTAL hoặc PHILIP.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng các giá trị này có thể được điều chỉnh thích hợp để xác định sự tương đồng tương ứng của các protein được mã hóa bởi hai trình tự nucleotit bằng cách tính đến sự thoái hóa codon, sự tương đồng axit amin, sự định vị khung đọc mở, và yếu tố tương tự.

Theo các phương án nhất định, các biến thể chứa nhiều hơn các trình tự axit amin hoặc nucleotit được lấy làm ví dụ cụ thể và bao gồm các dạng tương đương về chức năng của chúng. Các thay đổi trong đoạn axit nucleic tạo ra axit amin tương đương về mặt hóa học ở vị trí nhất định, nhưng không làm ảnh hưởng đến các đặc tính chức năng của polypeptit được mã hóa, là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Vì thế, codon mã hóa cho axit amin alanin, axit amin kỵ nước, có thể được thay thế bằng codon mã hóa gốc kỵ nước kém hơn khác, như glyxin, hoặc gốc kỵ nước nhiều hơn, như valin, leuxin, hoặc isoleuxin. Tương tự, các thay đổi mà dẫn đến làm thay thế một gốc mang điện tích âm cho một gốc khác, như axit aspartic cho axit glutamic, hoặc một gốc mang điện tích dương cho một gốc khác, như lysin cho arginin, cũng có thể được cho là tạo ra sản phẩm có chức năng tương đương. Các thay đổi nucleotit mà dẫn

đến làm thay đổi các phần đầu N và đầu C của phân tử polypeptit cũng không được cho là làm thay đổi hoạt tính của polypeptit. Mỗi trong số các cải biến được đề cập là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, như là quyết định giữ lại hoạt tính sinh học của sản phẩm được mã hóa.

Các polypeptit theo sáng chế cũng có thể được thay đổi bằng nhiều cách khác nhau bao gồm thay thế, mất, cắt cụt và cài axit amin. Các protein mới có các đặc tính quan tâm có thể được tạo ra bằng cách kết hợp các yếu tố và các đoạn của các protein theo sáng chế, cũng như là với các protein khác. Các phương pháp thao tác như vậy thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Do đó, các gen và các trình tự nucleotit theo sáng chế bao gồm cả các trình tự có nguồn gốc trong tự nhiên cũng như là các dạng đột biến. Mặt khác, các protein theo sáng chế bao gồm các protein có nguồn gốc trong tự nhiên cũng như là các dạng biến đổi và các dạng được cải biến của chúng. Các biến thể như vậy sẽ vẫn có các hoạt tính được cải biến mong muốn của virus FMD bố mẹ. Các đột biến mà sẽ xảy ra trong ADN mã hóa biến thể phải không đặt trình tự này ngoài khung đọc và tốt hơn là không tạo ra các vùng bổ sung mà có thể tạo ra cấu trúc mARN thứ cấp.

Phương pháp nuôi và tinh chế kháng nguyên thích hợp theo sáng chế là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lọc bằng sợi rỗng và kết tủa bằng PEG. Các phương pháp này tạo ra các chế phẩm kháng nguyên hơi khác nhau. Ví dụ, trong phương pháp kết tủa PEG, chế phẩm kháng nguyên được làm nghèo các protein không cấu trúc. Theo các phương pháp khác, như, ví dụ, lọc bằng sợi rỗng, chế phẩm kháng nguyên chứa cả protein FMD cấu trúc và không cấu trúc. Do đó, theo một vài phương án, kháng nguyên FMD bao gồm các protein cấu trúc. Theo các phương án khác, như, ví dụ, nếu kháng nguyên FMD được bào chế bằng cách lọc bằng sợi rỗng, thì kháng nguyên FMD bao gồm cả các protein cấu trúc và không cấu trúc, cụ thể là protein 3D.

Sử dụng các nền tảng vaccin hiện nay, không có các chỉ thị kháng nguyên bên trong để phân biệt các con đã tiêm chủng với các con bị nhiễm, việc loại bỏ các protein không cấu trúc là mong muốn vì việc này vẫn còn cần do thực tế là sự có mặt của các kháng thể kháng protein không cấu trúc giúp phân biệt các con bị nhiễm. Tuy nhiên, trong trường hợp nền tảng FMDLL3B3D, sự có mặt của protein không cấu trúc trong

chế phẩm kháng nguyên không ngăn cản sự phân biệt giữa con đã tiêm chủng và con bị nhiễm. Trong trường hợp này chế phẩm kháng nguyên theo sáng chế chứa protein không cấu trúc và tá dược vừa đem lại khả năng bảo vệ chống lại bệnh lâm sàng ở các liều thấp hơn so với các chế phẩm kháng nguyên đã tinh chế vừa ngăn ngừa hiệu quả hơn sự xuất hiện các bệnh truyền nhiễm dai dẳng ở động vật nhai lại.

Chế phẩm

Chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế theo cách thông thường bao gồm các chất mang dùng được cho động vật, kể cả người, như các dung dịch đệm chuẩn, chất làm ổn định, chất pha loãng, chất bảo quản, và/hoặc chất hòa tan, và cũng có thể được bào chế để giải phóng kéo dài. Các chất pha loãng bao gồm nước, dung dịch nước muối, dextroza, etanol, glyxerol, và chất pha loãng tương tự. Các chất phụ gia để làm đẳng trương bao gồm natri clorua, dextroza, manitol, sorbitol, và lactoza, trong số các chất khác. Các chất làm ổn định bao gồm albumin, trong số các chất khác. Các chất dẫn và các chất phụ gia thích hợp khác, bao gồm các chất mà đặc biệt hữu dụng để bào chế các vaccin sống được biến đổi, là đã biết hoặc rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem tài liệu, Remington's Pharmaceutical Science, 18th ed., 1990, Mack Publishing, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa một hoặc nhiều thành phần điều biến miễn dịch khác như, ví dụ, tá dược khác hoặc xytokin, trong số các thành phần điều biến miễn dịch khác. Các ví dụ không giới hạn về các tá dược khác mà có thể được sử dụng trong vaccin theo sáng chế bao gồm hệ tá dược RIBI (Ribi Inc., Hamilton, Mont.), tá dược đầy đủ và không đầy đủ của Freund, copolyme khối (CytRx, Atlanta Ga.), QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge Mass.), SAF-M (Chiron, Emeryville Calif.), tá dược AMPHIGEN®, saponin, Quil A hoặc phần saponin khác, monophosphoryl lipit A, và tá dược Avridin lipit-amin. Các chất điều biến miễn dịch khác mà có thể được bao gồm trong vaccin bao gồm, ví dụ, một hoặc nhiều interleukin, interferon, hoặc các xytokin đã biết khác.

Các đường sử dụng chế phẩm tá dược bao gồm ngoài đường tiêu hóa, đường miệng, đường mũi miệng, đường trong mũi, đường trong khí quản, đường khu trú, đường dưới da, đường trong cơ, đường qua da, đường trong da, đường trong màng

bụng, đường trong mắt, đường trong tĩnh mạch, và đường sử dụng dưới lưỡi. Dụng cụ thích hợp bất kỳ có thể được dùng để sử dụng chế phẩm này, bao gồm bơm tiêm, ống nhỏ giọt, thiết bị tiêm không kim, miếng dán, và dụng cụ tương tự. Đường và dụng cụ được chọn để dùng sẽ tùy thuộc vào chế phẩm chứa tá dược, kháng nguyên, và đối tượng, và đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Trong trường hợp khả năng lây nhiễm FMD cao, các biện pháp cần được tính đến để ngăn chặn và/hoặc loại trừ sự bùng phát FMD được kiểm soát bởi các cơ quan có thẩm quyền, như, ví dụ, bộ nông nghiệp và được phê chuẩn bởi các cơ quan quốc tế như OIE (văn phòng quốc tế về bệnh dịch động vật). Các biện pháp cần được thực hiện khi bùng phát bệnh bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ngừng vận chuyển động vật, kiểm soát hiệu quả việc vận chuyển các sản phẩm từ động vật, kể cả sữa, thịt, da, v.v., chính sách diệt trừ bệnh dịch (giết mổ động vật trong đàn bị nhiễm bệnh, và, nếu thích hợp, các con trong đàn khác bị phơi nhiễm với sự lây nhiễm do tiếp xúc trực tiếp động vật với động vật, hoặc tiếp xúc gián tiếp với tác nhân gây bệnh). Thông thường các con trong đàn lân cận được tiêm vacxin sau đó giết mổ.

Các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng các chế phẩm gây miễn dịch nhất định được mô tả ở đây ngăn ngừa sự dai dẳng, mà được định nghĩa là sự có mặt hoặc phát tán FMD trong thời gian hơn 28 ngày sau khi bị nhiễm. Theo các phương án nhất định, chế phẩm gây miễn dịch này chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá dược, trong đó thành phần tá dược bao gồm (hoặc về cơ bản bao gồm hoặc bao gồm) nhũ tương bao gồm pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch, oligonucleotit kích thích miễn dịch với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200 μ g mỗi liều, và polyme đa cation với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200mg mỗi liều; và thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD với lượng tương đương với ít nhất 6 μ g virus FMD mỗi liều.

Theo các phương án nhất định, kháng nguyên có thể có mặt với lượng tương đương với 6-20 μ g virus FMD mỗi liều, ví dụ, 8-20, 10-20, 12-20, 14-20, 16-20, 18-20, 6-10, 6-12, 6-18, 8-12, hoặc 8-10 μ g virus FMD mỗi liều. Lượng oligonucleotit kích thích miễn dịch có thể là, ví dụ, 75-100, 75-125, 75-150, 75-150, 100-200, 100-150, 125-200, 125-175 hoặc 125-150 μ g mỗi liều. Polyme đa cation có thể có mặt với

lượng, ví dụ, 75-100, 75-125, 75-150, 75-150, 100-200, 100-150, 125-200, 125-175 hoặc 125-150mg mỗi liều.

Do đó, sáng chế cũng đề xuất phương pháp làm giảm tần suất dai dẳng của bệnh FMD ở loài gặm nhấm bị bệnh FMD bao gồm cho động vật gặm nhấm này sử dụng chế phẩm gây miễn dịch mà chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được trước khi bị nhiễm, trong đó thành phần tá được bao gồm (hoặc về cơ bản bao gồm hoặc bao gồm) nhũ tương chứa pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch này, oligonucleotit kích thích miễn dịch với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200 μ g mỗi liều, và polyme đa cation với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200mg mỗi liều; và thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD với lượng tương đương với ít nhất 6 μ g virus FMD mỗi liều.

Theo các phương án khác, lượng kháng nguyên có thể tương đương với 6 đến 20 μ g virus FMD mỗi liều, ví dụ, 8-20, 10-20, 12-20, 14-20, 16-20, 18-20, 6-10, 6-12, 6-18, 8-12, hoặc 8-10 μ g virus FMD mỗi liều. Lượng oligonucleotit kích thích miễn dịch có thể là ví dụ, 75-100, 75-125, 75-150, 75-150, 100-200, 100-150, 125-200, 125-175 hoặc 125-150 μ g mỗi liều. Polyme đa cation có thể có mặt với lượng, ví dụ, 75-100, 75-125, 75-150, 75-150, 100-200, 100-150, 125-200, 125-175 hoặc 125-150mg mỗi liều.

Sử dụng các chế phẩm gây miễn dịch này cho động vật nhai lại (ví dụ, gia súc, cừu, lạc đà, v.v.) cho phép thay đổi các thực hành quản lý đàn. Theo các phương án nhất định, các con đã tiêm chủng trong đàn không được giết mổ sau khi nghi ngờ tiếp xúc với virus FMD.

Theo các phương án khác, các con đã tiêm chủng được cách ly trong một thời gian ngắn. Do đó, theo các phương án nhất định, các con bị nghi ngờ tiếp xúc với FMD có thể được cách ly trong thời gian ít hơn 30 ngày, ví dụ, 28 ngày, hoặc 29 ngày.

Ngoài ra, việc chỉ định một vùng là vùng cách ly có nghĩa là các hạn chế về việc cấm vận chuyển động vật hoặc sản phẩm động vật khỏi vùng cách ly rất nghiêm ngặt, thường là, 30 ngày hoặc hơn 30 ngày. Do đó, theo các phương án nhất định, các con bị nghi ngờ tiếp xúc với FMD có thể được vận chuyển khỏi vùng cách ly trong ít hơn 30 ngày, ví dụ, 28 ngày hoặc 29 ngày kể từ ngày nghi ngờ tiếp xúc với FMD.

Theo các phương án, trong đó thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD được thao tác di truyền, ví dụ, như được mô tả trên đây, có thể phân biệt con đã tiêm chủng với con bị nhiễm. Do đó, theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp quản lý đàn (hoặc phương pháp làm giảm tần suất dai dẳng bệnh FMD ở loài gặm nhấm bị nhiễm FMD).

Nói cách khác, theo các phương án nhất định, chế phẩm gây miễn dịch chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được, trong đó thành phần tá được bao gồm (hoặc về cơ bản bao gồm hoặc bao gồm) nhũ tương chứa pha dầu, pha dầu này chiếm ít nhất 50% thể tích/thể tích của chế phẩm gây miễn dịch này, oligonucleotit kích thích miễn dịch với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200 μ g mỗi liều, và polyme đa cation với lượng nằm trong khoảng từ 75 đến 200mg mỗi liều; và thành phần kháng nguyên là kháng nguyên FMD với lượng tương đương với ít nhất 6 μ g virus FMD mỗi liều có thể được sử dụng để quản lý đàn trong đó, khi nghi ngờ tiếp xúc với nguồn lây nhiễm FMD, các con đã tiêm chủng trong đàn này không được giết mổ; và/hoặc được cách ly trong khoảng thời gian từ 0 đến 30 ngày sau khi nghi ngờ tiếp xúc và/hoặc được vận chuyển khỏi chuồng bị nhiễm trong vòng 30 ngày nghi ngờ tiếp xúc.

Theo các phương án khác, lượng kháng nguyên có thể tương đương với 6-20 μ g virus FMD mỗi liều, ví dụ, 8-20, 10-20, 12-20, 14-20, 16-20, 18-20, 6-10, 6-12, 6-18, 8-12, hoặc 8-10 μ g virus FMD mỗi liều. Lượng oligonucleotit kích thích miễn dịch có thể là, ví dụ, 75-100, 75-125, 75-150, 75-150, 100-200, 100-150, 125-200, 125-175 hoặc 125-150 μ g mỗi liều. Polyme đa cation có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ, ví dụ, 75-100, 75-125, 75-150, 75-150, 100-200, 100-150, 125-200, 125-175 hoặc 125-150mg mỗi liều.

Sáng chế sẽ được mô tả thêm trong các ví dụ không giới hạn dưới đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Điều chế kháng nguyên

Hai phương pháp được sử dụng để điều chế kháng nguyên: Lọc bằng sợi rỗng và kết tủa bằng PEG.

Phương pháp kết tủa bằng PEG (poly-etylen glycol) đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này. Nói tóm lại, các tế bào BHK-21 được gây nhiễm virus FMD. Sau đó

(24-36 giờ sau đó) các tế bào được dung giải bằng cách đông lạnh-rã đông, và dịch dung giải tế bào được làm sạch mảnh tế bào bằng cách ly tâm ở tốc độ thấp (500 x g). PEG được bổ sung (8% trọng lượng/thể tích) vào dịch nổi tế bào chứa cả protein cấu trúc và protein không cấu trúc. Ủ hỗn hợp này trong khoảng thời gian từ 12 đến 18 giờ ở nhiệt độ 4°C. Trong giai đoạn ủ này, các hạt FMDV kết hợp với PEG. Kháng nguyên được thu hồi bằng cách ly tâm ở tốc độ 16,000xg và thu gom kết viên kết tủa chứa PEG và virus. Dịch nổi tế bào, chứa các protein tế bào hoặc protein không cấu trúc của virus được loại bỏ. Kết viên, mang các hạt virus, sau đó được rửa bằng dung dịch đệm với thể tích nhỏ để rửa giải các hạt FMDV khỏi PEG.

Một phương pháp khác được mô tả ở đây được dựa trên việc cô bằng sợi rỗng, dịch nổi nuôi cấy FMDV. Các bước của phương pháp này bao gồm lọc liên tiếp để loại bỏ mảnh vỡ tế bào và nguyên liệu có kích thước lớn ra khỏi môi trường nuôi cấy (các tế bào BHK-21 được gây nhiễm virus FMD và được dung giải bằng cách đông băng-rã đông). Nguyên liệu nuôi cấy được bơm liên tiếp qua viên nang lọc có kích thước lỗ lọc bằng 10µm, viên nang lọc có kích thước lỗ lọc bằng 4,5µm, cuối cùng lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,8µm/0,2µm. Sau đó dịch lọc này được cô bằng cách sử dụng hộp siêu lọc làm bằng sợi rỗng mà cho phép các hạt có kích thước nhỏ hơn 0,01µm chảy qua màng. Các hạt FMDV và nhiều protein không cấu trúc được giữ lại trong cột tuần hoàn trong khi đó chất lỏng và các protein nhỏ hơn đi qua màng vào dịch thải. Cột tuần hoàn được chạy cho đến khi dịch cô đạt tới thể tích mong muốn, thường có nồng độ gấp 10 lần.

Fig.1 là kết quả thẩm tách Tây minh họa sự khác nhau về chất lượng giữa các kháng nguyên được cô bằng sợi rỗng và kháng nguyên được kết tủa bằng PEG. Kháng nguyên được cô bằng sợi rỗng chứa một lượng lớn các protein cấu trúc và protein không cấu trúc như được thể hiện trên hình vẽ này nhờ nhuộm thẩm tách Tây sử dụng kháng thể đặc hiệu với protein 3D, protein không cấu trúc FMDV lớn nhất và kháng thể đặc hiệu với protein capsit (protein cấu trúc). Ngược lại, kháng nguyên được kết tủa bằng PEG (đường 9) chứa protein cấu trúc nhưng không chứa protein 3D với lượng có thể phát hiện được.

Ví dụ 2. Hiệu quả của vacxin FMD chứa tá được TXO

Động vật và thu gom mẫu

Bò đực con Holdstein 6 đến 8 tháng tuổi có cân nặng từ 180 đến 230kg được sử dụng trong nghiên cứu này. Các con bò không mang kháng thể phản ứng với FMDV như được xác định bởi thử nghiệm 3D ELISA trước khi tiêm chủng như được xác định sau đó từ các mẫu huyết thanh được lấy vào ngày 0. Toàn bộ 28 con bò được nhốt lại với nhau trong một chuồng trong nhà máy thử nghiệm bò BSL-3-Ag. Các con bò được cho ăn các viên thức ăn với khẩu phần ăn đầy đủ hoặc viên alfalfa, với nước và muối sẵn có tùy thích. Các con bò được làm thích nghi với nhà máy 5 ngày trước ngày 0. Các con bò được điều trị trước đó bằng Bovi-Shield GOLD® 5, Micotil® 300, Liquamycin®LA-200® và Dectomax®. Các nhóm bò (mỗi nhóm n=4) mang số thẻ liên tiếp gắn vào tai được gọi là nhóm điều trị.

Không có bất kỳ biến cố bất lợi nào được dẫn chứng bằng tài liệu sau khi tiêm chủng.

Các ống máu có dụng cụ tách huyết thanh để thu được các mẫu huyết thanh được thu gom vào ngày 0 (trước khi tiêm chủng), 4, 7, 14, 21 (trước khi thử), 24, 28, 31 và 42 từ tất cả các con bò. Các mẫu huyết thanh được giữ đông lạnh cho đến khi thử nghiệm sự có mặt của các kháng thể trung hòa chống lại FMDV trong thử nghiệm trung hòa huyết thanh (được báo cáo dưới dạng hàm thuận nghịch của mức pha loãng huyết thanh cuối để trung hòa 100 TCID₅₀ của FMDV tương đồng trong 50% lỗ) hoặc để nghiên cứu đáp ứng kháng 3Dpol (bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch gắn kết enzym cạnh tranh).

Theo khuyến cáo của OIE ("sổ tay các thử nghiệm chẩn đoán và vacxin dùng cho động vật trên cạn"), thử hiệu quả vacxin ở gia súc đã tiêm chủng được tiến hành bằng cách tiêm chủng qua đường trong da dưới lưỡi (intradermal lingual-IDL). Ở thời điểm 21 ngày sau khi tiêm chủng, toàn bộ bò đã tiêm chủng và bò chưa tiêm được tiêm chủng IDL với 10.000 BTID₅₀ (50% liều gây nhiễm ở lưỡi bò) của FMDV A24 Cruzeiro tương đồng được chia làm 4 lần tiêm chủng mỗi lần 0,1ml với 2.500 BTID₅₀/0,1ml. Toàn bộ số bò được theo dõi trong 10 ngày sau khi thử để đánh giá sự tiến triển bệnh lâm sàng như sốt, chảy nước mũi, tiết nhiều nước dãi, mất cảm giác thèm ăn và/hoặc đi khập khiễng. Đánh giá lâm sàng sự xuất hiện các bóng ở móng được tiến hành với thuốc giảm đau (xylazin được dùng IM ở liều 0,22mg/kg để duy trì

tình trạng nằm nghiêng trong quá trình tiến hành thủ tục) ở ngày 21 (trước khi tiêm) và các ngày 24, 28 và 31. Thuốc giảm đau được thay bằng tolazolin, IV, ở liều 2mg/kg.

Vaccin

Kháng nguyên được điều chế như được mô tả trong ví dụ 1. Dung dịch gốc kháng nguyên chứa 5,51µg/ml kháng nguyên được điều chế bằng cách lọc bằng sợi rỗng (Prep A) hoặc 10,26µg/ml kháng nguyên được điều chế bằng cách kết tủa bằng PEG (Prep B).

Chi tiết về chế phẩm gây miễn dịch được sử dụng cho bò được đề cập trong bảng 1. Mỗi nhóm gồm bốn con.

Bảng 1. Thiết kế nghiên cứu

Nhóm	Kháng nguyên	Lượng/5 ml	Tá được/5 ml	Thể tích được tiêm, ml, IM
T01	Không có	N/A	PBS (Đối chứng âm)	5
T02	FMDV (Prep B)-Kết tủa bằng PEG,	8 µg	Dầu khoáng nhẹ – SPAN®80 TWEEN®80	5
T03	FMDV (Prep B) Kết tủa bằng PEG,	2 µg	DEAE Dextran (100 mg); SEQ ID NO: 8; 75% tinh khiết: 100 µg	1,25
T04	FMDV (Prep B)-Kết tủa bằng PEG,	0,5 µg		0,3125
T05	FMDV (Prep A) - Lọc bằng sợi rỗng,	8 µg		5
T06	FMDV (PrepA)-Lọc bằng sợi rỗng,	2 µg		1,25
T07	FMDV (Prep A)-Lọc bằng sợi rỗng,	0,5 µg		0,3125

Chế phẩm gây miễn dịch nêu trong các nhóm T02 đến T06 được làm đồng nhất vào ngày tiêm chủng và được sử dụng cho bò vào ngày 0.

Sự dai dẳng của bệnh được đánh giá là sự có mặt hay không có mặt của virus (ARN virus FMDV và/hoặc FMDV lây nhiễm) được xác định bằng cách sử dụng cả phương pháp phân lập virus và rRT-PCR định lượng. Các đoạn mồi được sử dụng cho rRT-PCR định lượng là như sau:

Mồi xuôi (SEQ ID NO: 28): GACAAAGGTTTTGTTCTTGGTCA

Mồi ngược (SEQ ID NO: 29): TGCGAGTCCTGCCACGGA

Mẫu dò Taqman: (gen báo cáo FAM, gen dập tắt TAMRA, SEQ ID NO: 30)
TCCTTTGCACGCCGTGGGAC

Hiệu giá trung hòa huyết thanh đối với FMDV được thể hiện tóm tắt trong bảng 2.

Bảng 2–Hiệu giá trung hòa huyết thanh

Nhóm điều trị	Hiệu giá trung hòa huyết thanh		
	Ngày 0	Ngày 21	Ngày 42
T01	0,45 ^a	0,45 ^a	2,62 ^{ab}
T02	0,45 ^a	1,64 ^c	2,84 ^b
T03	0,45 ^a	0,90 ^b	2,39 ^{ab}
T04	0,45 ^a	0,76 ^b	2,74 ^{ab}
T05	0,45 ^a	1,55 ^c	2,28 ^a
T06	0,45 ^a	0,81 ^b	2,36 ^{ab}
T07	0,45 ^a	0,54 ^a	2,68 ^{ab}

^{a,b,c} Các nhóm điều trị có cùng chữ cái trong mỗi ngày không khác nhau đáng kể ở $\alpha=0,05$

Các dấu hiệu của FMDV được ghi lại là sự có mặt (1) hoặc không có mặt (0) các bọt ở móng, tức là sự có mặt bọt trên một móng được cho 1 điểm, sự có mặt bọt chỉ trên hai móng cho 2 điểm và bọt trên cả bốn móng cho 4 điểm. Một khi bò được cho điểm 4, được coi như có điểm 4 trong suốt nghiên cứu.

Điểm số của từng con bò đối với mỗi móng và đối với mỗi ngày thử nghiệm được nêu trong bảng 3. Ở bảng 4, thể hiện tóm tắt điểm số của mỗi con bò cho dù có bệnh ở móng bất kỳ khay không.

Bảng 3 – Liệt kê từng con bò có điểm số theo bệnh FMDV

		Ngày nghiên cứu															
		21				24				28				31			
		Vị trí				Vị trí				Vị trí				Vị trí			
		CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI
Nhóm điều trị	Bò																
T01	R14-84	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1*	1*	1*	1*
	R14-85	0	0	0	0	1	1	1	1	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*
	R14-86	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1*	1*	1*	1*
	R14-87	0	0	0	0	1	1	1	1	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*
T02	R14-72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14-73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

		Ngày nghiên cứu															
		21				24				28				31			
		Vị trí				Vị trí				Vị trí				Vị trí			
		CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN PHẢI
Nhóm diệu u trị	Bò																
	R14 -74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T03	R14 -76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -77	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
	R14 -78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T04	R14 -80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

		Ngày nghiên cứu															
		21				24				28				31			
		Vị trí				Vị trí				Vị trí				Vị trí			
		CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI
Nhóm điều u tr i	Bò																
	R14 -81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T 0 5	R14 -60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14 -63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

		Ngày nghiên cứu															
		21				24				28				31			
		Vị trí				Vị trí				Vị trí				Vị trí			
		CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI
Nhóm điều trị	Bò																
T06	R14-64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14-65	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14-66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14-67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T07	R14-68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14-69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R14-70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

		Ngày nghiên cứu															
		21				24				28				31			
		Vị trí				Vị trí				Vị trí				Vị trí			
		CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI	CHÂN TRƯỚC BÊN TRÁI	CHÂN SAU BÊN TRÁI	CHÂN TRƯỚC BÊN PHẢI	CHÂN SAU BÊN PHẢI
Nhóm điều trị	Bò																
R14-71		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*Được tự động cho điểm '1' vì tất cả các móng của bò này đã có bọt trước ở tất cả bốn móng.

Bảng 4 –Cho điểm theo bọt FMDV – bất kỳ vị trí móng nào có bọt

		Ngày nghiên cứu			
		21	24	28	31
Nhóm điều trị	Bò				
T01	R14-84	Không	Có	Có	Có*
	R14-85	Không	Có	Có*	Có*
	R14-86	Không	Có	Có	Có*
	R14-87	Không	Có	Có*	Có*
T02	R14-72	Không	Không	Không	Không
	R14-73	Không	Không	Không	Không

		Ngày nghiên cứu			
		21	24	28	31
Nhóm điều trị	Bò				
	R14-74	Không	Không	Không	Không
	R14-75	Không	Không	Không	Không
T03	R14-76	Không	Không	Không	Không
	R14-77	Không	Có	Có	Có
	R14-78	Không	Không	Không	Không
	R14-79	Không	Không	Không	Không
T04	R14-80	Không	Không	Không	Không
	R14-81	Không	Không	Không	Không
	R14-82	Không	Không	Không	Không
	R14-83	Không	Không	Không	Không
T05	R14-60	Không	Không	Không	Không
	R14-61	Không	Không	Không	Không
	R14-62	Không	Không	Không	Không
	R14-63	Không	Không	Không	Không
T06	R14-64	Không	Không	Không	Không
	R14-65	Không	Không	Không	Không
	R14-66	Không	Không	Không	Không
	R14-67	Không	Không	Không	Không
T07	R14-68	Không	Không	Không	Không
	R14-69	Không	Không	Không	Không

		Ngày nghiên cứu			
		21	24	28	31
Nhóm điều trị	Bò				
	R14-70	Không	Không	Không	Không
	R14-71	Không	Không	Không	Không

*Được tự động cho điểm là có vì tất cả các móng của bò này đã có bọt trước ở tất cả bốn móng

Tất cả các con bò ở nhóm T01 (đối chứng âm) đều biểu hiện bọt ở móng bắt đầu vào ngày 24. Vào các ngày 28 và 31, tất cả các móng ở toàn bộ số bò trong nhóm T01 được nhận thấy là đều có bọt. Ngược lại, cũng quan sát thấy tất cả các nhóm ngoại trừ nhóm T03 (liều 2 μ g FMDV được kết tủa bằng PEG) được bảo vệ hoàn toàn (tức là, không có bọt nước ở móng), trong đó con bò (R14-77) được cho điểm 1 vào các ngày 24, 28, và 31. Hiệu quả của các chế phẩm gây miễn dịch được thử nghiệm đối với trường hợp lây nhiễm dai dẳng được thể hiện trong các bảng 5 và 6. Sự dai dẳng được xác định là sự có mặt virus lây nhiễm hoặc ARN virus trong dịch hầu-thực quản (thu được bằng cốc “Probang”) sau 28 ngày sau khi thử (ngày 49 sau khi tiêm chủng, như được thể hiện trong các bảng 5 và 6). Trong bảng 5, các kết quả rRT-PCR định lượng của từng con bò và trung bình bình phương nhỏ nhất được biến đổi ngược của số bản sao ARN FMDV ở nhóm điều trị mỗi mL từ các mẫu thu được từ cốc probang được thể hiện. Trong bảng 6, các kết quả của thử nghiệm phân lập virus trong mẫu thu được bằng cốc probang được báo cáo dưới dạng dương tính hoặc âm tính. Các giá trị dưới 1,87 trong bảng 5 được cho điểm là ‘âm tính’ do giới hạn phát hiện của thử nghiệm.

Bảng 5 – Liệt kê các kết quả rRT-PCR Probang ở từng con bò và trung bình bình phương nhỏ nhất được biến đổi ngược mỗi nhóm điều trị

		Ngày 38	Ngày 42	Ngày 49	Ngày 52
Nhóm điều trị số	Bò	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm
T01	R14-84	4,29	4,72	<1,87	3,83

		Ngày 38	Ngày 42	Ngày 49	Ngày 52
Nhóm điều trị số	Bò	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm
T01	R14-85	4,26	6,01	5,14	4,7
T01	R14-86	<1,87	3,62	<1,87	<1,87
T01	R14-87	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
Trung bình nhóm		1,999	3,130	1,432	1,992
T02	R14-72	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T02	R14-73	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T02	R14-74	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T02	R14-75	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
Trung bình nhóm		0,935	0,935	0,935	0,935
T03	R14-76	4,98	4,68	<1,87	<1,87
T03	R14-77	5,52	3,43	<1,87	<1,87
T03	R14-78	<1,87	4,35	<1,87	5,3
T03	R14-79	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
Trung bình nhóm		2,214	2,843	0,935	1,443
T04	R14-80	<1,87	<1,87	4,88	4,59
T04	R14-81	5,08	4,01	3,98	4,65
T04	R14-82	<1,87	4,47	6,12	4,32
T04	R14-83	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
Trung bình nhóm		1,427	1,990	3,247	3,047
T05	R14-60	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T05	R14-61	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T05	R14-62	4,75	<1,87	<1,87	<1,87

		Ngày 38	Ngày 42	Ngày 49	Ngày 52
Nhóm điều trị số	Bò	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm	Kết quả thử nghiệm
T05	R14-63	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
Trung bình nhóm		1,404	0,935	0,935	0,935
T06	R14-64	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T06	R14-65	4,10	4,11	<1,87	3,39
T06	R14-66	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T06	R14-67	4,14	5,08	5,18	4,82
Trung bình nhóm		1,963	2,067	1,434	1,944
T07	R14-68	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T07	R14-69	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T07	R14-70	<1,87	<1,87	<1,87	<1,87
T07	R14-71	5,34	5,46	4,49	3,7
Trung bình nhóm		1,445	1,453	1,384	1,319

Bảng 6 – Phân lập virus trong mẫu probang – Liệt kê từng con bò

		Ngày nghiên cứu			
		38	42	49	52
Nhóm điều trị	Bò				
T01	R14-84	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
	R14-85	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
	R14-86	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-87	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
T02	R14-72	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính

		Ngày nghiên cứu			
		38	42	49	52
Nhóm điều trị	Bò				
	R14-73	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-74	Âm tính	Dương tính	Âm tính	Âm tính
	R14-75	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
T03	R14-76	Dương tính	Dương tính	Âm tính	Dương tính
	R14-77	Dương tính	Dương tính	Âm tính	Âm tính
	R14-78	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
	R14-79	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
T04	R14-80	Dương tính	Âm tính	Dương tính	Dương tính
	R14-81	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
	R14-82	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
	R14-83	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
T05	R14-60	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-61	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-62	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-63	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
T06	R14-64	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-65	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
	R14-66	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-67	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính
T07	R14-68	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-69	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính

		Ngày nghiên cứu			
		38	42	49	52
Nhóm điều trị	Bò				
	R14-70	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
	R14-71	Dương tính	Dương tính	Dương tính	Dương tính

Đối với nhóm 1 (đối chứng dung dịch nước muối), ba con bò ít nhất một lần dương tính đối với FMDV bằng rRT-PCR và hai con bò luôn dương tính đối với sự phân lập virus.

Ở nhóm T02, chưa từng phát hiện thấy con bò nào mang virus FMDV bằng thử nghiệm rRT-PCR, tuy nhiên một con bò (R14-74) được nhận thấy là dương tính bằng thử nghiệm phân lập virus chỉ ở một thời điểm (Ngày 42: ngày 21 sau khi thử) nhưng sau đó lại âm tính (ngày 49: và 52, chứng tỏ không có sự lây nhiễm dai dẳng. Các con bò khác trong nhóm T02 không mang FMDV có thể phát hiện được bằng rRT-PCR hoặc bằng thử nghiệm phân lập virus vào ngày 38 và sau đó.

Ở nhóm T03, một con bò (R14-79) được bảo vệ hoàn toàn khỏi sự lây nhiễm FMDV, hai con bò có biểu hiện sự có mặt FMDV (hoặc bằng rRT-PCR hoặc bằng thử nghiệm phân lập virus) vào ba hoặc bốn ngày thử nghiệm và một con bò (R14-77) có biểu hiện sự có mặt FMDV bằng cả hai thử nghiệm vào các ngày 38 và 42, nhưng sau đó thì không.

Ở nhóm T04, tất cả các con bò đều có biểu hiện sự tồn tại dai dẳng của FMDV bằng một hoặc hai thử nghiệm xuyên suốt đến ngày 52.

Ở nhóm T05, một con bò (R14-62) có biểu hiện sự có mặt của virus này chỉ vào ngày 38 bằng thử nghiệm rRT-PCR nhưng không phát hiện thấy bằng thử nghiệm phân lập virus và virus không được phát hiện bằng một trong hai thử nghiệm sau đó. FMDV không được phát hiện bằng thử nghiệm rRT-PCR hoặc bằng thử nghiệm phân lập virus ở thời điểm bất kỳ đối với ba con bò còn lại ở nhóm T05.

Ở nhóm T06, hai con bò được bảo vệ hoàn toàn khỏi sự dai dẳng trong khi đó hai con bò còn lại dương tính được phát hiện bằng thử nghiệm rRT-PCR hoặc thử nghiệm phân lập virus ở mọi thời điểm thử nghiệm.

Ở nhóm T07, ba trong số bốn con bò được bảo vệ hoàn toàn trong khi đó một con (R14-71) dương tính đối với cả thử nghiệm rRT-PCR và phương pháp phân lập virut ở mỗi thời điểm.

Bảng 7 thể hiện tóm tắt các kết quả của các thử nghiệm về sự dai dẳng. Các con bò được coi là không có biểu hiện dai dẳng nếu không thử nghiệm nào trong số các thử nghiệm rRT-PCR hoặc các thử nghiệm phân lập virut phát hiện ra FMDV vào cả ngày 49 (28 ngày sau khi thử) và ngày 52 (31 ngày sau khi thử).

Bảng 7 Tần suất dai dẳng và không dai dẳng

Điều trị	% dai dẳng	% không dai dẳng
T01 (dung dịch nước muối)	50	50
T02 (FMDV kết tủa bằng PEG – 8µg)	0	100
T03 (FMDV kết tủa bằng PEG – 2µg)	50	50
T04 (FMDV kết tủa bằng PEG – 0,5µg)	100	0
T05 (FMDV lọc bằng sợi rỗng - 8µg)	0	100
T06 (FMDV lọc bằng sợi rỗng - 2µg)	50	50
T07 (FMDV lọc bằng sợi rỗng – 0,5µg)	25	75

Chỉ hai trong số tám con sử dụng 8µg kháng nguyên (các nhóm T02 và T05) từng có biểu hiện sự có mặt của virut và chỉ trong một ngày (mỗi con có biểu hiện vào ngày 37 và 42). Các con còn lại trong các nhóm này được bảo vệ hoàn toàn. Thấy rằng sự có mặt của virut không được phát hiện ở cả hai thời điểm 28 và 31 ngày sau khi bị nhiễm, không con nào trong số các con sử dụng 8µg kháng nguyên được nhận thấy là bị nhiễm dai dẳng. Năm trong số tám con sử dụng 2µg kháng nguyên (các nhóm T03 và T06) có biểu hiện nhiễm virut dai dẳng. Bốn trong số tám con sử dụng 0,5µg kháng nguyên (các nhóm T04 và T07) có biểu hiện nhiễm dai dẳng.

Nói chung, các kết quả này cho thấy sự bảo vệ khỏi sự nhiễm dai dẳng virut FMDV ở các con được sử dụng 8µg kháng nguyên, và cũng dường như là quá trình

tinh chế kháng nguyên bằng cách lọc bằng sợi rỗng là có lợi hơn so với việc kết tủa bằng PEG. Sự khác nhau chính giữa hai chế phẩm kháng nguyên là sự có mặt của các protein không cấu trúc ngoài các protein cấu trúc trong chế phẩm lọc bằng sợi rỗng. Do đó, không bị giới hạn ở lý thuyết, dường như là chất lượng của đáp ứng miễn dịch được gây ra bởi các vaccin trong đó kháng nguyên chứa cả protein cấu trúc và protein không cấu trúc, và cụ thể là protein 3D, là có hiệu quả hơn trong việc ngăn ngừa sự dai dẳng của FMDV, như được minh họa trong bảng 8.

Bảng 8. Hiệu quả của phương pháp điều chế kháng nguyên đến đáp ứng miễn dịch

Nhóm điều trị	% dai dẳng	% không dai dẳng
T01 (dung dịch nước muối)	50% (2 trong số 4)	50% (2 trong số 4)
Prep A (sợi rỗng, các nhóm T05-T07 kết hợp)	25% (3 trong số 12)	75 % (9 trong số 12)
Prep B (kết tủa bằng PEG, các nhóm T02-T04 kết hợp)	50% (6 trong số 12)	50% (6 trong số 12)

Tất cả các công bố được viện dẫn trong bản mô tả, cả công bố patent và công bố không patent, là đã biết đối với người có kỹ năng trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tất cả các công bố này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn như thể từng công bố được thể hiện cụ thể và riêng rẽ như được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Mặc dù, sáng chế được mô tả ở đây có viện dẫn đến các phương án cụ thể, nhưng cần hiểu rằng các phương án này chỉ nhằm minh họa các quy tắc và các ứng dụng của sáng chế. Do đó, cần hiểu rằng nhiều cải biến có thể được tiến hành cho các phương án minh họa và các điều chỉnh khác có thể được thực hiện mà không nằm ngoài phạm vi và tinh thần của sáng chế như được xác định bởi yêu cầu bảo hộ dưới đây.

Yêu cầu bảo hộ

1. Chế phẩm gây miễn dịch chứa thành phần kháng nguyên và thành phần tá được, trong đó:
 - a) thành phần tá được bao gồm nhũ tương chứa dầu, oligonucleotit kích thích miễn dịch, và diethylaminoethyl (DEAE) Dextran; và
 - b) thành phần kháng nguyên là thành phần virus FMD (bệnh lở mồm long móng) với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 μ g hoặc 6 đến 20 μ g mỗi liều.
2. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 1, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa CpG.
3. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 1, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch bao gồm ít nhất 15 nucleotit liên tiếp nêu trong SEQ ID NO: 8.
4. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 1, trong đó pha dầu này có mặt với lượng lên đến 80% thể tích/thể tích của chế phẩm.
5. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 1, trong đó pha dầu chiếm 50,01% đến 55% thể tích/thể tích của chế phẩm.
6. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 1, trong đó thành phần tá được bao gồm SEQ ID NO: 8 và diethylaminoethyl (DEAE) Dextran.
7. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 6, trong đó DEAE Dextran có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 200mg mỗi liều.
8. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 7, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 200 μ g mỗi liều.
9. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 1, trong đó thành phần virus FMD là chế phẩm chứa chủng Cruzeiro của virus FMD.
10. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 9, trong đó chủng Cruzeiro của virus FMD này được thao tác di truyền.
11. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 10, trong đó chủng Cruzeiro của virus FMD này bị mất vùng mã hóa trình tự dẫn (LL).
12. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 11, trong đó chủng Cruzeiro của virus FMD chứa chỉ thị kháng nguyên âm tính được đưa vào một hoặc cả hai protein không cấu trúc 3D^{pol} và 3B của virus.

13. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 10, trong đó chủng Cruzeiro của virus FMD này chứa protein capsit khác loại.

14. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 13, trong đó protein capsit khác loại có nguồn gốc từ chủng được chọn từ Asia1, Turkey06, O1Campos, C3Indaial, và A2001-Argentina.

15. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 13, trong đó chế phẩm này chứa DEAE Dextran với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 200mg mỗi liều, và oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa ít nhất 15 nucleotit liên tiếp nêu trong SEQ ID NO:8 có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 200 μ g mỗi liều.

16. Chế phẩm gây miễn dịch theo điểm 1, trong đó thành phần kháng nguyên là:

- a) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 6 μ g mỗi liều; hoặc
- b) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 4 μ g mỗi liều; hoặc
- c) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2 μ g mỗi liều; hoặc
- d) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 μ g mỗi liều; hoặc
- e) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 20 μ g mỗi liều; hoặc
- f) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 8 đến 20 μ g mỗi liều; hoặc
- g) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 8 đến 12 μ g mỗi liều; hoặc
- h) virus FMD với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 18 μ g mỗi liều.

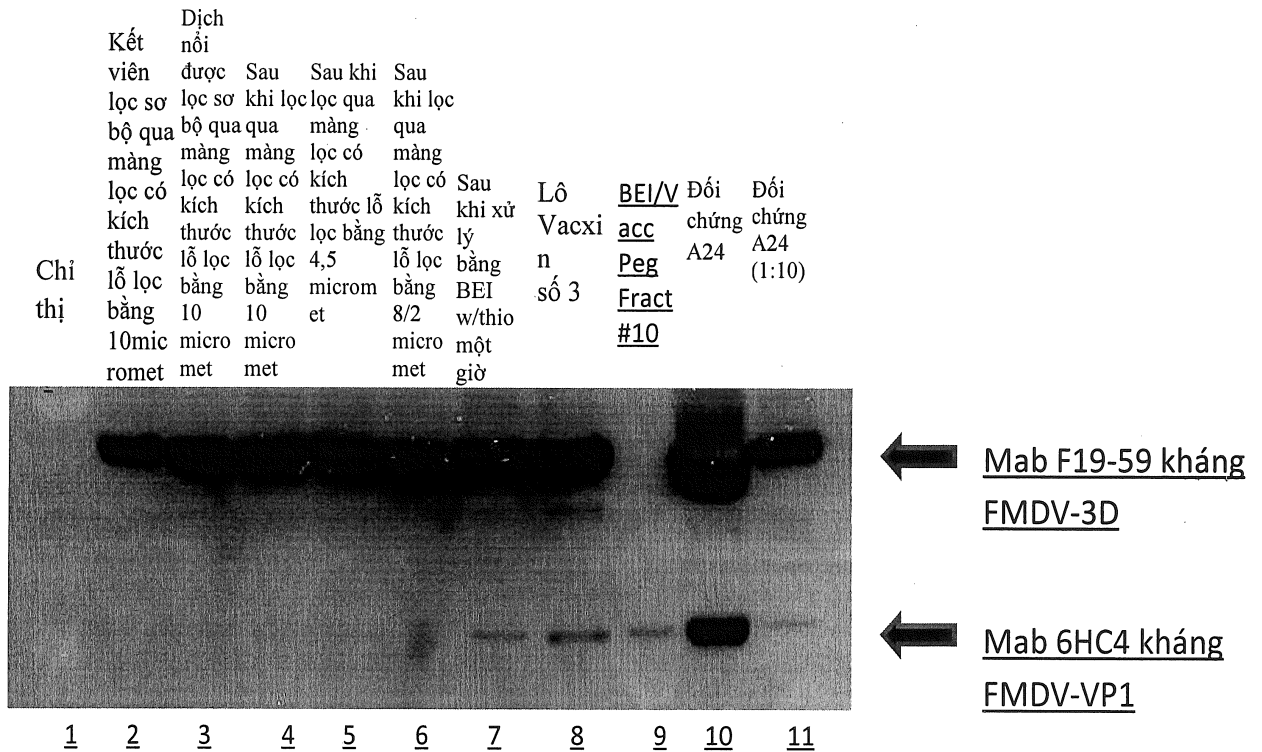


FIG. 1

DANH MỤC TRÌNH TỰ

- <110> Dominowski, Paul Joseph
 Hardham, John Morgan
 Jackson, James Alan
 Gay, Cyril Gerard
 Rodriguez, Luis Levàro
 Krug, Peter William
 Rieder, Aida Elizabeth
- <120> CHẾ PHẨM GÂY MIỄN DỊCH DÙNG ĐỂ PHÒNG NGỪA BỆNH LỞ MỖM LONG MÓNG
- <130> ZP000077
- <160> 30
- <170> Patent phiên bản 3.5
- <210> 1
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
- <220>
 <223> Oligonucleotit CpG
- <400> 1
 tcgtcgacga tcggcgcgcg ccg 23
- <210> 2
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
- <220>
 <223> Oligonucleotit CpG
- <400> 2
 tcgacgtcga tcggcgcgcg ccg 23
- <210> 3
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
- <220>
 <223> Oligonucleotit CpG
- <400> 3
 tcgacgtcga tcggcgcgcg ccgt 24
- <210> 4
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
- <220>
 <223> Oligonucleotit CpG

<220>
 <221> đặc điểm khác
 <222> (1)..(1)
 <223> 5'-Iodo-2'-deoxyuridin

<400> 4
 ncgacgtcga tcggcgcgcg ccg

23

<210> 5
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Oligonucleotit CpG

<220>
 <221> đặc điểm khác
 <222> (1)..(1)
 <223> 5'-Iodo-2'-deoxyuridin

<400> 5
 ncgacgtcga tcggcgcgcg ccgt

24

<210> 6
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Oligonucleotit CpG

<220>
 <221> đặc điểm khác
 <222> (1)..(1)
 <223> 5'-Iodo-2'-deoxyuridin

<400> 6
 ncgacgtcga tcggcgcgcg ccgt

24

<210> 7
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Oligonucleotit CpG

<220>
 <221> đặc điểm khác
 <222> (1)..(1)
 <223> 5'-Etyl-2'-deoxyuridin

<400> 7

ncgacgtcga tcggcgcgcg ccg

23

<210> 8
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Oligonucleotit CpG

<220>
 <221> đặc điểm khác
 <222> (1)..(1)
 <223> 5'-Iodo-2'-deoxyuridin

<400> 8
 ncgtcgacga tcggcgggccg ccgt

24

<210> 9
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Oligonucleotit CpG

<220>
 <221> đặc điểm khác
 <222> (1)..(1)
 <223> 5'-Iodo-2'-deoxyuridin

<400> 9
 ncgtcgacga tcggcgggccg ccgt

24

<210> 10
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Oligonucleotit CpG

<400> 10
 tcgtcgacga tcggcgcgcg ccg

23

<210> 11
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> ARN

<400> 11
 uuguuguugu uguuguuguu

20

<210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> ARN

<400> 12
 uuauuuuuuu uauuuuuuuu 20

<210> 13
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> ARN

<400> 13
 aaacgcucag ccaaagcag 19

<210> 14
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> ADN/ARN

<220>
 <221> đặc điểm khác
 <222> (11)..(17)
 <223> ribonucleotit

<400> 14
 tcgtcgtttt guuguguttt t 21

<210> 15
 <211> 10867
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Nucleotit dung hợp: Virut gây bệnh tay chân miệng (FMDV) và
 Rhinovirut Typ 2 của bò (BRV2)

<400> 15
 ggggccggcc aatccagtcc ggcgaccggc tcgcagaacc aatctggcaa cactggcagc 60
 ataattaaca actactacat gcagcaatac cagaactcca tggacacaca gttgggagac 120
 aatgccatca gtggaggctc caacgagggc tccacggaca caacttcaac acacacaacc 180
 aacactcaaa acaatgactg gttctcgaag ctcgccagtt cagcttttac cggtctgttc 240

ggtgcactgc tgcgcgacaa gaagacagag gaaacgacac ttcttgagga cgcacatctc	300
accacccgca acgggcacac cacctcgacg acccaatcga gtgtgggtgt cacacacggg	360
tactccacag aggaggacca cgttgctggg cccaacacat cgggcctgga gacgcgagt	420
gtgcaggcag agagattcta caaaaagtac ttgtttgact ggacaacgga caaggcattt	480
ggacacctgg aaaagctgga gctcccgccc gaccaccacg gtgtctttgg aacttgggtg	540
gactcgtacg cctatatgag aaatggctgg gatgttgagg tgtccgctgt tggcaaccag	600
ttcaacggcg ggtgcctcct ggtggccatg gtacctgaat ggaaggaatt tgacacacgg	660
gagaaatacc aactcaccct tttcccgcac cagtttatta gcccagaac taacatgact	720
gcccacatca cggcccccta ccttgggtgtg aacaggatg atcagtacaa gaagcataag	780
ccctggacat tggttgtcat ggtcgtgtcg ccacttacgg tcaacaacac tagtgcgga	840
caaatcaagg tctacgcaa catagctccg acctatgttc acgtggccgg tgaactcccc	900
tcgaaagagg ggattttccc ggttgcatgt gcggacgggt acggaggatt ggtgacgaca	960
gacccgaaga cagctgaccc tgcttatggc aagggtgtaca accgcctag gactaactac	1020
cctgggcgct tcaccaacct gttggacgtg gccgaagcgt gtcccacttt cctctgcttt	1080
gacgacggga aaccgtacgt caccacgcgg acggatgaca cccgactttt ggccaagttt	1140
gacctttccc ttgccgcaaa acatatgtcc aacacatacc tgtcagggat tgctcagtac	1200
tacacacagt actctggcac catcaatttg catttcatgt tcacaggttc cactgattca	1260
aaggcccgat acatggtggc ctacatccca cctgggggtg agacaccacc ggacacacct	1320
gaaagggctg cccactgcat tcacgctgaa tgggacactg gactaaactc caaattcact	1380
ttctcaatcc cgtacgtatc cgccgcgat tacgcgtaca cagcgtctga cacggcagaa	1440
acaatcaacg tacagggatg ggtctgcatc taccaaatta cacacgggaa ggctgaaaat	1500
gacaccttgg tcgtgtcggg tagcgccggc aaagactttg agttgcgcct cccgattgac	1560
ccccgccagc agaccaccgc taccggggaa tcagcagacc cggtcaccac caccgtggag	1620
aactacggcg gtgagacaca aatccagaga cgtcaccaca cggacattgg tttcatcatg	1680
gacagatttg tgaagatcca aagcttgagc ccaacacatg tcattgacct catgcagact	1740
caccaacacg gtctggtggg tgccttgctg cgtgcagcca cgtactactt ttctgacctg	1800
gaaattgttg tacggcacga aggcaatctg acctgggtgc ccaacggcgc ccctgaatca	1860
gccctgttga acaccagcaa cccactgcc tacaacaagg caccattcac gagactcgct	1920
ctccccata ctgcgccgca ccgtgtgctg gcaacagtgt acaacgggac gagtaagtat	1980
gctgtgggtg gttcaggcag aagaggcgac atggggtctc tcgcggcgcg agtcgtgaaa	2040

cagcttctctg cttcatttaa ctacggtgca atcaaggccg acgccatcca cgaacttctc	2100
gtgcgcatga aacggggccga gctctactgc ccagaccgc tgttggcaat agaggtgtct	2160
tcgcaagaca ggcacaagca aaagatcatt gcaccagcaa agcagcttct gaattttgac	2220
ctgcttaagc tagccggaga cgttgagtcc aaccctgggc ctttcttctt ctccgacgtt	2280
aggtcaaact tttccaagct ggtagacaca atcaaccaga tgcaggaaga catgtccaca	2340
aagcacggac ctgactttaa ccggttggtg tccgcttttg aggagttggc cactggagtg	2400
aaagccatca ggaccggtct tgacgaggcc aagccctggt acaagcttat caagctcctg	2460
agccgcctgt cgtgcatggc cgtgtggca gcacggtcaa aggaccaggt ccttgtggcc	2520
atcatgctgg ctgacaccgg totogagatt ctggacagca ccttcgtcgt gaagaagatc	2580
tccgactcgc tctccagtct cttccacgtg cgggccccg tcttcagttt cggagccccg	2640
attctgttag ccgggttggt caaggtcgcc tcgagtttct tccggtccac gccgaagac	2700
cttgagagag cagagaaaca gctcaaagca cgtgacatca acgacatttt cgcatttctc	2760
aagaacggcg agtggctggt caaattgata cttgccatcc gcgactggat caaggcatgg	2820
atagcctcag aagaaaagtt tgtcaccacg acagacttgg tacctagcat ccttgaaaaa	2880
cagcaggacc tcaacgaccc aagcaagtac aaggaagcca aggagtggct cgacaacgcg	2940
cgccaagcgt gtttgaagag cgggaacgtc cacattgcc aacctgtgcaa agtggtcgcc	3000
ccggcaccca gcaggtcgag acccgagccc gtggtcgttt gcctccgtgg caagtccggt	3060
cagggcaaga gtttccttgc aaacgtgctc gcacaagcaa tctctacca tttcactggc	3120
aggaccgatt cagtttggtg ctgcccgcct gaccctgacc acttcgacgg ttacaaccaa	3180
cagactgtcg ttgtgatgga cgatttgggc cagaaccccg acggcaaaga cttcaagtac	3240
ttcgcccaaa tggtttcaac aacgggggtc atcccgccca tggcatcgct tgaggataaa	3300
ggcaaaccct tcaacagtaa ggtcatcata gcaaccacca acctgtactc gggcttcacc	3360
ccgaggacta tgggtgtgcc tgatgccctg aaccggaggt ttcactttga catcgacgtg	3420
agcgccaagg acgggtacaa aattaacaac aaattggaca tcatcaaagc acttgaagat	3480
actcacacca acccagtggc aatgtttcag tacgactgtg cccttctcaa cggcatggct	3540
gttgaaatga agagaatgca acaagatatg ttcaagcctc aaccacccct tcagaacgtg	3600
taccaactgg ttcaagaggt gattgagcgg gtggagctcc acgagaaggt gtcgagccac	3660
ccgattttca aacagatctc aattccttcc caaaaatccg tgttgtactt cctcattgag	3720
aaaggacagc acgaggcagc aattgaattc tttgagggca tgggtgcacga ctccatcaag	3780
gaggagctcc ggccgctcat ccaacaaacc tcatttgtga aacgcgcttt taagcgctg	3840
aaggaaaact ttgagattgt tgccctatgt ctgaccctcc tggccaacat agtgatcatg	3900

atccgcgaaa	ctcgcaagag	acagaagatg	gtggacgatg	cagtgagtga	gtacattgag	3960
agagcaaaca	tcaccaccga	cgacaagact	cttgatgagg	cggaaaagaa	ccctctggaa	4020
accagcgggtg	ccagcacctg	cggcttcaga	gagagacctc	tcccaggcca	aaaggcgcgt	4080
aatgacgaga	actccgagcc	cgcccagcct	gctgaagagc	aaccacaagc	tgaaggaccc	4140
tacgctggcc	cgatggagag	accagttaaa	gttaaagtga	aagcaaaagc	cccggtcggt	4200
aaggaaggac	cttacgaggg	accggtgaag	aagcctggtg	ctttgaaagt	gaaagctaag	4260
aacttgatcg	tactgagag	tggtgcccc	ccgaccgact	tgcaaaagtt	ggtcatgggc	4320
aacaccaagc	ccgttgagct	catccttgac	gggaagacgg	tagccatttg	ctgtgctact	4380
ggagttttcg	gcactgctta	cctcgtgcct	cgtcatcttt	tcgcagaaaa	gtacgacaag	4440
atcatgttgg	acggcagagc	catgacagat	agtgactaca	gagtgtttga	gtttgagatt	4500
aaagtaaaag	gacaggacat	gctctcagac	gctgcgctca	ggggccggcc	aatccagtcc	4560
ggcgaccggc	tcgcagaacc	aatctggcaa	cactggcagc	ataattaaca	actactacat	4620
gcagcaatac	cagaactcca	tggacacaca	gttgggagac	aatgccatca	gtggaggctc	4680
caacgagggc	tccacggaca	caacttcaac	acacacaacc	aacactcaaa	acaatgactg	4740
gttctcgaag	ctcgccagtt	cagcttttac	cggctctgtt	ggtgcactgc	tcgccgacaa	4800
gaagacagag	gaaacgacac	ttcttgagga	ccgcacctc	accacccgca	acgggcacac	4860
cacctcgacg	acccaatcga	gtgtgggtgt	cacacacggg	tactccacag	aggaggacca	4920
cgttgctggg	cccaacacat	cgggcctgga	gacgcgagt	gtgcaggcag	agagattcta	4980
caaaaagtac	ttgtttgact	ggacaacgga	caaggcattt	ggacacctgg	aaaagctgga	5040
gctcccgctc	gaccaccacg	gtgtcttttg	acacttggtg	gactcgtacg	cctatatgag	5100
aaatggctgg	gatgttgagg	tgtccgctgt	tggcaaccag	ttcaacggcg	ggtgcctcct	5160
ggtggccatg	gtacctgaat	ggaaggaatt	tgacacacgg	gagaaatacc	aactcaccct	5220
tttcccgcac	cagtttatta	gccccagaac	taacatgact	gccacatca	cgggtccccta	5280
ccttggtgtg	aacaggtatg	atcagtacaa	gaagcataag	ccctggacat	tggttgtcat	5340
ggtcgtgtcg	ccacttacgg	tcaacaacac	tagtgcggca	caaatacagg	tctacgccaa	5400
catagctccg	acctatgttc	acgtggccgg	tgaactcccc	tcgaaagagg	ggattttccc	5460
ggttgcatgt	gcggacggtt	acggaggatt	ggtgacgaca	gacccgaaga	cagctgaccc	5520
tgcttatggc	aaggtgtaca	acccgcctag	gactaactac	cctgggcgct	tcaccaacct	5580
gttggaacgtg	gccgaagcgt	gtcccacttt	cctctgcttt	gacgacggga	aaccgtacgt	5640
caccacgcgg	acggatgaca	cccgaacttt	ggccaagttt	gacctttccc	ttgccgcaaa	5700

acatatgtcc aacacatacc tgtcagggat tgetcagtae tacacacagt actctggcac	5760
catcaatttg catttcatgt tcacaggttc cactgattca aaggcccgat acatggtggc	5820
ctacatccca cctggggtgg agacaccacc ggacacacct gaaagggctg cccactgoat	5880
tcacgctgaa tgggacactg gactaaactc caaattcact ttctcaatcc cgtacgtatc	5940
cgccgcggat tacgcgtaca cagcgtctga cacggcagaa acaatcaacg tacagggatg	6000
ggtctgcatc taccaaatta cacacgggaa ggctgaaaat gacaccttgg tegtgtcggg	6060
tagcgccggc aaagactttg agttgcgcct cccgattgac ccccgccagc agaccacgcg	6120
taccggggaa tcagcagacc cggtcaccac caccgtggag aactacggcg gtgagacaca	6180
aatccagaga cgtcaccaca cggacattgg ttctcatcatg gacagatttg tgaagatcca	6240
aagcttgagc ccaacacatg tcattgacct catgcagact caccaacacg gtctggtggg	6300
tgcttgctg cgtgcagcca cgtactactt ttctgacctg gaaattgttg tacggcacga	6360
aggcaatctg acctgggtgc ccaacggcgc ccctgaatca gccctgttga acaccagcaa	6420
ccccactgcc tacaacaagg caccattcac gagactcgct ctcccctaca ctgcgccgca	6480
ccgtgtgctg gcaacagtgt acaacgggac gagtaagtat gctgtgggtg gttcaggcag	6540
aagaggcgac atggggcttc tcgcggcgcg agtcgtgaaa cagcttcctg cttcatttaa	6600
ctacggtgca atcaaggccg acgccatcca cgaacttctc gtgcgcatga aacgggccga	6660
gctctactgc ccagaccgc tgttggcaat agaggtgtct tcgcaagaca ggcacaagca	6720
aaagatcatt gcaccagcaa agcagcttct gaattttgac ctgcttaagc tagccggaga	6780
cgttgagtcc aaccctgggc ctttcttctt ctccgacgtt aggtcaaact tttccaagct	6840
ggtagacaca atcaaccaga tgcaggaaga catgtccaca aagcacggac ctgactttaa	6900
ccggttggtg tccgcttttg aggagttggc cactggagtg aaagccatca ggaccggtct	6960
tgacgaggcc aagccctggg acaagcttat caagctcctg agccgcctgt cgtgcatggc	7020
cgctgtggca gcacggtcaa aggaccagc cttgtgtggc atcatgctgg ctgacaccgg	7080
tctcgagatt ctggacagca ctttcgtcgt gaagaagatc tccgactcgc tctccagtct	7140
cttccacgtg ccggcccccg ttttcagttt cggagccccg attctgttag ccgggttggt	7200
caaggctgcc tcgagtttct tccggtccac gccgaagac cttgagagag cagagaaaca	7260
gctcaaagca cgtgacatca acgacatttt cgccattctc aagaacggcg agtggctggt	7320
caaattgatc cttgccatcc gcgactggat caaggcatgg atagcctcag aagaaaagtt	7380
tgtcaccacg acagacttgg tacctagcat ccttgaaaaa cagcaggacc tcaacgaccc	7440
aagcaagtac aaggaagcca aggagtggct cgacaacgcg cgccaagcgt gtttgaagag	7500
cggaacgctc cacattgcca acctgtgcaa agtggtcgcc ccggcaccca gcaggtcgag	7560

acccgagccc	gtggtegttt	gcctccgtgg	caagtccggt	cagggcaaga	gtttccttgc	7620
aaacgtgctc	gcacaagcaa	tctctaccca	tttcaactggc	aggaccgatt	cagtttggtta	7680
ctgcccgcct	gaccctgacc	acttogaagg	ttacaaccaa	cagactgtcg	ttgtgatgga	7740
cgatttgggc	cagaaccccc	acggcaaaga	cttcaagtac	ttcgcccaaa	tggtttcaac	7800
aacgggggttc	atcccgccca	tggtcatcgct	tgaggataaa	ggcaaaccct	tcaacagtaa	7860
ggtcatcata	gcaaccacca	acctgtactc	gggcttcacc	ccgaggacta	tggtgtgccc	7920
tgatgccttg	aaccggaggt	ttcactttga	catcgacgtg	agcgccaagg	acgggtacaa	7980
aattaacaac	aaattggaca	tcatcaaagc	acttgaagat	actcacacca	acccagtggc	8040
aatgtttcag	tacgactgtg	cccttctcaa	cggcatggct	gttgaaatga	agagaatgca	8100
acaagatatg	ttcaagcctc	aaccaccctt	tcagaacgtg	taccaactgg	ttcaagaggt	8160
gattgagcgg	gtggagctcc	acgagaaggt	gtcgagccac	ccgattttca	aacagatctc	8220
aattccttcc	caaaaatccg	tgttgtactt	cctcattgag	aaaggacagc	acgaggcagc	8280
aattgaattc	tttgagggca	tggtgcacga	ctccatcaag	gaggagctcc	ggccgctcat	8340
ccaacaaacc	tcatttgtga	aacgcgcttt	taagcgcttg	aaggaaaact	ttgagattgt	8400
tgccctatgt	ctgaccctcc	tgGCCAACAT	agtgatcatg	atccgcgaaa	ctcgcaagag	8460
acagaagatg	gtggacgatg	cagtgagtga	gtacattgag	agagcaaaca	tcaccaccga	8520
cgacaagact	cttgatgagg	cggaaaagaa	ccctctggaa	accagcggtg	ccagcaccgt	8580
cggcttcaga	gagagacctc	tcccaggcca	aaaggcgctg	aatgacgaga	actccgagcc	8640
cgccagcct	gctgaagagc	aaccacaagc	tgaaggaccc	tacgctggcc	cgatggagag	8700
accagttaaa	gttaaagtga	aagcaaaagc	cccggctcgtt	aaggaaggac	cttacgaggg	8760
accggtgaag	aagcctgttg	ctttgaaagt	gaaagctaag	aacttgatcg	tcaactgagag	8820
tggtgcccc	ccgaccgact	tgcaaaagtt	ggtcatgggc	aacaccaagc	ccgttgagct	8880
catccttgac	gggaagacgg	tagccatttg	ctgtgctact	ggagttttcg	gcaactgctta	8940
cctcgtgcct	cgtcatcttt	tcgcagaaaa	gtacgacaag	atcatgttgg	acggcagagc	9000
catgacagat	agtgactaca	gagtgtttga	gtttgagatt	aaagtaaaag	gacaggacat	9060
gctctcagac	gctgcgctca	tggtgctcca	ccgtgggaat	cgcgtgagag	acatcacgaa	9120
acactttcgt	gacacagcaa	gaatgaagaa	aggcaccccc	gtcgttggtg	tgatcaacaa	9180
cgccgatgtc	gggagactga	ttttctctgg	tgaagccctt	acctacaagg	acattgtagt	9240
gtgcatggat	ggagacacca	tgcttgggct	ctttgcctac	aaagccgcaa	ccaaggctgg	9300
ttattgcgga	ggagccgtcc	tcgctaagga	cggggctgac	acgttcatcg	ttggcaccca	9360

```

ctccgctgga ggcaatggcg ttggatactg ctcttgcggt tccaggtcca tgctttctcaa 9420
gatgaaggca cacgttgacc ccgaaccaca ccacgagggg ttgattgttg acaccagaga 9480
tgtggaagag cgcgttcacg tgatgcgcaa aaccaagctt gcacccaccg ttgcgtacgg 9540
tgtgttccgt cctgagttcg ggcttgccgc cttgtccaac aaggacccgc gcctgaacga 9600
cgggtgttgtc ctcgacgaag tcatcttctc caaacacaag ggagacacaa agatgtctga 9660
ggaagacaaa gcgctgttcc gccgctgtgc tgctgactac gcgtcacgcc tgacacagcg 9720
gttgggtacg gcaaattgcc cactgagcat ctacgaggca attaaaggcg ttgatggact 9780
cgacgcaatg gaaccagaca ccgcacccgg cctcccctgg gcactccagg ggaagcgccg 9840
tggcgcgctc atcgacttcg agaacggcac tgttggaacc gaagttgagg ctgccttgaa 9900
gctcatggag aaaagagaat acaagtttgc ttgccaaacc ttcctgaagg acgagattcg 9960
cccgatggag aaagtacgtg ccggtgaagac tcgcattgtc gacgtcctac ctggtgaaca 10020
catcctctac accaggatga tgattggcag attttgtgca caaatgcact caaacaacgg 10080
accccaaatt ggctcggcgg tcggttgtaa ccctgatgtt gattggcaaa gatttggcac 10140
acacttcgcc caatacagaa acgtgtggga tgtggactat tcggccttcg atgctaacca 10200
ctgcagtac gccatgaaca tcatgtttga ggaagtgtt cgacacagaat tcgggttcca 10260
cccaaacgct gagtggatcc tgaagactct cgtgaacacg gaacacgcct atgagaacaa 10320
acgcatcact gttgaaggcg ggatgccatc tgggtgttcc gcaacaagca tcatcaacac 10380
aattttgaac aacatctacg tgctctacgc tttgcgtaga cactatgagg gagttgagct 10440
ggacacttac accatgatct cttacggaga cgatatcgtg gtggcaagtg attacgattt 10500
ggactttgag gctctcaagc ccacttcaa atcccttggc caaaccatca ctccagctga 10560
caaaagcgac aaaggttttg ttcttgggtc ctccattact gatgtcactt tcctcaaaag 10620
acacttccac atggattatg gaactgggtt ttacaaacct gtgatggcct caaagaccct 10680
tgaggctatc ctctcctttg cagccgtgg gaccatacag gagaagttga tctccgtggc 10740
aggactcgct gttcactctg gaccagacga gtaccggcgt ctcttcgagc cctttcaagg 10800
cctcttcgag attccaagct acagatcact ttacctgcgt tgggtgaacg ccgtgtgcgg 10860
cgacgca 10867

```

<210> 16
<211> 2109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp: Virut gây bệnh tay chân miệng (FMDV) và Rhinovirut typ 2 của bò (BRV2)

<400> 16

Gly Ala Gly Gln Ser Ser Pro Ala Thr Gly Ser Gln Asn Gln Ser Gly
 1 5 10 15
 Asn Thr Gly Ser Ile Ile Asn Asn Tyr Tyr Met Gln Gln Tyr Gln Asn
 20 25 30
 Ser Met Asp Thr Gln Leu Gly Asp Asn Ala Ile Ser Gly Gly Ser Asn
 35 40 45
 Glu Gly Ser Thr Asp Thr Thr Ser Thr His Thr Thr Asn Thr Gln Asn
 50 55 60
 Asn Asp Trp Phe Ser Lys Leu Ala Ser Ser Ala Phe Thr Gly Leu Phe
 65 70 75 80
 Gly Ala Leu Leu Ala Asp Lys Lys Thr Glu Glu Thr Thr Leu Leu Glu
 85 90 95
 Asp Arg Ile Leu Thr Thr Arg Asn Gly His Thr Thr Ser Thr Thr Gln
 100 105 110
 Ser Ser Val Gly Val Thr His Gly Tyr Ser Thr Glu Glu Asp His Val
 115 120 125
 Ala Gly Pro Asn Thr Ser Gly Leu Glu Thr Arg Val Val Gln Ala Glu
 130 135 140
 Arg Phe Tyr Lys Lys Tyr Leu Phe Asp Trp Thr Thr Asp Lys Ala Phe
 145 150 155 160
 Gly His Leu Glu Lys Leu Glu Leu Pro Ser Asp His His Gly Val Phe
 165 170 175
 Gly His Leu Val Asp Ser Tyr Ala Tyr Met Arg Asn Gly Trp Asp Val
 180 185 190
 Glu Val Ser Ala Val Gly Asn Gln Phe Asn Gly Gly Cys Leu Leu Val
 195 200 205
 Ala Met Val Pro Glu Trp Lys Glu Phe Asp Thr Arg Glu Lys Tyr Gln
 210 215 220
 Leu Thr Leu Phe Pro His Gln Phe Ile Ser Pro Arg Thr Asn Met Thr
 225 230 235 240
 Ala His Ile Thr Val Pro Tyr Leu Gly Val Asn Arg Tyr Asp Gln Tyr
 245 250 255
 Lys Lys His Lys Pro Trp Thr Leu Val Val Met Val Val Ser Pro Leu
 260 265 270
 Thr Val Asn Asn Thr Ser Ala Ala Gln Ile Lys Val Tyr Ala Asn Ile
 275 280 285
 Ala Pro Thr Tyr Val His Val Ala Gly Glu Leu Pro Ser Lys Glu Gly
 290 295 300
 Ile Phe Pro Val Ala Cys Ala Asp Gly Tyr Gly Gly Leu Val Thr Thr
 305 310 315 320

Asp Pro Lys Thr Ala Asp Pro Ala Tyr Gly Lys Val Tyr Asn Pro Pro
 325 330 335
 Arg Thr Asn Tyr Pro Gly Arg Phe Thr Asn Leu Leu Asp Val Ala Glu
 340 345 350
 Ala Cys Pro Thr Phe Leu Cys Phe Asp Asp Gly Lys Pro Tyr Val Thr
 355 360 365
 Thr Arg Thr Asp Asp Thr Arg Leu Leu Ala Lys Phe Asp Leu Ser Leu
 370 375 380
 Ala Ala Lys His Met Ser Asn Thr Tyr Leu Ser Gly Ile Ala Gln Tyr
 385 390 395 400
 Tyr Thr Gln Tyr Ser Gly Thr Ile Asn Leu His Phe Met Phe Thr Gly
 405 410 415
 Ser Thr Asp Ser Lys Ala Arg Tyr Met Val Ala Tyr Ile Pro Pro Gly
 420 425 430
 Val Glu Thr Pro Pro Asp Thr Pro Glu Arg Ala Ala His Cys Ile His
 435 440 445
 Ala Glu Trp Asp Thr Gly Leu Asn Ser Lys Phe Thr Phe Ser Ile Pro
 450 455 460
 Tyr Val Ser Ala Ala Asp Tyr Ala Tyr Thr Ala Ser Asp Thr Ala Glu
 465 470 475 480
 Thr Ile Asn Val Gln Gly Trp Val Cys Ile Tyr Gln Ile Thr His Gly
 485 490 495
 Lys Ala Glu Asn Asp Thr Leu Val Val Ser Val Ser Ala Gly Lys Asp
 500 505 510
 Phe Glu Leu Arg Leu Pro Ile Asp Pro Arg Gln Gln Thr Thr Ala Thr
 515 520 525
 Gly Glu Ser Ala Asp Pro Val Thr Thr Thr Val Glu Asn Tyr Gly Gly
 530 535 540
 Glu Thr Gln Ile Gln Arg Arg His His Thr Asp Ile Gly Phe Ile Met
 545 550 555 560
 Asp Arg Phe Val Lys Ile Gln Ser Leu Ser Pro Thr His Val Ile Asp
 565 570 575
 Leu Met Gln Thr His Gln His Gly Leu Val Gly Ala Leu Leu Arg Ala
 580 585 590
 Ala Thr Tyr Tyr Phe Ser Asp Leu Glu Ile Val Val Arg His Glu Gly
 595 600 605
 Asn Leu Thr Trp Val Pro Asn Gly Ala Pro Glu Ser Ala Leu Leu Asn
 610 615 620
 Thr Ser Asn Pro Thr Ala Tyr Asn Lys Ala Pro Phe Thr Arg Leu Ala
 625 630 635 640

Leu Pro Tyr Thr Ala Pro His Arg Val Leu Ala Thr Val Tyr Asn Gly
 645 650 655
 Thr Ser Lys Tyr Ala Val Gly Gly Ser Gly Arg Arg Gly Asp Met Gly
 660 665 670
 Ser Leu Ala Ala Arg Val Val Lys Gln Leu Pro Ala Ser Phe Asn Tyr
 675 680 685
 Gly Ala Ile Lys Ala Asp Ala Ile His Glu Leu Leu Val Arg Met Lys
 690 695 700
 Arg Ala Glu Leu Tyr Cys Pro Arg Pro Leu Leu Ala Ile Glu Val Ser
 705 710 715 720
 Ser Gln Asp Arg His Lys Gln Lys Ile Ile Ala Pro Ala Lys Gln Leu
 725 730 735
 Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro
 740 745 750
 Gly Pro Phe Phe Phe Ser Asp Val Arg Ser Asn Phe Ser Lys Leu Val
 755 760 765
 Asp Thr Ile Asn Gln Met Gln Glu Asp Met Ser Thr Lys His Gly Pro
 770 775 780
 Asp Phe Asn Arg Leu Val Ser Ala Phe Glu Glu Leu Ala Thr Gly Val
 785 790 795 800
 Lys Ala Ile Arg Thr Gly Leu Asp Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Lys Leu
 805 810 815
 Ile Lys Leu Leu Ser Arg Leu Ser Cys Met Ala Ala Val Ala Ala Arg
 820 825 830
 Ser Lys Asp Pro Val Leu Val Ala Ile Met Leu Ala Asp Thr Gly Leu
 835 840 845
 Glu Ile Leu Asp Ser Thr Phe Val Val Lys Lys Ile Ser Asp Ser Leu
 850 855 860
 Ser Ser Leu Phe His Val Pro Ala Pro Val Phe Ser Phe Gly Ala Pro
 865 870 875 880
 Ile Leu Leu Ala Gly Leu Val Lys Val Ala Ser Ser Phe Phe Arg Ser
 885 890 895
 Thr Pro Glu Asp Leu Glu Arg Ala Glu Lys Gln Leu Lys Ala Arg Asp
 900 905 910
 Ile Asn Asp Ile Phe Ala Ile Leu Lys Asn Gly Glu Trp Leu Val Lys
 915 920 925
 Leu Ile Leu Ala Ile Arg Asp Trp Ile Lys Ala Trp Ile Ala Ser Glu
 930 935 940
 Glu Lys Phe Val Thr Thr Thr Asp Leu Val Pro Ser Ile Leu Glu Lys
 945 950 955 960
 Gln Gln Asp Leu Asn Asp Pro Ser Lys Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Trp
 965 970 975

```

Leu Asp Asn Ala Arg Gln Ala Cys Leu Lys Ser Gly Asn Val His Ile
      980                      985                      990

Ala Asn Leu Cys Lys Val Val Ala  Pro Ala Pro Ser Arg  Ser Arg Pro
      995                      1000                      1005

Glu Pro  Val Val Val Cys Leu  Arg Gly Lys Ser Gly  Gln Gly Lys
    1010                      1015                      1020

Ser Phe  Leu Ala Asn Val Leu  Ala Gln Ala Ile Ser  Thr His Phe
    1025                      1030                      1035

Thr Gly  Arg Thr Asp Ser Val  Trp Tyr Cys Pro Pro  Asp Pro Asp
    1040                      1045                      1050

His Phe  Asp Gly Tyr Asn Gln  Gln Thr Val Val Val  Met Asp Asp
    1055                      1060                      1065

Leu Gly  Gln Asn Pro Asp Gly  Lys Asp Phe Lys Tyr  Phe Ala Gln
    1070                      1075                      1080

Met Val  Ser Thr Thr Gly Phe  Ile Pro Pro Met Ala  Ser Leu Glu
    1085                      1090                      1095

Asp Lys  Gly Lys Pro Phe Asn  Ser Lys Val Ile Ile  Ala Thr Thr
    1100                      1105                      1110

Asn Leu  Tyr Ser Gly Phe Thr  Pro Arg Thr Met Val  Cys Pro Asp
    1115                      1120                      1125

Ala Leu  Asn Arg Arg Phe His  Phe Asp Ile Asp Val  Ser Ala Lys
    1130                      1135                      1140

Asp Gly  Tyr Lys Ile Asn Asn  Lys Leu Asp Ile Ile  Lys Ala Leu
    1145                      1150                      1155

Glu Asp  Thr His Thr Asn Pro  Val Ala Met Phe Gln  Tyr Asp Cys
    1160                      1165                      1170

Ala Leu  Leu Asn Gly Met Ala  Val Glu Met Lys Arg  Met Gln Gln
    1175                      1180                      1185

Asp Met  Phe Lys Pro Gln Pro  Pro Leu Gln Asn Val  Tyr Gln Leu
    1190                      1195                      1200

Val Gln  Glu Val Ile Glu Arg  Val Glu Leu His Glu  Lys Val Ser
    1205                      1210                      1215

Ser His  Pro Ile Phe Lys Gln  Ile Ser Ile Pro Ser  Gln Lys Ser
    1220                      1225                      1230

Val Leu  Tyr Phe Leu Ile Glu  Lys Gly Gln His Glu  Ala Ala Ile
    1235                      1240                      1245

Glu Phe  Phe Glu Gly Met Val  His Asp Ser Ile Lys  Glu Glu Leu
    1250                      1255                      1260

Arg Pro  Leu Ile Gln Gln Thr  Ser Phe Val Lys Arg  Ala Phe Lys
    1265                      1270                      1275

```

Arg	Leu	Lys	Glu	Asn	Phe	Glu	Ile	Val	Ala	Leu	Cys	Leu	Thr	Leu
1280						1285					1290			
Leu	Ala	Asn	Ile	Val	Ile	Met	Ile	Arg	Glu	Thr	Arg	Lys	Arg	Gln
1295						1300					1305			
Lys	Met	Val	Asp	Asp	Ala	Val	Ser	Glu	Tyr	Ile	Glu	Arg	Ala	Asn
1310						1315					1320			
Ile	Thr	Thr	Asp	Asp	Lys	Thr	Leu	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Asn	Pro
1325						1330					1335			
Leu	Glu	Thr	Ser	Gly	Ala	Ser	Thr	Val	Gly	Phe	Arg	Glu	Arg	Pro
1340						1345					1350			
Leu	Pro	Gly	Gln	Lys	Ala	Arg	Asn	Asp	Glu	Asn	Ser	Glu	Pro	Ala
1355						1360					1365			
Gln	Pro	Ala	Glu	Glu	Gln	Pro	Gln	Ala	Glu	Gly	Pro	Tyr	Ala	Gly
1370						1375					1380			
Pro	Met	Glu	Arg	Pro	Val	Lys	Val	Lys	Val	Lys	Ala	Lys	Ala	Pro
1385						1390					1395			
Val	Val	Lys	Glu	Gly	Pro	Tyr	Glu	Gly	Pro	Val	Lys	Lys	Pro	Val
1400						1405					1410			
Ala	Leu	Lys	Val	Lys	Ala	Lys	Asn	Leu	Ile	Val	Thr	Glu	Ser	Gly
1415						1420					1425			
Ala	Pro	Pro	Thr	Asp	Leu	Gln	Lys	Leu	Val	Met	Gly	Asn	Thr	Lys
1430						1435					1440			
Pro	Val	Glu	Leu	Ile	Leu	Asp	Gly	Lys	Thr	Val	Ala	Ile	Cys	Cys
1445						1450					1455			
Ala	Thr	Gly	Val	Phe	Gly	Thr	Ala	Tyr	Leu	Val	Pro	Arg	His	Leu
1460						1465					1470			
Phe	Ala	Glu	Lys	Tyr	Asp	Lys	Ile	Met	Leu	Asp	Gly	Arg	Ala	Met
1475						1480					1485			
Thr	Asp	Ser	Asp	Tyr	Arg	Val	Phe	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Val	Lys
1490						1495					1500			
Gly	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Asp	Ala	Ala	Leu	Met	Val	Leu	His	Arg
1505						1510					1515			
Gly	Asn	Arg	Val	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Phe	Arg	Asp	Thr	Ala
1520						1525					1530			
Arg	Met	Lys	Lys	Gly	Thr	Pro	Val	Val	Gly	Val	Ile	Asn	Asn	Ala
1535						1540					1545			
Asp	Val	Gly	Arg	Leu	Ile	Phe	Ser	Gly	Glu	Ala	Leu	Thr	Tyr	Lys
1550						1555					1560			
Asp	Ile	Val	Val	Cys	Met	Asp	Gly	Asp	Thr	Met	Pro	Gly	Leu	Phe
1565						1570					1575			
Ala	Tyr	Lys	Ala	Ala	Thr	Lys	Ala	Gly	Tyr	Cys	Gly	Gly	Ala	Val

1580		1585		1590
Leu Ala Lys Asp Gly Ala Asp Thr Phe Ile Val Gly Thr His Ser				
1595		1600		1605
Ala Gly Gly Asn Gly Val Gly Tyr Cys Ser Cys Val Ser Arg Ser				
1610		1615		1620
Met Leu Leu Lys Met Lys Ala His Val Asp Pro Glu Pro His His				
1625		1630		1635
Glu Gly Leu Ile Val Asp Thr Arg Asp Val Glu Glu Arg Val His				
1640		1645		1650
Val Met Arg Lys Thr Lys Leu Ala Pro Thr Val Ala Tyr Gly Val				
1655		1660		1665
Phe Arg Pro Glu Phe Gly Pro Ala Ala Leu Ser Asn Lys Asp Pro				
1670		1675		1680
Arg Leu Asn Asp Gly Val Val Leu Asp Glu Val Ile Phe Ser Lys				
1685		1690		1695
His Lys Gly Asp Thr Lys Met Ser Glu Glu Asp Lys Ala Leu Phe				
1700		1705		1710
Arg Arg Cys Ala Ala Asp Tyr Ala Ser Arg Leu His Ser Val Leu				
1715		1720		1725
Gly Thr Ala Asn Ala Pro Leu Ser Ile Tyr Glu Ala Ile Lys Gly				
1730		1735		1740
Val Asp Gly Leu Asp Ala Met Glu Pro Asp Thr Ala Pro Gly Leu				
1745		1750		1755
Pro Trp Ala Leu Gln Gly Lys Arg Arg Gly Ala Leu Ile Asp Phe				
1760		1765		1770
Glu Asn Gly Thr Val Gly Pro Glu Val Glu Ala Ala Leu Lys Leu				
1775		1780		1785
Met Glu Lys Arg Glu Tyr Lys Phe Ala Cys Gln Thr Phe Leu Lys				
1790		1795		1800
Asp Glu Ile Arg Pro Met Glu Lys Val Arg Ala Gly Lys Thr Arg				
1805		1810		1815
Ile Val Asp Val Leu Pro Val Glu His Ile Leu Tyr Thr Arg Met				
1820		1825		1830
Met Ile Gly Arg Phe Cys Ala Gln Met His Ser Asn Asn Gly Pro				
1835		1840		1845
Gln Ile Gly Ser Ala Val Gly Cys Asn Pro Asp Val Asp Trp Gln				
1850		1855		1860
Arg Phe Gly Thr His Phe Ala Gln Tyr Arg Asn Val Trp Asp Val				
1865		1870		1875
Asp Tyr Ser Ala Phe Asp Ala Asn His Cys Ser Asp Ala Met Asn				
1880		1885		1890

Ile Met Phe Glu Glu Val Phe Arg Thr Glu Phe Gly Phe His Pro
 1895 1900 1905
 Asn Ala Glu Trp Ile Leu Lys Thr Leu Val Asn Thr Glu His Ala
 1910 1915 1920
 Tyr Glu Asn Lys Arg Ile Thr Val Glu Gly Gly Met Pro Ser Gly
 1925 1930 1935
 Cys Ser Ala Thr Ser Ile Ile Asn Thr Ile Leu Asn Asn Ile Tyr
 1940 1945 1950
 Val Leu Tyr Ala Leu Arg Arg His Tyr Glu Gly Val Glu Leu Asp
 1955 1960 1965
 Thr Tyr Thr Met Ile Ser Tyr Gly Asp Asp Ile Val Val Ala Ser
 1970 1975 1980
 Asp Tyr Asp Leu Asp Phe Glu Ala Leu Lys Pro His Phe Lys Ser
 1985 1990 1995
 Leu Gly Gln Thr Ile Thr Pro Ala Asp Lys Ser Asp Lys Gly Phe
 2000 2005 2010
 Val Leu Gly His Ser Ile Thr Asp Val Thr Phe Leu Lys Arg His
 2015 2020 2025
 Phe His Met Asp Tyr Gly Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Val Met Ala
 2030 2035 2040
 Ser Lys Thr Leu Glu Ala Ile Leu Ser Phe Ala Arg Arg Gly Thr
 2045 2050 2055
 Ile Gln Glu Lys Leu Ile Ser Val Ala Gly Leu Ala Val His Ser
 2060 2065 2070
 Gly Pro Asp Glu Tyr Arg Arg Leu Phe Glu Pro Phe Gln Gly Leu
 2075 2080 2085
 Phe Glu Ile Pro Ser Tyr Arg Ser Leu Tyr Leu Arg Trp Val Asn
 2090 2095 2100
 Ala Val Cys Gly Asp Ala
 2105

<210> 17

<211> 6327

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Nucleotit dung hợp: Virut gây bệnh tay chân miệng (FMDV) và Rhinovirut Typ 2 của bò (BRV2)

<400> 17

ggggccggcc aatccagtcc ggcgaccggc tcgcagaacc aatctggcaa cactggcagc 60

ataattaaca actactacat gcagcaatac cagaactcca tggacacaca gttggggagac 120

aatgccatca	gtggaggctc	caacgagggc	tccacggaca	caacttcaac	acacacaacc	180
aacactcaaa	acaatgactg	gttctcgaag	ctcgccagtt	cagcttttac	cggtctgttc	240
ggtgcactgc	tcgccgacaa	gaagacagag	gaaacgacac	ttcttgagga	cgcacatcctc	300
accacccgca	acgggcacac	cacctcgacg	acccaatcga	gtgtgggtgt	cacacacggg	360
tactccacag	aggaggacca	cgttgctggg	cccaacacat	cgggcctgga	gacgcgagtg	420
gtgcaggcag	agagattcta	caaaaagtac	ttgtttgact	ggacaacgga	caaggcattt	480
ggacacctgg	aaaagctgga	gctcccgtcc	gaccaccacg	gtgtcttttg	acacttggtg	540
gactcgtacg	cctatatgag	aaatggctgg	gatgttgagg	tgtccgctgt	tggcaaccag	600
ttcaacggcg	ggtgcctcct	ggtggccatg	gtacctgaat	ggaaggaatt	tgacacacgg	660
gagaaatacc	aactcaccct	tttcccgcac	cagtttatta	gccccagaac	taacatgact	720
gcccacatca	cggtccccta	ccttggtgtg	aacaggatatg	atcagtacaa	gaagcataag	780
ccctggacat	tggttgtcat	ggtcgtgtcg	ccacttacgg	tcaacaacac	tagtgcgga	840
caaatcaagg	tctacgcaa	catagctccg	acctatgttc	acgtggccgg	tgaactcccc	900
tcgaaagagg	ggattttccc	ggttgcatgt	gcgacgggtt	acggaggatt	ggtgacgaca	960
gaccogaaga	cagctgaccc	tgcttatggc	aagggtgtaca	acccgcctag	gactaactac	1020
cctgggcgct	tcaccaacct	gttgacgtg	gccgaagcgt	gtcccacttt	cctctgcttt	1080
gacgacggga	aaccgtacgt	caccacgcgg	acggatgaca	cccgactttt	ggccaagttt	1140
gacctttccc	ttgccgcaaa	acatatgtcc	aacacatacc	tgtcagggat	tgctcagtac	1200
tacacacagt	actctggcac	catcaatttg	catttcattg	tcacaggttc	cactgattca	1260
aaggcccgat	acatggtggc	ctacatccca	cctgggggtg	agacaccacc	ggacacacct	1320
gaaagggtg	cccactgcat	tcacgctgaa	tgggacactg	gactaaactc	caaattcact	1380
ttctcaatcc	cgtacgtatc	cgccgcggat	tacgcgtaca	cagcgtctga	cacggcagaa	1440
acaatcaacg	tacagggatg	ggtctgcatc	taccaaatta	cacacgggaa	ggctgaaaat	1500
gacaccttgg	tcgtgtcgg	tagcgccggc	aaagactttg	agttgcgcct	cccgattgac	1560
ccccgccagc	agaccaccgc	taccggggaa	tcagcagacc	cggtcaccac	caccgtggag	1620
aactacggcg	gtgagacaca	aatccagaga	cgtcaccaca	cggacattgg	tttcatcatg	1680
gacagatttg	tgaagatcca	aagcttgagc	ccaacacatg	tcattgacct	catgcagact	1740
caccaacacg	gtctggtggg	tgcttgctg	cgtgcagcca	cgtactactt	ttctgacctg	1800
gaaattgttg	tacggcacga	aggcaatctg	acctgggtgc	ccaacggcgc	ccctgaatca	1860
gccctgttga	acaccagcaa	ccccactgcc	tacaacaagg	caccattcac	gagactcgct	1920
ctcccctaca	ctgcgccgca	ccgtgtgctg	gcaacagtgt	acaacgggac	gagtaagtat	1980

gctgtgggtg gttcaggcag aagaggcgac atgggggtctc tcgcggcgcg agtcgtgaaa	2040
cagcttcctg cttcatttaa ctacgggtgca atcaaggccg acgccatcca cgaacttctc	2100
gtgcgcatga aacggggccga gctctactgc cccagaccgc tgttggcaat agaggtgtct	2160
tcgcaagaca ggcacaagca aaagatcatt gcaccagcaa agcagcttct gaattttgac	2220
ctgcttaagc tagccggaga cgttgagtcc aaccctgggc ccttcttctt ctccgacgtt	2280
aggtcaaact tttccaagct ggtagacaca atcaaccaga tgcaggaaga catgtccaca	2340
aagcacggac ctgactttta ccggttggtg tccgcttttg aggagttggc cactggagtg	2400
aaagccatca ggaccggtct tgacgaggcc aagccctggt acaagcttat caagctcctg	2460
agccgcctgt cgtgcatggc cgctgtggca gcacggtcaa aggaccagc ccttgtggcc	2520
atcatgctgg ctgacaccgg tctcgagatt ctggacagca ccttcgtcgt gaagaagatc	2580
tccgactcgc tctccagtct cttccacgtg ccggcccccgc tcttcagttt cggagccccg	2640
attctgttag ccgggttggt caaggtcgcc tcgagtttct tccggtccac gccgaagac	2700
cttgagagag cagagaaaca gctcaaagca cgtgacatca acgacatttt cgccattctc	2760
aagaacggcg agtggctggt caaattgatc cttgccatcc gcgactggat caaggcatgg	2820
atagcctcag aagaaaagtt tgtcaccacg acagacttgg tacctagcat ccttgaaaaa	2880
cagcaggacc tcaacgaccc aagcaagtac aaggaagcca aggagtggct cgacaacgcg	2940
cgccaagcgt gtttgaagag cgggaacgtc cacattgcc aacctgtgcaa agtggtcgcc	3000
ccggcaccca gcaggtcgag acccgagccc gtggtcgttt gcctccgtgg caagtccggt	3060
cagggcaaga gtttccttgc aaacgtgctc gcacaagcaa tctctacca tttactggc	3120
aggaccgatt cagtttggtg ctgcccgcct gaccctgacc acttcgacgg ttacaaccaa	3180
cagactgtcg ttgtgatgga cgatttgggc cagaaccccg acggcaaaga cttcaagtac	3240
ttcgcccaa tggtttcaac aacgggggtc atcccgcca tggcatcgct tgaggataaa	3300
ggcaaaccct tcaacagtaa ggtcatcata gcaaccacca acctgtactc gggcttcacc	3360
ccgaggacta tgggtgtgcc tgatgccctg aaccggaggt ttcactttga catcgacgtg	3420
agcgccaagg acgggtacaa aattaacaac aaattggaca tcatcaaagc acttgaagat	3480
actcacacca acccagtggc aatgtttcag tacgactgtg cccttctcaa cggcatggct	3540
gttgaaatga agagaatgca acaagatatg ttcaagcctc aaccaccctc tcagaacgtg	3600
taccaactgg ttcaagaggt gattgagcgg gtggagctcc acgagaaggt gtcgagccac	3660
ccgattttca aacagatctc aattccttcc caaaaatccg tgttgtactt cctcattgag	3720
aaaggacagc acgaggcagc aattgaattc tttgagggca tgggtgcacga ctccatcaag	3780

gaggagctcc ggccgctcat ccaacaaacc tcatttgtga aacgcgcttt taagcgcttg	3840
aaggaaaact ttgagattgt tgccctatgt ctgacctcc tggccaacat agtgatcatg	3900
atccgcgaaa ctgcgaagag acagaagatg gtggacgatg cagtgagtga gtacattgag	3960
agagcaaaca tcaccaccga cgacaagact cttgatgagg cggaaaagaa ccctctggaa	4020
accagcgggtg ccagcaccgt cggcttcaga gagagacctc tcccaggcca aaaggcgctg	4080
aatgacgaga actccgagcc cgcccagcct gctgaagagc aaccacaagc tgaaggaccc	4140
tacgctggcc cgatggagag acagaaacca ctgaaagtga aagcaaaagc cccggctggt	4200
aaggaaggac cttacgaggg accggtgaag aagcctgttg ctttgaaagt gaaagctaag	4260
aacttgatcg tctactgagag tgggtgcccc cgcaccgact tgcaaaagtt ggtcatgggc	4320
aacaccaagc ccgttgagct catccttgac ggggaagacgg tagccatttg ctgtgctact	4380
ggagttttcg gcactgctta cctcgtgcct cgtcatcttt tcgcagaaaa gtacgacaag	4440
atcatgtttg acggcgagag catgacagat agtgactaca gagtgtttga gtttgagatt	4500
aaagtaaaag gacaggacat gctctcagac gctgcgctca tgggtgctcca ccgtgggaat	4560
cgcgtagag acatcacgaa acactttcgt gacacagcaa gaatgaagaa aggcaccccc	4620
gtcgttggtg tgatcaacaa cgccgatgtc gggagactga ttttctctgg tgaagccctt	4680
acctacaagg acattgtagt gtgcatggat ggagacacca tgcttgggct ctttgccctac	4740
aaagccgcaa ccaaggctgg ttattgcgga ggagccgtcc tcgctaagga cggggctgac	4800
acgttcatcg ttggcaccca ctccgctgga ggcaatggcg ttggatactg ctcttgcggt	4860
tccagggtcca tgcttctcaa gatgaaggca cacgttgacc ccgaaccaca ccacgagggg	4920
ttgattgttg acaccagaga tgtggaagag cgcgttcacg tgatgcgcaa aaccaagctt	4980
gcacccaccg ttgcgtacgg tgtgttcgt cctgagttcg ggcttgcgc cttgtccaac	5040
aaggacccgc gcctgaacga cgggtgtgtc ctgcagcaag tcatcttctc caaacacaag	5100
ggagacacaa agatgtctga ggaagacaaa gcgctgttcc gccgctgtgc tgctgactac	5160
gcgtcacgcc tgcacagcgt gttgggtacg gcaaagccc cactgagcat ctacgaggca	5220
attaaaggcg ttgatggact cgacgcaatg gaaccagaca ccgcacccgg cctcccctgg	5280
gcactccagg ggaagcgccg tggcgcgctc atcgacttcg agaacggcac tgttggaacc	5340
gaagttgagg ctgccttgaa gctcatggag aaaagagaat acaagtttgc ttgccaaacc	5400
ttcctgaagg acgagattcg cccgatggag aaagtacgtg ccggtgaagac tcgcattgtc	5460
gacgtcctac ctgttgaaaca catcctctac accaggatga tgattggcag attttgtgca	5520
caaatgcact caaacaacgg accccaaatt ggctcggcgg tcggttgtaa ccctgatgtt	5580
gattggcaaa gatttggcac acacttcgcc caatacagaa acgtgtggga tgtggactat	5640

```

tcggccttcg atgctaacca ctgcagtgc gccatgaaca tcatgtttga ggaagtgttt      5700
cgcacagaat tcgggttcca cccaaacgct gagtggatcc tgaagactct cgtgaacacg      5760
gaacacgcct atgagaacaa acgcatcact gttgaaggcg ggatgccatc tggttgttcc      5820
gcaacaagca tcatcaacac aattttgaac aacatctacg tgctctacgc tttgcgtaga      5880
cactatgagg gagttgagct ggacacttac accatgatct cttacggaga cgatatcgtg      5940
gtggcaagtg attacgattt ggactttgag gctctcaagc cccacttcaa atccottggt      6000
caaaccatca ctccagctga caaaagcgac aaagggtttg ttcttggtca ctccattact      6060
gatgtcactt tcctcaaaag acacttccac atggattatg gaactggggt ttacaaacct      6120
gtgatggcct caaagaccct tgaggctatc ctctcctttg cagccgtgg gaccatacag      6180
gagaagttga tctccgtggc aggactcgct gttcactctg gaccagacga gtaccggcgt      6240
ctcttcgagc cctttcaagg cctcttcgag attccaagct acagatcact ttacctgcgt      6300
tgggtgaacg ccgtgtgcgg cgacgca                                          6327

```

<210> 18

<211> 2109

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein dung hợp: Virut gây bệnh tay chân miệng (FMDV) và Bovine Rhinovirus Type 2 (BRV2)

<400> 18

```

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

```

Ala	Gly	Pro	Asn	Thr	Ser	Gly	Leu	Glu	Thr	Arg	Val	Val	Gln	Ala	Glu		
	130					135					140						
Arg	Phe	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Leu	Phe	Asp	Trp	Thr	Thr	Asp	Lys	Ala	Phe		
145					150					155					160		
Gly	His	Leu	Glu	Lys	Leu	Glu	Leu	Pro	Ser	Asp	His	His	Gly	Val	Phe		
				165					170					175			
Gly	His	Leu	Val	Asp	Ser	Tyr	Ala	Tyr	Met	Arg	Asn	Gly	Trp	Asp	Val		
			180					185					190				
Glu	Val	Ser	Ala	Val	Gly	Asn	Gln	Phe	Asn	Gly	Gly	Cys	Leu	Leu	Val		
	195						200					205					
Ala	Met	Val	Pro	Glu	Trp	Lys	Glu	Phe	Asp	Thr	Arg	Glu	Lys	Tyr	Gln		
210						215					220						
Leu	Thr	Leu	Phe	Pro	His	Gln	Phe	Ile	Ser	Pro	Arg	Thr	Asn	Met	Thr		
225					230					235					240		
Ala	His	Ile	Thr	Val	Pro	Tyr	Leu	Gly	Val	Asn	Arg	Tyr	Asp	Gln	Tyr		
				245					250					255			
Lys	Lys	His	Lys	Pro	Trp	Thr	Leu	Val	Val	Met	Val	Val	Ser	Pro	Leu		
			260					265					270				
Thr	Val	Asn	Asn	Thr	Ser	Ala	Ala	Gln	Ile	Lys	Val	Tyr	Ala	Asn	Ile		
		275					280					285					
Ala	Pro	Thr	Tyr	Val	His	Val	Ala	Gly	Glu	Leu	Pro	Ser	Lys	Glu	Gly		
290						295					300						
Ile	Phe	Pro	Val	Ala	Cys	Ala	Asp	Gly	Tyr	Gly	Gly	Leu	Val	Thr	Thr		
305					310					315					320		
Asp	Pro	Lys	Thr	Ala	Asp	Pro	Ala	Tyr	Gly	Lys	Val	Tyr	Asn	Pro	Pro		
				325					330					335			
Arg	Thr	Asn	Tyr	Pro	Gly	Arg	Phe	Thr	Asn	Leu	Leu	Asp	Val	Ala	Glu		
			340					345					350				
Ala	Cys	Pro	Thr	Phe	Leu	Cys	Phe	Asp	Asp	Gly	Lys	Pro	Tyr	Val	Thr		
		355					360					365					
Thr	Arg	Thr	Asp	Asp	Thr	Arg	Leu	Leu	Ala	Lys	Phe	Asp	Leu	Ser	Leu		
	370					375					380						
Ala	Ala	Lys	His	Met	Ser	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser	Gly	Ile	Ala	Gln	Tyr		
385					390					395					400		
Tyr	Thr	Gln	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ile	Asn	Leu	His	Phe	Met	Phe	Thr	Gly		
				405					410					415			
Ser	Thr	Asp	Ser	Lys	Ala	Arg	Tyr	Met	Val	Ala	Tyr	Ile	Pro	Pro	Gly		
			420					425					430				
Val	Glu	Thr	Pro	Pro	Asp	Thr	Pro	Glu	Arg	Ala	Ala	His	Cys	Ile	His		
		435					440					445					
Ala	Glu	Trp	Asp	Thr	Gly	Leu	Asn	Ser	Lys	Phe	Thr	Phe	Ser	Ile	Pro		
450						455					460						

Tyr Val Ser Ala Ala Asp Tyr Ala Tyr Thr Ala Ser Asp Thr Ala Glu
 465 470 475 480
 Thr Ile Asn Val Gln Gly Trp Val Cys Ile Tyr Gln Ile Thr His Gly
 485 490 495
 Lys Ala Glu Asn Asp Thr Leu Val Val Ser Val Ser Ala Gly Lys Asp
 500 505 510
 Phe Glu Leu Arg Leu Pro Ile Asp Pro Arg Gln Gln Thr Thr Ala Thr
 515 520 525
 Gly Glu Ser Ala Asp Pro Val Thr Thr Thr Val Glu Asn Tyr Gly Gly
 530 535 540
 Glu Thr Gln Ile Gln Arg Arg His His Thr Asp Ile Gly Phe Ile Met
 545 550 555 560
 Asp Arg Phe Val Lys Ile Gln Ser Leu Ser Pro Thr His Val Ile Asp
 565 570 575
 Leu Met Gln Thr His Gln His Gly Leu Val Gly Ala Leu Leu Arg Ala
 580 585 590
 Ala Thr Tyr Tyr Phe Ser Asp Leu Glu Ile Val Val Arg His Glu Gly
 595 600 605
 Asn Leu Thr Trp Val Pro Asn Gly Ala Pro Glu Ser Ala Leu Leu Asn
 610 615 620
 Thr Ser Asn Pro Thr Ala Tyr Asn Lys Ala Pro Phe Thr Arg Leu Ala
 625 630 635 640
 Leu Pro Tyr Thr Ala Pro His Arg Val Leu Ala Thr Val Tyr Asn Gly
 645 650 655
 Thr Ser Lys Tyr Ala Val Gly Gly Ser Gly Arg Arg Gly Asp Met Gly
 660 665 670
 Ser Leu Ala Ala Arg Val Val Lys Gln Leu Pro Ala Ser Phe Asn Tyr
 675 680 685
 Gly Ala Ile Lys Ala Asp Ala Ile His Glu Leu Leu Val Arg Met Lys
 690 695 700
 Arg Ala Glu Leu Tyr Cys Pro Arg Pro Leu Leu Ala Ile Glu Val Ser
 705 710 715 720
 Ser Gln Asp Arg His Lys Gln Lys Ile Ile Ala Pro Ala Lys Gln Leu
 725 730 735
 Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro
 740 745 750
 Gly Pro Phe Phe Phe Ser Asp Val Arg Ser Asn Phe Ser Lys Leu Val
 755 760 765
 Asp Thr Ile Asn Gln Met Gln Glu Asp Met Ser Thr Lys His Gly Pro
 770 775 780

```

Asp Phe Asn Arg Leu Val Ser Ala Phe Glu Glu Leu Ala Thr Gly Val
785                               790                               800

Lys Ala Ile Arg Thr Gly Leu Asp Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Lys Leu
                               805                               810                               815

Ile Lys Leu Leu Ser Arg Leu Ser Cys Met Ala Ala Val Ala Ala Arg
                               820                               825                               830

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

Glu Ile Leu Asp Ser Thr Phe Val Val Lys Lys Ile Ser Asp Ser Leu
850                               855                               860

Ser Ser Leu Phe His Val Pro Ala Pro Val Phe Ser Phe Gly Ala Pro
865                               870                               875                               880

Ile Leu Leu Ala Gly Leu Val Lys Val Ala Ser Ser Phe Phe Arg Ser
                               885                               890                               895

Thr Pro Glu Asp Leu Glu Arg Ala Glu Lys Gln Leu Lys Ala Arg Asp
                               900                               905                               910

Ile Asn Asp Ile Phe Ala Ile Leu Lys Asn Gly Glu Trp Leu Val Lys
915                               920                               925

Leu Ile Leu Ala Ile Arg Asp Trp Ile Lys Ala Trp Ile Ala Ser Glu
930                               935                               940

Glu Lys Phe Val Thr Thr Thr Asp Leu Val Pro Ser Ile Leu Glu Lys
945                               950                               955                               960

Gln Gln Asp Leu Asn Asp Pro Ser Lys Tyr Lys Glu Ala Lys Glu Trp
                               965                               970                               975

Leu Asp Asn Ala Arg Gln Ala Cys Leu Lys Ser Gly Asn Val His Ile
                               980                               985                               990

Ala Asn Leu Cys Lys Val Val Ala Pro Ala Pro Ser Arg Ser Arg Pro
                               995                               1000                               1005

Glu Pro Val Val Val Cys Leu Arg Gly Lys Ser Gly Gln Gly Lys
1010                               1015                               1020

Ser Phe Leu Ala Asn Val Leu Ala Gln Ala Ile Ser Thr His Phe
1025                               1030                               1035

Thr Gly Arg Thr Asp Ser Val Trp Tyr Cys Pro Pro Asp Pro Asp
1040                               1045                               1050

His Phe Asp Gly Tyr Asn Gln Gln Thr Val Val Val Met Asp Asp
1055                               1060                               1065

Leu Gly Gln Asn Pro Asp Gly Lys Asp Phe Lys Tyr Phe Ala Gln
1070                               1075                               1080

Met Val Ser Thr Thr Gly Phe Ile Pro Pro Met Ala Ser Leu Glu
1085                               1090                               1095

Asp Lys Gly Lys Pro Phe Asn Ser Lys Val Ile Ile Ala Thr Thr
1100                               1105                               1110

```

Asn	Leu	Tyr	Ser	Gly	Phe	Thr	Pro	Arg	Thr	Met	Val	Cys	Pro	Asp
1115						1120					1125			
Ala	Leu	Asn	Arg	Arg	Phe	His	Phe	Asp	Ile	Asp	Val	Ser	Ala	Lys
1130						1135					1140			
Asp	Gly	Tyr	Lys	Ile	Asn	Asn	Lys	Leu	Asp	Ile	Ile	Lys	Ala	Leu
1145						1150					1155			
Glu	Asp	Thr	His	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Met	Phe	Gln	Tyr	Asp	Cys
1160						1165					1170			
Ala	Leu	Leu	Asn	Gly	Met	Ala	Val	Glu	Met	Lys	Arg	Met	Gln	Gln
1175						1180					1185			
Asp	Met	Phe	Lys	Pro	Gln	Pro	Pro	Leu	Gln	Asn	Val	Tyr	Gln	Leu
1190						1195					1200			
Val	Gln	Glu	Val	Ile	Glu	Arg	Val	Glu	Leu	His	Glu	Lys	Val	Ser
1205						1210					1215			
Ser	His	Pro	Ile	Phe	Lys	Gln	Ile	Ser	Ile	Pro	Ser	Gln	Lys	Ser
1220						1225					1230			
Val	Leu	Tyr	Phe	Leu	Ile	Glu	Lys	Gly	Gln	His	Glu	Ala	Ala	Ile
1235						1240					1245			
Glu	Phe	Phe	Glu	Gly	Met	Val	His	Asp	Ser	Ile	Lys	Glu	Glu	Leu
1250						1255					1260			
Arg	Pro	Leu	Ile	Gln	Gln	Thr	Ser	Phe	Val	Lys	Arg	Ala	Phe	Lys
1265						1270					1275			
Arg	Leu	Lys	Glu	Asn	Phe	Glu	Ile	Val	Ala	Leu	Cys	Leu	Thr	Leu
1280						1285					1290			
Leu	Ala	Asn	Ile	Val	Ile	Met	Ile	Arg	Glu	Thr	Arg	Lys	Arg	Gln
1295						1300					1305			
Lys	Met	Val	Asp	Asp	Ala	Val	Ser	Glu	Tyr	Ile	Glu	Arg	Ala	Asn
1310						1315					1320			
Ile	Thr	Thr	Asp	Asp	Lys	Thr	Leu	Asp	Glu	Ala	Glu	Lys	Asn	Pro
1325						1330					1335			
Leu	Glu	Thr	Ser	Gly	Ala	Ser	Thr	Val	Gly	Phe	Arg	Glu	Arg	Pro
1340						1345					1350			
Leu	Pro	Gly	Gln	Lys	Ala	Arg	Asn	Asp	Glu	Asn	Ser	Glu	Pro	Ala
1355						1360					1365			
Gln	Pro	Ala	Glu	Glu	Gln	Pro	Gln	Ala	Glu	Gly	Pro	Tyr	Ala	Gly
1370						1375					1380			
Pro	Met	Glu	Arg	Gln	Lys	Pro	Leu	Lys	Val	Lys	Ala	Lys	Ala	Pro
1385						1390					1395			
Val	Val	Lys	Glu	Gly	Pro	Tyr	Glu	Gly	Pro	Val	Lys	Lys	Pro	Val
1400						1405					1410			

Ala	Leu	Lys	Val	Lys	Ala	Lys	Asn	Leu	Ile	Val	Thr	Glu	Ser	Gly
1415						1420					1425			
Ala	Pro	Pro	Thr	Asp	Leu	Gln	Lys	Leu	Val	Met	Gly	Asn	Thr	Lys
1430						1435					1440			
Pro	Val	Glu	Leu	Ile	Leu	Asp	Gly	Lys	Thr	Val	Ala	Ile	Cys	Cys
1445						1450					1455			
Ala	Thr	Gly	Val	Phe	Gly	Thr	Ala	Tyr	Leu	Val	Pro	Arg	His	Leu
1460						1465					1470			
Phe	Ala	Glu	Lys	Tyr	Asp	Lys	Ile	Met	Leu	Asp	Gly	Arg	Ala	Met
1475						1480					1485			
Thr	Asp	Ser	Asp	Tyr	Arg	Val	Phe	Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Val	Lys
1490						1495					1500			
Gly	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Asp	Ala	Ala	Leu	Met	Val	Leu	His	Arg
1505						1510					1515			
Gly	Asn	Arg	Val	Arg	Asp	Ile	Thr	Lys	His	Phe	Arg	Asp	Thr	Ala
1520						1525					1530			
Arg	Met	Lys	Lys	Gly	Thr	Pro	Val	Val	Gly	Val	Ile	Asn	Asn	Ala
1535						1540					1545			
Asp	Val	Gly	Arg	Leu	Ile	Phe	Ser	Gly	Glu	Ala	Leu	Thr	Tyr	Lys
1550						1555					1560			
Asp	Ile	Val	Val	Cys	Met	Asp	Gly	Asp	Thr	Met	Pro	Gly	Leu	Phe
1565						1570					1575			
Ala	Tyr	Lys	Ala	Ala	Thr	Lys	Ala	Gly	Tyr	Cys	Gly	Gly	Ala	Val
1580						1585					1590			
Leu	Ala	Lys	Asp	Gly	Ala	Asp	Thr	Phe	Ile	Val	Gly	Thr	His	Ser
1595						1600					1605			
Ala	Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Gly	Tyr	Cys	Ser	Cys	Val	Ser	Arg	Ser
1610						1615					1620			
Met	Leu	Leu	Lys	Met	Lys	Ala	His	Val	Asp	Pro	Glu	Pro	His	His
1625						1630					1635			
Glu	Gly	Leu	Ile	Val	Asp	Thr	Arg	Asp	Val	Glu	Glu	Arg	Val	His
1640						1645					1650			
Val	Met	Arg	Lys	Thr	Lys	Leu	Ala	Pro	Thr	Val	Ala	Tyr	Gly	Val
1655						1660					1665			
Phe	Arg	Pro	Glu	Phe	Gly	Pro	Ala	Ala	Leu	Ser	Asn	Lys	Asp	Pro
1670						1675					1680			
Arg	Leu	Asn	Asp	Gly	Val	Val	Leu	Asp	Glu	Val	Ile	Phe	Ser	Lys
1685						1690					1695			
His	Lys	Gly	Asp	Thr	Lys	Met	Ser	Glu	Glu	Asp	Lys	Ala	Leu	Phe
1700						1705					1710			
Arg	Arg	Cys	Ala	Ala	Asp	Tyr	Ala	Ser	Arg	Leu	His	Ser	Val	Leu
1715						1720					1725			

Gly	Thr	Ala	Asn	Ala	Pro	Leu	Ser	Ile	Tyr	Glu	Ala	Ile	Lys	Gly
1730						1735					1740			
Val	Asp	Gly	Leu	Asp	Ala	Met	Glu	Pro	Asp	Thr	Ala	Pro	Gly	Leu
1745						1750					1755			
Pro	Trp	Ala	Leu	Gln	Gly	Lys	Arg	Arg	Gly	Ala	Leu	Ile	Asp	Phe
1760						1765					1770			
Glu	Asn	Gly	Thr	Val	Gly	Pro	Glu	Val	Glu	Ala	Ala	Leu	Lys	Leu
1775						1780					1785			
Met	Glu	Lys	Arg	Glu	Tyr	Lys	Phe	Ala	Cys	Gln	Thr	Phe	Leu	Lys
1790						1795					1800			
Asp	Glu	Ile	Arg	Pro	Met	Glu	Lys	Val	Arg	Ala	Gly	Lys	Thr	Arg
1805						1810					1815			
Ile	Val	Asp	Val	Leu	Pro	Val	Glu	His	Ile	Leu	Tyr	Thr	Arg	Met
1820						1825					1830			
Met	Ile	Gly	Arg	Phe	Cys	Ala	Gln	Met	His	Ser	Asn	Asn	Gly	Pro
1835						1840					1845			
Gln	Ile	Gly	Ser	Ala	Val	Gly	Cys	Asn	Pro	Asp	Val	Asp	Trp	Gln
1850						1855					1860			
Arg	Phe	Gly	Thr	His	Phe	Ala	Gln	Tyr	Arg	Asn	Val	Trp	Asp	Val
1865						1870					1875			
Asp	Tyr	Ser	Ala	Phe	Asp	Ala	Asn	His	Cys	Ser	Asp	Ala	Met	Asn
1880						1885					1890			
Ile	Met	Phe	Glu	Glu	Val	Phe	Arg	Thr	Glu	Phe	Gly	Phe	His	Pro
1895						1900					1905			
Asn	Ala	Glu	Trp	Ile	Leu	Lys	Thr	Leu	Val	Asn	Thr	Glu	His	Ala
1910						1915					1920			
Tyr	Glu	Asn	Lys	Arg	Ile	Thr	Val	Glu	Gly	Gly	Met	Pro	Ser	Gly
1925						1930					1935			
Cys	Ser	Ala	Thr	Ser	Ile	Ile	Asn	Thr	Ile	Leu	Asn	Asn	Ile	Tyr
1940						1945					1950			
Val	Leu	Tyr	Ala	Leu	Arg	Arg	His	Tyr	Glu	Gly	Val	Glu	Leu	Asp
1955						1960					1965			
Thr	Tyr	Thr	Met	Ile	Ser	Tyr	Gly	Asp	Asp	Ile	Val	Val	Ala	Ser
1970						1975					1980			
Asp	Tyr	Asp	Leu	Asp	Phe	Glu	Ala	Leu	Lys	Pro	His	Phe	Lys	Ser
1985						1990					1995			
Leu	Gly	Gln	Thr	Ile	Thr	Pro	Ala	Asp	Lys	Ser	Asp	Lys	Gly	Phe
2000						2005					2010			
Val	Leu	Gly	His	Ser	Ile	Thr	Asp	Val	Thr	Phe	Leu	Lys	Arg	His
2015						2020					2025			

Phe His Met Asp Tyr Gly Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Val Met Ala
2030 2035 2040

Ser Lys Thr Leu Glu Ala Ile Leu Ser Phe Ala Arg Arg Gly Thr
2045 2050 2055

Ile Gln Glu Lys Leu Ile Ser Val Ala Gly Leu Ala Val His Ser
2060 2065 2070

Gly Pro Asp Glu Tyr Arg Arg Leu Phe Glu Pro Phe Gln Gly Leu
2075 2080 2085

Phe Glu Ile Pro Ser Tyr Arg Ser Leu Tyr Leu Arg Trp Val Asn
2090 2095 2100

Ala Val Cys Gly Asp Ala
2105

<210> 19

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Virut gây bệnh tay chân miệng

<400> 19

Gly Leu Ile Val Asp Thr Arg Asp Val Glu Glu Arg Val His Val Met
1 5 10 15

Arg Lys Thr Lys Leu Ala Pro Thr Val Ala His Gly Val Phe Asn Pro
20 25 30

Glu Phe Gly Pro Ala Ala Leu Ser
35 40

<210> 20

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Virut gây bệnh tay chân miệng

<400> 20

Gly Leu Ile Val Asp Thr Arg Asp Val Glu Glu Arg Val His Val Met
1 5 10 15

Arg Lys Thr Lys Leu Ala Pro Thr Val Ala Tyr Gly Val Phe Arg Pro
20 25 30

Glu Phe Gly Pro Ala Ala Leu Ser
35 40

<210> 21

<211> 24

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Virut gây bệnh tay chân miệng

<400> 21

Gly	Pro	Tyr	Ala	Gly	Pro	Met	Glu	Arg	Gln	Lys	Pro	Leu	Lys	Val	Arg
1				5					10					15	

Ala	Lys	Ala	Pro	Val	Val	Lys	Glu
				20			

<210> 22

<211> 24

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Virut gây bệnh tay chân miệng

<400> 22

Gly	Pro	Tyr	Ala	Gly	Pro	Met	Glu	Pro	Val	Lys	Val	Leu	Lys	Val	Arg
1				5					10					15	

Ala	Lys	Ala	Pro	Val	Val	Lys	Glu
				20			

<210> 23

<211> 7589

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Nucleotit dung hợp: Virut gây bệnh tay chân miệng (FMDV) và Rhinovirut Typ 2 của bò (BRV2)

<400> 23

ttgaaagggg gcgctagggt ctcacccta gcatgccaac gacagtcccc gcgttgcaact	60
ccacactcac gttgtgcgtg cgcgagctc gatggactat cgttcaccca cctacagctg	120
gactcacggc accgtgtggc cacttggtg gattgtgcgg acgaacaccg cttgcgcttc	180
tcgcgtgacc ggtagtact ctcaccacct tccgcccact tggttgtag cgctgtcttg	240
ggcactcctg ttgggggccg ttcgacgctc cgcgagtttc cccgcacggc aactacggtg	300
atggggccgt accgcgcggg ctgatcgctt ggtgtgcttc ggctgtcacc cgaagcctac	360
ctttcacccc ccccccccc ccccccccc ccccccccc cccccctaa gttctaccgt	420
cgttcccgc gtaaaggat gtaaccacaa gcttactacc gcctttcccg gcgttaaagg	480
gatgtaacca caagacttac cttcacccgg aagtaaaacg gcaacttcac acagttttgc	540
ccgttttcat gagaaatggg acgtctgcgc acgaaacgcg ccgtcgcttg aggaggactt	600
gtacaaacac gatctaagca ggtttcccca actgacacaa accgtgcaat ttgaaactcc	660
gcctgggctt tccaggctta gaggggtgac gctttgtact gtgtttgact ccacgttcga	720

tccactggcg agtgtagta acaacactgc tgcttcgtag cggagcatga cggcgtggg	780
aaaaaaaa ttggtataaa ggaccacgg ggccaaaagc cacgtccgaa tggaccgctc	840
atgtgtgcaa acccagcaca gtagctttgt tgtgaaactc actttaaagt gacattgata	900
ctggtactca agcactggtg acaggctaag gatgcccttc aggtaccccg aggtaacacg	960
tgacactcgg gatctgagaa ggggaccggg gcttctataa aagcgcccgg tttaaaaagc	1020
ttctatgtct gaataggtga ccggaggccg gcacctttct ttttaattaca ctggacttat	1080
gaacacaact gattgtttta tcgctttggt acacgctatc agagagatca gagcattttt	1140
cctaccacga gccacaggaa tgggggcccg ccaatccagt ccggcaaccg ggtcacagaa	1200
ccaatctggc aacactggaa gcatcattaa caactactac atgcaacagt accagaattc	1260
catggacaca cagcttggtg acaacgctat tagcggagggt tccaacgaag gttccacgga	1320
taccacttcc acacacacaa acaacaccca aaacaacgac tggttctcgc gcctggcaag	1380
ttctgcattc agtgggtctct ttgggtgact tttggctgac aagaagacag aagagacaac	1440
tctgcttgaa gaccgcattc tcaccaccag gaacggccac acaacatcga cgacacagtc	1500
gagcgttggc gtaacatacg gttacgctgt ggccgaggac gcggtgtctg gaccaatac	1560
ctcgggtcta gagactcgtg ttcaacaggc agaacggttt ttcaagaaac acctgtttga	1620
ctggacaccg aacttggcat ttggacactg ttactacctg gaacttccca ctgaacacaa	1680
aggcgtgtac ggcagtctca tgggctcgta cgcctacatg agaaatggat gggacataga	1740
ggtgactgct gttgaaacc aattcaacgg tggttgtctc cttgtcgcgc tcgtgccaga	1800
gctgaaggaa ctcgacacgc gacagaagta ccagctgacc ctctttcccc accagttcat	1860
caaccacgc accaacaatga cggcccat caacgtgccg tacgtgggta tcaacaggta	1920
cgaccagtac gccctccaca agccgtggac gcttgttgtg atggtggtag cccactcac	1980
cgtcaaaaact ggtggttctg aacagatcaa ggtttacatg aatgcagcgc caacctacgt	2040
gcatgtggcg ggagagctgc cctcgaaaga gggaatagtt cccgtcgcgt gtgcggacgg	2100
ttacggcaac atggtgacca cggaccgaa gacggccgat ccagtttacg ggaaagtgtt	2160
caaaaaaaaa aggacaaacc tccctgggcg cttcacgaac ttccttgatg ttgcggaggc	2220
atgtccaact ttcctccgct ttggagaagt accatttgtg aagacggtga actctggtga	2280
ccgcttgctg gccaaagtctg acgtgtccct cgctgcaggg cacatgtcca acacctactt	2340
ggctggcctg gcgcagtact acacacagta cagcggcacc atgaacgtcc acttcatgtt	2400
caccggggcc acggatgcta aagcccgata catggtggct tatgtcccc ctggcatgac	2460
accgcccacg gacctgagc acgccgcaca ctgcattcac tctgagtggg atactggtct	2520

taactctaag tttacctttt ccatacctta cctctctgct gctgactatg cctacactgc	2580
ttctgacgtg gcgagagacca cgagtgtgca gggatgggtg tgtatctatc agatcaccca	2640
cggcaaggct gagggagacg cactggctgt ttctgtcagc gccggcaaag actttgagtt	2700
tcgcttgctt gttgacgcac gccagcaaac caccaccact ggogaatcag cagatccagt	2760
cacaaccacg gttgagaact atggaggaga gactcagaca gccagacggc ttcacactga	2820
cgtcgccttc attcttgaca ggtttgtgaa actcactgct cccaagaaca tccaaccct	2880
cgatctcatg cagatcccct cacacacgct ggttgagaca ctacttcgtt ctgcgacgta	2940
ctactttctca gacctggagg tcgcgcttgt ccacacaggc ccggtcacct gggtgcccaa	3000
cggcgcgccc aaggatgctc taaacaacca gaccaacca actgcctatc agaagcaacc	3060
catcacccgc ctggcactcc cctacaccgc ccccatcgt gtgctggcaa cagtgtacaa	3120
cgggaagacg gcgtacggg aaacgacctc aaggcgcggc gacatggcgg ccctgcaca	3180
aaggttgagc gctcggctgc ccacctcct caactacggc gccgtgaagg ccgacaccat	3240
cactgagctt ttgatccgca tgaagcgcg gcgagacatat tgccctaggc ctttactagc	3300
ccttgacacc actcaggacc gccgcaaaca ggagatcatt gcacctgaga agcagcttct	3360
gaattttgac ctgcttaagc tagccggaga cgttgagtcc aaccctgggc cttctctctt	3420
ctccgacgtt aggtcaaact tttccaagct ggtagacaca atcaaccaga tgcaggaaga	3480
catgtccaca aagcacggac ctgactttaa ccggttggtg tccgcttttg aggagttggc	3540
cactggagtg aaagccatca ggaccggtct tgacgaggcc aagccctggc acaagcttat	3600
caagctcctg agccgcctgt cgtgcatggc cgctgtggca gcacgggtcaa aggaccagc	3660
ccttgaggcc atcatgctgg ctgacaccgg tctcgagatt ctggacagca ccttcgtcgt	3720
gaagaagatc tccgactcgc tctccagtct cttccacgtg ccggcccccg tottcagttt	3780
cggagccccg attctgttag ccgggttggt caaggtcgcc tcgagtttct tccggtccac	3840
gccgaagac cttgagagag cagagaaaca gctcaaagca cgtgacatca acgacatttt	3900
cgccattctc aagaacggcg agtggctggt caaattgatc cttgccatcc gcgactggat	3960
caaggcatgg atagcctcag aagaaaagtt tgtcaccacg acagacttgg tacctagcat	4020
ccttgaaaaa cagcaggacc tcaacgacct aagcaagtac aaggaagcca aggagtggct	4080
cgacaacgcg cgccaagcgt gtttgaagag cgggaacgtc cacattgcca acctgtgcaa	4140
agtggtcgcc ccggcaccca gcaggtcgag acccgagccc gtggctcgttt gcctccgtgg	4200
caagtccggt cagggcaaga gtttccttgc aaacgtgctc gcacaagcaa tctctacca	4260
tttactggc aggaccgatt cagtttggtg ctgccgcct gaccctgacc acttcgacgg	4320
ttacaaccaa cagactgtcg ttgtgatgga cgatttgggc cagaaccccc acggcaaaga	4380

cttcaagtac ttcgccccaa tggtttcaac aacgggggttc atcccgccca tggcatcgct	4440
tgaggataaa ggcaaaccct tcaacagtaa ggtcatcata gcaaccacca acctgtactc	4500
gggcttcacc ccgaggacta tgggtgtgcc tgatgccctg aacgggaggt ttcactttga	4560
catcgacgtg agcgccaagg acgggtacaa aattaacaac aaattggaca tcatcaaagc	4620
acttgaagat actcacacca acccagtggc aatgtttcag tacgactgtg cccttctcaa	4680
cggcatggct gttgaaatga agagaatgca acaagatatg ttcaagcctc aaccaccctc	4740
tcagaacgtg taccaactgg ttcaagaggt gattgagcgg gtggagctcc acgagaaggt	4800
gtcgagccac ccgattttca aacagatctc aattccttcc caaaaatccg tgttgacttt	4860
cctcattgag aaaggacagc acgaggcagc aattgaattc tttgagggca tgggtgcacga	4920
ctccatcaag gaggagctcc ggccgctcat ccaacaaacc tcatttgtga aacgcgcttt	4980
taagcgctg aaggaaaact ttgagattgt tgccctatgt ctgaccctcc tggccaacat	5040
agtgatcatg atccgcgaaa ctcgcaagag acagaagatg gtggacgatg cagtgagtga	5100
gtacattgag agagcaaaca tcaccaccga cgacaagact cttgatgagg cggaaaagaa	5160
ccctctggaa accagcggtg ccagcacctg cggcttcaga gagagacctc tcccaggcca	5220
aaaggcgctg aatgacgaga actccgagcc cgcccagcct gctgaagagc aaccacaagc	5280
tgaaggaccc tacgctggcc cgatggagag accagttaaa gttaaagtga aagcaaaagc	5340
cccggtcgtt aaggaaggac cttacgaggg accggtgaag aagcctgttg ctttgaaagt	5400
gaaagctaag aacttgatcg tctactgagag tgggtgcccc cgcaccgact tgcaaaagtt	5460
ggtcatgggc aacaccaagc ccgttgagct catccttgac gggaagacgg tagccatttg	5520
ctgtgctact ggagttttcg gcactgctta cctcgtgcct cgtcatcttt tcgcagaaaa	5580
gtacgacaag atcatgttgg acggcagagc catgacagat agtgactaca gagtgtttga	5640
gtttgagatt aaagtaaaag gacaggacat gctctcagac gctgcgctca tgggtgctcca	5700
ccgtgggaat cgcgtgagag acatcacgaa acactttcgt gacacagcaa gaatgaagaa	5760
aggcaccccc gtcgttggtg tgatcaacaa cgccgatgtc gggagactga ttttctctgg	5820
tgaagccctt acctacaagg acattgtagt gtgcatggat ggagacacca tgccctgggct	5880
ctttgcctac aaagccgcaa ccaaggctgg ttattgcgga ggagccgtcc tcgctaagga	5940
cggggtgac acgttcatcg ttggcaccca ctccgctgga ggcaatggcg ttggatactg	6000
ctcttgcggt tccaggtcca tgcttctcaa gatgaaggca cacgttgacc ccgaaccaca	6060
ccacgagggg ttgattgttg acaccagaga tgtggaagag cgcgttcacg tgatgcgcaa	6120
aaccaagctt gcaccaccg ttgcgtacgg tgtgttccgt cctgagttcg ggctgcccgc	6180

```

cttgtccaac aaggacccgc gcctgaacga cgggtgtgtc ctcgacgaag tcattcttctc 6240
caaacacaag ggagacacaa agatgtctga ggaagacaaa gcgctgttcc gccgctgtgc 6300
tgctgactac gcgtcacgcc tgcacagcgt gttgggtacg gcaaatgccc cactgagcat 6360
ctacgaggca attaaaggcg ttgatggact cgacgcaatg gaaccagaca ccgcacccgg 6420
cctcccctgg gcaactccagg ggaagcgccg tggcgcgctc atcgacttcg agaacggcac 6480
tgtttggaccc gaagttgagg ctgccttgaa gctcatggag aaaagagaat acaagtttgc 6540
ttgccaaacc ttcctgaagg acgagattcg cccgatggag aaagtacgtg ccggttaagac 6600
tcgcattgtc gacgtcctac ctggtgaaca catcctctac accaggatga tgattggcag 6660
atthttgtgca caaatgcact caaacaacgg accccaaatt ggctcggcgg tcggttgtaa 6720
ccctgatgtt gattggcaaa gatttggcac acacttcgcc caatacagaa acgtgtggga 6780
tgtggactat tcggccttcg atgctaacca ctgcagtac gccatgaaca tcattgttga 6840
ggaagtgttt cgcacagaat tcgggttcca ccaaacgct gagtggatcc tgaagactct 6900
cgtgaacacg gaacacgcct atgagaacaa acgcatcact gttgaaggcg ggatgccatc 6960
tggttggttc gcaacaagca tcatcaacac aatthttgaac aacatctacg tgctctacgc 7020
tttgcgtaga cactatgagg gagttgagct ggacacttac accatgatct cttacggaga 7080
cgatatcgtg gtggcaagtg attacgattt ggactttgag gctctcaagc cccacttcaa 7140
atcccttggc caaacatca ctccagctga caaaagcgac aaaggthttg ttcttgggtca 7200
ctccattact gatgtcactt tcctcaaaag acacttcac atggattatg gaactgggtt 7260
ttacaaacct gtgatggcct caaagaccct tgaggctatc ctctcctttg cacgccgtgg 7320
gaccatacag gagaagttga tctccgtggc aggactcgct gttcactctg gaccagacga 7380
gtaccggcgt ctcttcgagc cthttcaagg cctcttcgag attccaagct acagatcact 7440
ttacctgcgt tgggtgaacg ccgtgtgcgg cgacgcataa tccctcagag actacattgg 7500
catactgttt ctgaggcgcg cgacgccgta ggagtgaaaa gcctgaaagg gctthttccc 7560
cttcctattc caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 7589

```

<210> 24

<211> 7600

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Nucleotit dung hợp: Virut gây bệnh tay chân miệng (FMDV) và Rhinovirut Typ 2 của bò (BRV2)

<400> 24

```

ttgaaagggg gcgctagggc ctcaccccta gcatgccaac gacagtcccc gcgttgact 60

```

```

ccacactcac gttgtgcgtg cgcggagctc gatggactat cgttcaccca cctacagctg 120

```

gactcacggc accgtgtggc cacttggtg gattgtgctg acgaacaccg cttgcgcttc	180
tcgcgtgacc ggtagtagt ctcaccacct tccgccact tggtagtag cgctgtcttg	240
ggcactcctg ttgggggccc ttgcagctc cgcgagtttc cccgcacggc aactacggtg	300
atggggccgt accgcgcggg ctgatcgctt ggtgtgcttc ggctgtcacc cgaagcctac	360
ctttaccccc ccccccccc ccccccccc ccccccccc cccccctaa gttctaccgt	420
cggtcccgac gtaaaggat gtaaccacaa gcttactacc gcctttcccg gcgtaaagg	480
gatgtaacca caagacttac cttcaccggg aagtaaacg gcaacttcac acagttttgc	540
ccgttttcat gagaaatggg acgtctgctc acgaaacggc ccgtcgcttg aggaggactt	600
gtacaaacac gatctaagca ggtttcccca actgacacaa accgtgcaat ttgaaactcc	660
gcctgggctt tccaggtcta gaggggtgac gctttgtact gtgtttgact ccacgttoga	720
tccactggcg agtgtagta acaacactgc tgcttcgtag cggagcatga cggccgtggg	780
acccccccc ttggtacaa ggaccacgg ggccaaaagc cagtcgcaa tggaccgctc	840
atgtgtgcaa acccagcaca gtagctttgt tgtgaaactc actttaagat gacattgata	900
ctggtagtca agcactggtg acaggctaag gatgcccttc aggtaccccg aggtaacacg	960
tgacactcgg gatctgagaa ggggaccggg gcttctataa aagcgcccg tttaaaagc	1020
ttctatgtct gaataggtga ccggaggccg gcacctttct ttttaattaca ctggacttat	1080
gaacacaact gattgtttta tcgctttggt acacgctatc agagagatca gagcattttt	1140
cctaccacga gccacaggaa tgggggccc ccaatccagt ccggcaaccg ggtcacaaaa	1200
ccaatcaggc aacactggta gtatcatcaa caactactac atgcagcagt accagaactc	1260
catggataca caacttggcg acaacgccat tagcgggtgt tccaacgagg gctccactga	1320
cactacctcc acacacacaa ccaacacaca gaacaatgac tggttttcaa agctggccag	1380
ttctgccttc agcgggtctt tcggcgctct tctcgctgac aaaaagacag aggagactac	1440
cctcctggag gaccgcatcc ttaccacccg caacggacac accacctga caaccagtc	1500
gagtgtgggt gtcacctacg ggtactccac tggtagaac cagctctctg gacctaacac	1560
atctggcctg gagacgcgag tggtagaggc agagagattc ttcaagaaac acttggttga	1620
ttggacaact gataaagctt ttggacacct ggaaaaactg gaactcccca ccgaacacaa	1680
gggtgtctac gggcacttgg tggactcttt cgcatacatg agaaatggct gggacgtgga	1740
ggtgaccgcc gttggcaacc agttcaacgg tgggtgtctc ctgggtggca tggtagctga	1800
gtggaaagag tttacccttc gtgagaaata ccagctcacc ctgtttccac accaatttat	1860
caaccccaga accaacatga cagcccacat cacgggtccc taccttggtg tcaataggta	1920

tgaccagtac	aaacagcaca	aaccctggac	actggtcgtg	atggtgggtt	cgccactgac	1980
caccagcagc	attggggcct	cacagattaa	ggtctacgcc	aacattgccc	caaccttcgt	2040
tcacgtggcc	ggcgagctcc	catcgaaaga	agggatcgtg	ccggttgctt	gtacagacgg	2100
gtacggtggc	ctggtgacaa	cagacccgaa	aacagctgac	cctgtttatg	gtatggtgta	2160
caacccgccc	agaaccaact	accctgggcg	ctttacaaac	ttgttgagcg	tggccgaggc	2220
ttgcccgaac	ttcctctgtt	ttgacgacgg	gaaaccgtac	gttgtgacaa	ggacggacga	2280
ccaacgcctc	ctggccaagt	ttgacgtttc	ccttgctgca	aagcacatgt	caaacaccta	2340
cctctcaggg	atagcacagt	actacacgca	gtactctggc	actatcaatc	tgcatttcat	2400
gttcaactggc	tctactgaat	caaaggcccg	gtacatggtg	gcgtacattc	cacctggcat	2460
ggacaacca	ccggacacac	ctgagaaggc	tgcacattgc	atccacgccg	agtgggacac	2520
cgggctgaac	tccaaattta	ctttttctat	cccgtacgtg	tctgctgcag	actacgcata	2580
cactgcgtct	gacgtggcag	aaacaacaaa	cgtacagggg	tgggtctgca	tataccaaat	2640
cactcacggg	aaggctgaac	aggacactct	ggtcgtgtcg	gtcagcgccg	gcaaggactt	2700
tgaactgcgc	ctcccaattg	acccccgcac	gcaaaccacc	actgccgggg	agtcagcaga	2760
ccctgtcacc	accaccgttg	agaactacgg	tggtgagaca	caggctcagc	gacgtcagca	2820
cactgacgtc	ggcttcatca	tggacaggtt	tgcgaaaatc	agccccgtga	gccccacgca	2880
cgtcattgac	ctcatgcaaa	cacaccaaca	cgcgttggtg	ggtgcccttt	tgcgtagcgc	2940
cacgtactac	ttctccgac	tggagattgt	ggtgcgtcat	gatggcaact	tgacgtgggt	3000
gccaatgga	gcacctgtag	aagccttggc	caacacaagc	aacccaccg	cctaccacaa	3060
gcagccattt	acgagacttg	cgctccctta	caccgcgccg	caccgagtgt	tggcaacagt	3120
gtataacgga	gtaagcaagt	actctacaac	tggtaatggc	agaaggggtg	acctggggcc	3180
tcttgcgggc	cgggtcgccg	cacagctccc	cagctctttc	aattttggtg	caattcgggc	3240
cacgaccgtc	cacgagcttc	tcgtgcgcat	gaaacgtgcc	gagctctact	gtcccaggcc	3300
tctgctggca	gtggaagtgt	tgctgcagga	cagacacaag	caaaagatca	ttgcacctgc	3360
aaagcaactt	ctgaattttg	acctgcttaa	gctagccgga	gacgttgagt	ccaaccctgg	3420
gcccttcttc	ttctccgacg	ttaggtcaaa	cttttccaag	ctggtagaca	caatcaacca	3480
gatgcaggaa	gacatgtcca	caaagcacgg	acctgacttt	aaccggttgg	tgtccgcttt	3540
tgaggagtgt	gccactggag	tgaagccat	caggaccggt	cttgacgagg	ccaagccctg	3600
gtacaagctt	atcaagctcc	tgagccgcct	gtcgtgcatg	gccgctgtgg	cagcacggtc	3660
aaaggaccca	gtccttggtg	ccatcatgct	ggctgacacc	ggtctcgaga	ttctggacag	3720
caccttcgtc	gtgaagaaga	tctccgactc	gctctccagt	ctcttcacg	tgccggcccc	3780

cgtcttcagt	ttcggagccc	cgattctgtt	agccggggtt	gtcaagggtc	cctcgagttt	3840
cttccggtcc	acgcccgaag	accttgagag	agcagagaaa	cagctcaaag	cacgtgacat	3900
caacgacatt	ttcgccattc	tcaagaacgg	cgagtggctg	gtcaaattga	tccttgccat	3960
ccgcgactgg	atcaaggcat	ggatagcctc	agaagaaaag	tttgtcacca	cgacagactt	4020
ggtacctagc	atccttgaaa	aacagcagga	cctcaacgac	ccaagcaagt	acaaggaagc	4080
caaggagtgg	ctcgacaacg	cgcgccaagc	gtgtttgaag	agcggaacg	tcacattg	4140
caacctgtgc	aaagtggctg	ccccggcacc	cagcaggtcg	agacccgagc	ccgtggctgt	4200
ttgcctccgt	ggcaagtccg	gtcagggcaa	gagtttcctt	gcaaactg	tcgcacaagc	4260
aatctctacc	catttcactg	gcaggaccga	ttcagtttgg	tactgcccgc	ctgacctga	4320
ccacttcgac	ggttacaacc	aacagactgt	cgttgtgatg	gacgatttgg	gccagaaccc	4380
cgacggcaaa	gacttcaagt	acttcgcccc	aatggtttca	acaacggggt	tcacccgcc	4440
catggcatcg	cttgaggata	aaggcaaacc	cttcaacagt	aaggatcat	tagcaaccac	4500
caacctgtac	tcgggcttca	ccccgaggac	tatgggtgtg	cctgatgccc	tgaaccggag	4560
gtttcacttt	gacatcgacg	tgagcgccaa	ggacgggtac	aaaattaaca	acaaattgga	4620
catcatcaaa	gcacttgaag	atactcacac	caaccagtg	gcaatgtttc	agtacgactg	4680
tgcccttctc	aacggcatgg	ctgttgaaat	gaagagaatg	caacaagata	tgttcaagcc	4740
tcaaccaccc	cttcagaacg	tgtaccaact	ggttcaagag	gtgattgagc	gggtggagct	4800
ccacgagaag	gtgtcgagcc	acccgatttt	caaacagatc	tcaattcctt	cccaaaaatc	4860
cgtgtgtgac	ttcctcattg	agaaaggaca	gcacgaggca	gcaattgaat	tctttgaggg	4920
catggtgcac	gactccatca	aggaggagct	ccggccgctc	atccaacaaa	cctcatttgt	4980
gaaacgcgct	tttaagcgcc	tgaaggaaaa	ctttgagatt	gttgccctat	gtctgaccct	5040
cctggccaac	atagtgatca	tgatccgca	aactcgcaag	agacagcaga	tggtggacga	5100
tgcagtgagt	gagtacattg	agagagcaaa	catcaccacc	gacgacaaga	ctcttgatga	5160
ggcgaaaaag	aaccctctgg	aaaccagcgg	tgccagcacc	gtcggcttca	gagagagacc	5220
tctcccaggc	caaaaggcgc	gtaatgacga	gaactccgag	cccgccagc	ctgctgaaga	5280
gcaaccacaa	gctgaaggac	cctacgtgg	cccgatggag	agaccagtta	aagttaaagt	5340
gaaagcaaaa	gccccggtcg	ttaaggaagg	accttacgag	ggaccggtga	agaagcctgt	5400
tgctttgaaa	gtgaaagcta	agaacttgat	cgtcactgag	agtggtgccc	caccgaccga	5460
cttgcaaaaag	ttgggtcatgg	gcaacaccaa	gcccgttgag	ctcatccttg	acgggaagac	5520
ggtagccatt	tgctgtgcta	ctggagtttt	cggcactgct	tacctcgtgc	ctcgtcatct	5580

tttcgcagaa aagtacgaca agatcatggt ggacggcaga gccatgacag atagtgacta	5640
cagagtgttt gagtttgaga ttaaagtaaa aggacaggac atgctctcag acgctgcgct	5700
catggtgctc caccgtggga atcgctgag agacatcacg aaacactttc gtgacacagc	5760
aagaatgaag aaaggcacc cgcgcgttg tgtgatcaac aacgccgatg tcgggagact	5820
gattttctct ggtgaagccc ttacctaaa ggacattgta gtgtgcatgg atggagacac	5880
catgcctggg ctctttgcct acaaagccgc aaccaaggct ggttattgcg gaggagccgt	5940
cctcgctaag gacggggctg acacgttcat cgttggcacc cactccgctg gaggcaatgg	6000
cgttggatac tgctcttgcg tttccaggtc catgcttctc aagatgaagg cacacgttga	6060
ccccgaacca caccacgagg ggttgattgt tgacaccaga gatgtggaag agcgcgttca	6120
cgtgatgcgc aaaaccaagc ttgcaccac cgttgcgtac ggtgtgttcc gtctgagtt	6180
cgggcctgcc gccttgtcca acaaggaccc gcgcctgaac gacggtgttg tcctcgacga	6240
agtcactttc tccaaacaca agggagacac aaagatgtct gaggaagaca aagcgtgtt	6300
ccgccgtgt gctgctgact acgcgtcacg cctgcacagc gtgttgggta cggcaaagtc	6360
cccactgagc atctacgagg caattaaagg cgttgatgga ctgcacgcaa tggaaccaga	6420
caccgcaccc ggccctcccct gggcactcca ggggaagcgc cgtggcgcg ctcactgactt	6480
cgagaacggc actgttgga cccaagtga ggctgccttg aagctcatgg agaaaagaga	6540
atacaagttt gcttgccaaa ccttcctgaa ggacgagatt cggccgatgg agaaagtacg	6600
tgccggtaa actcgcattg tcgacgtcct acctgttgaa cacatcctct acaccaggat	6660
gatgattggc agattttgtg cacaaatgca ctcaaacaac ggaccccaaa ttggctcggc	6720
ggtcggttgt aaccctgatg ttgattggca aagatttggc acacacttcg cccaatacag	6780
aaacgtgtgg gatgtggact attcggcctt cgatgctaac cactgcagtg acgccatgaa	6840
catcatgttt gaggaagtgt ttgcacaga attcgggttc cacccaaagc ctgagtggat	6900
cctgaagact ctctgtaaca cggaacacgc ctatgagaac aaacgcata cactgtgaagg	6960
cgggatgcca tctggttgtt ccgcaacaag catcatcaac acaattttga acaacatcta	7020
cgtgctctac gctttgcgta gacactatga gggagttgag ctggacactt acaccatgat	7080
ctcttacgga gacgatatcg tgggtggcaag tgattacgat ttggactttg aggctctcaa	7140
gccccacttc aaatcccttg gtcaaaccat cactccagct gacaaaagcg acaaaggttt	7200
tgttcttggc cactccatta ctgatgtcac tttcctcaaa agacacttcc acatggatta	7260
tggaactggg ttttacaac ctgtgatggc ctcaaagacc cttgaggcta tcctctcctt	7320
tgacgcccgt gggaccatac aggagaagtt gatctccgtg gcaggactcg ctgttcactc	7380
tggaccagac gagtaccggc gtctcttcga gccctttcaa ggccctcttcg agattccaag	7440

```

ctacagatca ctttacctgc gttgggtgaa cgccgtgtgc ggcgacgcat aatccctcag      7500
agactacatt ggcatactgt ttctgaggcg cgcgacgccg taggagtgaa aagcctgaaa      7560
gggcttttcc cgcttcctat tccaaaaaaaa aaaaaaaaaa      7600

<210> 25
<211> 7597
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit dung hợp chứa O1 chủng Campos của FMD
      (bộ gen đầy đủ)

<400> 25
ttgaaagggg ggcctagggg ctcacccta gcatgccaac gacagtcccc gogttgcaact      60
ccacactcac gttgtgcgtg cgcggagctc gatggactat cgttcaccca cctacagctg      120
gactcacggc accgtgtggc cacttggtg gattgtgcgg acgaacaccg cttgcgcttc      180
tcgcgtgacc ggtagtact ctcaccacct tccgccact tggttgtag cgetgtcttg      240
ggcactcctg ttggggggccg ttgcagctc cgcgagtttc cccgcacggc aactacggtg      300
atggggccgt accgcgcggg ctgatcgctt ggtgtgcttc ggctgtcacc cgaagcctac      360
ctttcacccc cccccccccc cccccccccc cccccccccc cccccctaa gttctaccgt      420
cgttcccgac gtaaagggat gtaaccacaa gcttactacc gcctttcccg gcgtaaagg      480
gatgtaacca caagacttac cttcacccgg aagtaaaacg gcaacttcac acagttttgc      540
ccgttttcat gagaaatggg acgtctgcgc acgaaacgcg ccgtcgcttg aggaggactt      600
gtacaaacac gatctaagca ggtttcccca actgacacaa accgtgcaat ttgaaactcc      660
gcctgggctt tccaggtcta gaggggtgac actttgtact gtgtttgact ccacgttcga      720
tccactggcg agtgtagta acaacactgc tgcttcgtag cggagcatga cggccgtggg      780
acccccccc ttggtaacaa ggaccacgg ggccaaaagc cacgtccgaa tggaccgcgc      840
atgtgtgcaa acccagcaca gtagctttgt tgtgaaactc actttaaaagt gacattgata      900
ctgggtactca agcactggtg acaggctaag gatgcccttc aggtaccccg aggtaacacg      960
tgacactcgg gatctgagaa ggggaccggg gcttctataa aagcgcccg tttaaaaagc      1020
ttctatgtct gaataggtga ccggaggccg gcacctttct tttaattaca ctggacttat      1080
gaacacaact gattgtttta tcgctttggt acacgctatc agagagatca gagcattttt      1140
cctaccacga gccacaggaa tggggggccg ccaatccagt ccggcgaccg gctcgcagaa      1200
ccaatctggc aacactggca gcataattaa caactactac atgcagcaat accagaactc      1260
catggacaca cagcttggtg acaacgcaat cagtggaggc tctaacgagg gctccaccga      1320

```

cacaacctcc	acccacacaa	ccaacaccca	gaacaatgac	tggtttctcca	aacttgcaag	1380
ctctgctttc	agcgggtcttt	tcggcgctct	tctcgccgac	aagaagacag	aggagaccac	1440
tctcctcgaa	gaccgcatcc	tcaccacccg	taacggccac	accacgtcga	caaccagtc	1500
aagcgttgga	gtcacatacg	ggtacgcaac	agctgaggat	tttgtgagcg	gaccgaacac	1560
ttccgggtctc	gagaccagag	ttgtgcaggc	agaacggttt	ttcaaaaccc	acctcttcga	1620
ctgggtcacc	agtgactcat	tcggacgttg	ccacctcctg	gaactcccga	ccgaccacaa	1680
aggtgtctac	ggcagcctga	ccgactcgta	tgcataatatg	agaaacgggt	gggatgtcga	1740
ggtcaccgcg	gttggcaacc	agttcaacgg	aggggtgcctg	ctggtcgcaa	tggtaccaga	1800
gcttcgtttc	atccaaaaga	gggaactgta	ccagctcaca	cttttccctc	accagttcat	1860
caaccacgc	acgaacatga	ctgcgcacat	cacagtgcct	tttgttggcg	tcaaccgcta	1920
cgaccagtac	aagggttcaca	agccttggac	ccttgtgggt	atgggtgtag	ccctctgac	1980
cgtcaacact	gaagggtgcc	ctcagatcaa	ggtgtatgcc	aacattgccc	caaccaacgt	2040
gcacgtcgcg	ggtgagtttc	cttccaagga	gggaatatct	cccggtggct	gtagcgacgg	2100
ctatggtggc	ctggtgacca	cggacccgaa	gacggctgac	cccgtttatg	ggaaagtgtt	2160
caaccccccc	cgcaaccagt	tgccggggcg	ttttaccaac	ctccttgatg	tggtgagggc	2220
atgcccgcgc	tttctgcact	tcgaggggtga	cgtaccgtac	gtgaccacga	aaacagactc	2280
ggacaggggtg	cttgctcagt	ttgatatgtc	tttggcagca	aaacacatgt	caaacacctt	2340
cctcgcaggt	cttgcgagct	actacacaca	gtacagtggc	accatcaacc	tgcacttcat	2400
gttcacagga	cccactgacg	cgaaggcgcg	ttacatgatt	gcctacgccc	caccaggcat	2460
ggagccgccc	aagacacctg	aggcggccgc	gcactgcatt	catgctgaat	gggacactgg	2520
gttgaactca	aagtttactt	tttccatccc	ctacctctcg	gccgccgatt	acgcgtacac	2580
cgcgtctgac	gtggccgaga	ccacaaatgt	gcagggatgg	gtctgcttgt	ttcaaattac	2640
acatggcaag	gccgacggcg	acgctctggt	cgtactggct	agtgtgtgta	aagactttga	2700
gctaaggctg	ccggtggacg	cccgtgcgga	aaccacttct	gcgggcgagt	cagcggatcc	2760
tgtcaccgcc	actgttgaag	actacggtgg	cgaacacacg	atccagaggc	gccaacacac	2820
ggacgtctcg	ttcatcatgg	acagatttgt	gaaagtgaca	ccgcaaaacc	aaattaacat	2880
tttggaacctc	atgcagattc	catcacacac	tttgggtggga	gcgctcctac	gcgcgtccac	2940
ttactacttc	tctgacttgg	agatagcagt	aaaacacgag	ggagacctca	cctgggttcc	3000
aatggagcg	cctgaaaagg	cgttggaaca	caccaccaac	ccaactgctt	accacaaggc	3060
accactcacc	cggcttgccc	tgccctacac	cgcgccccac	cgcgtgttgg	caacogtgta	3120
caacggtgag	tgcaggtaca	gcagaaatgc	tgtgcccaac	gtgagagggt	accttcaggt	3180

gttggtctcaa aaggtggcac ggacgctgcc tacctccttc aactacggtg ccatcaaagc	3240
gacccgggtc accgagttgc tttaccggat gaagagggcc gaaacatact gtccaaggcc	3300
cttgctggca atccacccaa ctgaagccag acacaaacag aaaattgtgg caccggtgaa	3360
acagttctga attttgacct tctcaagcta gccggagacg ttgagtccaa ccctggggcc	3420
ttcttcttct ccgacgttag gtcaaacttt tccaagctgg tagacacaat caaccagatg	3480
caggaagaca tgtccacaaa gcacggacct gactttaacc ggttgggtgc cgcttttgag	3540
gagttggcca ctggagtgaag agccatcagg accggtcttg acgaggccaa gccctggtac	3600
aagcttatca agctcctgag ccgcctgtcg tgcattggccg ctgtggcagc acggtcaaag	3660
gacccagtcc ttgtggccat catgctggct gacaccggtc tcgagattct ggacagcacc	3720
ttcgtcgtga agaagatctc cgactcgtc tccagtctct tccacgtgcc ggccccgctc	3780
ttcagtttcg gagccccgat tctgttagcc gggttgggtca aggtcgccctc gagtttcttc	3840
cgggtccacgc ccgaagacct tgagagagca gagaaacagc tcaaagcacg tgacatcaac	3900
gacattttcg ccattctcaa gaacggcgag tggctgggtca aattgatcct tgccatccgc	3960
gactggatca aggcattgat agcctcagaa gaaaagtttg tcaccacgac agacttggtg	4020
cctagcatcc ttgaaaaaca gcaggacctc aacgacccaa gcaagtacaa ggaagccaag	4080
gagtggtctg acaacgcgcg ccaagcgtgt ttgaagagcg ggaacgtcca cattgccaac	4140
ctgtgcaaag tggtcgcccc ggcaccacgc aggtcgagac ccgagcccgt ggtcgtttgc	4200
ctccgtggca agtccggtca gggcaagagt ttccttgcaa acgtgctcgc acaagcaatc	4260
tctacccatt tcaactggcag gaccgattca gtttgggtact gccgcctga ccctgaccac	4320
ttcgacgggtt acaaccaaca gactgtcggt gtgatggacg atttgggcca gaaccccgac	4380
ggcaaagact tcaagtactt cgcccaaagt gtttcaacaa cgggggttcat cccgcccattg	4440
gcatcgcttg aggataaagg caaaccttc aacagtaagg tcatcatagc aaccaccaac	4500
ctgtactcgg gcttcacccc gaggactatg gtgtgccctg atgccctgaa ccggagggtt	4560
cactttgaca tcgacgtgag cgccaaggac ggggtacaaaa ttaacaacaa attggacatc	4620
atcaaagcac ttgaagatac tcacaccaac ccagtggcaa tgtttcagta cgactgtgcc	4680
cttctcaacg gcatggctgt tgaaatgaag agaattgcaac aagatatgtt caagcctcaa	4740
ccacccttc agaacgtgta ccaactggtt caagaggtga ttgagcgggt ggagctccac	4800
gagaagggtg cgagccaccc gattttcaaa cagatctcaa ttccttccca aaaatccgtg	4860
ttgtacttcc tcattgagaa aggacagcac gaggcagcaa ttgaattctt tgagggcatg	4920
gtgcacgact ccatcaagga ggagctccgg ccgctcatcc aacaaacctc atttgtgaaa	4980

cgcgctttta	agcgcttgaa	ggaaaacttt	gagattgttg	ccctatgtct	gaccctcctg	5040
gccaacatag	tgatcatgat	ccgcgaaact	cgcaagagac	agaagatggg	ggacgatgca	5100
gtgagtgagt	acattgagag	agcaaacatc	accaccgacg	acaagactct	tgatgaggcg	5160
gaaaagaacc	ctctggaaac	cagcgggtgcc	agcaccgtcg	gcttcagaga	gagacctctc	5220
ccaggccaaa	aggcgcgtaa	tgacgagAAC	tccgagcccg	cccagcctgc	tgaagagcaa	5280
ccacaagctg	aaggacccta	cgctggcccc	atggagagac	cagttaaagt	taaagtgaAA	5340
gcaaaagccc	cggtcgttaa	ggaaggacct	tacgagggac	cgggtgaagaa	gcctgttgct	5400
ttgaaagtga	aagctaagaa	cttgatcgtc	actgagagtg	gtgccccacc	gaccgacttg	5460
caaaagttgg	tcatgggcaa	caccaagccc	gttgagctca	tccttgacgg	gaagacggta	5520
gccatttgct	gtgctactgg	agttttcggc	actgcttacc	tcgtgcctcg	tcatcttttc	5580
gcagaaaagt	acgacaagat	catgtttggac	ggcagagcca	tgacagatag	tgactacaga	5640
gtgtttgagt	ttgagattaa	agtaaaagga	caggacatgc	tctcagacgc	tgcgctcatg	5700
gtgctccacc	gtgggaatcg	cgtgagagac	atcacgaaac	actttcgtga	cacagcaaga	5760
atgaagaaag	gcacccccgt	cgttggtgtg	atcaacaacg	ccgatgtcgg	gagactgatt	5820
ttctctgggtg	aagcccttac	ctacaaggac	attgtagtgt	gcatggatgg	agacaccatg	5880
cctgggctct	ttgcctacaa	agccgcaacc	aaggctggtt	attgCGgagg	agccgtcctc	5940
gctaaggacg	gggctgacac	gttcatcgtt	ggcaccact	ccgctggagg	caatggcgtt	6000
ggatactgct	cttgcgtttc	caggtccatg	cttctcaaga	tgaaggcaca	cgttgacccc	6060
gaaccacacc	acgagggggt	gattgttgac	accagagatg	tggaagagcg	cgttcacgtg	6120
atgcgcaaaa	ccaagcttgc	accacccgtt	gcgtacgggtg	tgttccgtcc	tgagttcggg	6180
cctgccgcct	tgtccaacaa	ggacccgcgc	ctgaacgacg	gtgttgctct	cgacgaagtc	6240
atcttctcca	aacacaaggg	agacacaaag	atgtctgagg	aagacaaagc	gctgttccgc	6300
cgctgtgctg	ctgactacgc	gtcacgcctg	cacagcgtgt	tgggtacggc	aaatgccccA	6360
ctgagcatct	acgaggcaat	taaaggcggt	gatggactcg	acgcaatgga	accagacacc	6420
gcacccggcc	tcccctgggc	actccagggg	aagcgccgtg	gcgcgctcat	cgacttcgag	6480
aacggcactg	ttggacccga	agttgaggct	gccttgaagc	tcatggagaa	aagagaatac	6540
aagtttgctt	gcaaacctt	cctgaaggac	gagattcgcc	cgatggagaa	agtacgtgcc	6600
ggtaagactc	gcattgtcga	cgtcctacct	gttgaacaca	tcctctacac	caggatgatg	6660
attggcagat	tttgtgcaca	aatgcactca	aacaacggac	cccaaattgg	ctcggcggtc	6720
ggttgtaacc	ctgatgttga	ttggcaaaga	tttggcacac	acttcgcccc	atacagaaac	6780
gtgtgggatg	tggactattc	ggccttcgat	gctaaccact	gcagtgacgc	catgaacatc	6840

atgtttgagg aagtgtttcg cacagaattc gggttccacc caaacgctga gtggatcctg 6900
 aagactctcg tgaacacgga acacgcctat gagaacaaac gcatcactgt tgaaggcggg 6960
 atgccatctg gttgttccgc aacaagcatc atcaacacaa ttttgaacaa catctacgtg 7020
 ctctacgctt tgcgtagaca ctatgaggga gttgagctgg acacttacac catgatctct 7080
 tacggagacg atatcggtg ggcaagtgat tacgatttgg actttgaggc tctcaagccc 7140
 cacttcaaat cccttgggtca aaccatcact ccagctgaca aaagcgacaa aggttttggt 7200
 cttgggtcact ccattactga tgtcactttc ctcaaaagac acttcacat ggattatgga 7260
 actgggtttt acaaacctgt gatggcctca aagacccttg aggctatcct ctcctttgca 7320
 cgccgtggga ccatacagga gaagttgatc tccgtggcag gactcgctgt tcaactctgga 7380
 ccagacgagt accggcgtct cttcgagccc tttcaaggcc tcttcgagat tccaagctac 7440
 agatcacttt acctgcgttg ggtgaacgcc gtgtgcggcg acgcataatc cctcagagac 7500
 tacattggca tactgtttct gaggcgcgcg acgccgtagg agtgaaaagc ctgaaagggc 7560
 ttttcccgtc tcctattcca aaaaaaaaaa aaaaaaa 7597

<210> 26

<211> 7586

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit dung hợp chứa chủng C3 Indaial của FMD
(bộ gen đầy đủ)

<400> 26

ttgaaagggg gcgctagggg ctcaccccta gcatgccaac gacagtcccc gcgttgcaact 60
 ccacactcac gttgtgcgtg cgcggagctc gatggactat cgttcaccca cctacagctg 120
 gactcacggc accgtgtggc cacttggctg gattgtgcgg acgaacaccg cttgcgcttc 180
 tcgctgacc ggtagtact ctcaccacct tccgccact tggttgtag cgctgtcttg 240
 ggcaactcctg ttggggggcg ttcgacgctc cgcgagtttc cccgcacggc aactacggtg 300
 atggggccgt accgcgcggg ctgatcgctt ggtgtgcttc ggctgtcacc cgaagcctac 360
 ctttcacccc ccccccccc ccccccccc ccccccccc cccccctaa gttctaccgt 420
 cgttcccgcg gtaaagggat gtaaccacaa gcttactacc gcctttcccg gcgttaaagg 480
 gatgtaacca caagacttac cttcaccggg aagtaaaacg gcaacttcac acagttttgc 540
 ccgttttcat gagaaatggg acgtctgcgc acgaaacgcg ccgtcgcttg aggaggactt 600
 gtacaaacac gatctaagca ggtttcccca actgacacaa accgtgcaat ttgaaactcc 660
 gcctgggctt tccaggtcta gaggggtgac actttgtact gtgtttgact ccacgttcga 720

tccactggcg	agtgttagta	acaacactgc	tgcttcgtag	cggagcatga	cggccgtggg	780
accccccccc	ttggtaacaa	ggaccacagg	ggccaaaagc	cacgtccgaa	tggaccogtc	840
atgtgtgcaa	accagcaca	gtagctttgt	tgtgaaactc	actttaaagt	gacattgata	900
ctggtactca	agcactggtg	acaggctaag	gatgcccttc	aggtaccccg	aggtaacacg	960
tgacactcgg	gatctgagaa	ggggaccggg	gcttctataa	aagcgcccg	tttaaaaagc	1020
ttctatgtct	gaataggtga	ccggaggccg	gcacctttct	tttaattaca	ctggacttat	1080
gaacacaact	gattgtttta	tcgctttggt	acacgctatc	agagagatca	gagcattttt	1140
cctaccacga	gccacaggaa	tgggagccgg	acaatccagc	ccggcgactg	gctcgcagaa	1200
ccaatctggc	aacactggta	gcataatcaa	caactactac	atgcaacagt	acaaaaattc	1260
catggacaca	cagctgggtg	acaatgctat	tagtggtggc	tccaacgagg	gctccacaga	1320
tacaacttcc	accacacaaa	ccaacactca	aaacaacgac	tggttttcca	aactcgccag	1380
ttctgccttt	agcggctctt	tcggtgctct	tcttgccgac	aagaagaccg	aggaaaccac	1440
actacttgaa	gaccgcatcc	tcaccaccgg	caacggccac	acgacgtcga	caactcagtc	1500
gagcgttggg	gtcacatacg	ggtacgcaac	aactgaggat	agcacgtcag	ggcccaacac	1560
atccggcctt	gagacacgtg	ttcaccaggc	agaacggttt	ttcaagatga	cactctttga	1620
atgggttccc	tcccagagtt	ttggacacat	gcacaaggtc	gttctgccct	cagaaccgaa	1680
agggtgtctat	gggggtctcg	tcaagtcata	cgcgtacatg	cgcaatggct	gggacgttga	1740
ggtgactgct	gttggaacc	agttcaacgg	cggttgtctc	ctggtggcgc	tcgttcctga	1800
aatgggtgac	atcagtgaca	gagagaagta	ccaactgact	ctctaccccc	accaattcat	1860
caaccacgc	actaacatga	cggcacacat	caccgtgcct	tacgtgggtg	tcaacagata	1920
cgaccaatac	aaccaacaca	agccctggac	tcttgctcgtc	atggtcgttg	ctccacttac	1980
tgtgaacaca	tcaggtgccc	agcagatcaa	ggtgtatgcc	aacatagccc	caaccaacgt	2040
tcacgttgct	ggtgaacttc	cctccaagga	ggggatcttc	cccgttgctg	gtgccgacgg	2100
ctatggcaac	atggtgacaa	ctgaccgaa	gacagctgac	cctgcctacg	ggaaagtcta	2160
caatccaccc	aggaccgccc	tgccggggccg	gttcacaaac	tacctggatg	ttgotgaggc	2220
ttgccccact	ctcctgacgt	tcgagaacgt	gccttacgtt	tcaacacgga	ctgatggaca	2280
aaggctgttg	gccaagttcg	acgtgtcatt	ggcagcgaaa	cacatgtcaa	acacttactt	2340
ggctggcttg	gccagtgact	acacacagta	cgctgggaca	atcaacctgc	acttcatggt	2400
cactgggcca	accgacgcga	aagctcggta	catggtggca	tacgtgcccc	ctggcatgga	2460
agcaccagac	aaccagagg	aggctgcccc	ctgcatacac	gcagagtggg	acactggttt	2520

gaactctaag	ttcacat	ttttt	caatccc	gta	catctcggcc	gctgactacg	catacaccgc	2580
gtccagcgag	gctgaa	acaa	caagcgtaca	gggatgggtt	tgtgtgtacc	agatcactca		2640
cggcaaggca	gacgctgacg	cgctcgtcgt	ctccgcttcg	gcggggaaag	actttgagct			2700
ccgggtacct	gtggacgcta	gacagcaa	ac	tacgaccact	ggcgaatctg	ccgaccccgt		2760
caccactacc	gttgagaact	acggaggaga	aacacaaact	caacgtcgc	accacactga			2820
cgttgccctc	gttcttgacc	ggtttgtgaa	ggtccaggtg	tcgggcaacc	aacacacact			2880
ggacgttatg	caggtacaca	aggacagtat	tgtgggtgca	ctcctacgcg	cagccacata			2940
ctactttctt	gacttgga	aaa	tagcagtgc	tcacactggg	aagctcacat	gggtgccccaa		3000
cggcgcccca	gtttctgcac	ttgacaacac	aaccaacccc	actgcctacc	acaagggggc			3060
gctgactcgg	ctggctctcc	catacaccgc	accacaccgc	gtgctggcca	cggcgtacac			3120
cggtagaacg	gcctacacta	ccgggtgtacg	caggggagac	ctagcccact	tggcggcggc			3180
gcacgctcgg	cacctgccga	cgtcgttcaa	ctttgggtgca	gttaaagcag	agacaatcac			3240
agagctgctt	gtgcgc	atga	agcgtgctga	actctactgc	cccagaccgg	tccttc	cggt	3300
ccaaccagcg	ggcgataggc	acaacaac	gctcattgcg	ccagcgaaac	agctttctgaa			3360
ttttgacctg	cttaagctag	ccggagacgt	tgagtccaac	cctgggccct	tcttcttctc			3420
cgacgttagg	tcaaactttt	ccaagctggt	agacacaatc	aaccagatgc	aggaagacat			3480
gtccacaaag	cacggacctg	actttaaccg	gttgggtgtcc	gcttttgagg	agttggccac			3540
tggagtga	aaa	gccatcagga	ccggctctga	cgaggccaag	ccctggtaca	agcttatcaa		3600
gctcctgagc	cgctgtcgt	gcatggccgc	tgtggcagca	cgggtcaaagg	accagtcct			3660
tgtggccatc	atgctggctg	acaccggtct	cgagattctg	gacagcacct	tcgtcgtgaa			3720
gaagatctcc	gactcgtctt	ccagtctctt	ccacgtgccg	gccccgtctt	tcagtttcgg			3780
agccccgatt	ctgtagccg	ggttgggtcaa	ggtcgcctcg	agtttcttcc	ggtccacgcc			3840
cgaagacctt	gagagagcag	agaaacagct	caaagcacgt	gacatcaacg	acattttcgc			3900
cattctcaag	aacggcgagt	ggctgggtcaa	attgatcctt	gccatccgcg	actggatcaa			3960
ggcatggata	gcctcagaag	aaaagtttgt	caccacgaca	gacttgggtac	ctagcatcct			4020
tgaaaaacag	caggacctca	acgacccaag	caagtacaag	gaagccaagg	agtggctcga			4080
caacgcgcgc	caagcgtgtt	tgaagagcgg	gaacgtccac	attgccaacc	tgtgcaaagt			4140
ggtcgccccg	gcaccagca	ggtcgagacc	cgagcccgtg	gtcgtttgcc	tccgtggcaa			4200
gtccggtcag	ggcaagagtt	tccttgcaaa	cgtgctcgca	caagcaatct	ctaccatttt			4260
cactggcagg	accgattcag	tttggtagctg	cccgctgac	cctgaccact	tcgacgggtta			4320
caaccaacag	actgtcgttg	tgatggacga	tttgggccag	aaccccgacg	gcaaagactt			4380

caagtacttc gcccaaattg tttcaacaac ggggttcac cgcgccatgg catcgcttga	4440
ggataaaggc aaacccttca acagtaaggt catcatagca accaccaacc tgtactcggg	4500
cttcaccccg aggactatgg tgtgccctga tgccctgaac cggagggttc actttgacat	4560
cgacgtgagc gccaaggacg ggtacaaaat taacaacaaa ttggacatca tcaaagcact	4620
tgaagatact cacaccaacc cagtggcaat gtttcagtac gactgtgccc ttctcaacgg	4680
catggctgtt gaaatgaaga gaatgcaaca agatatgttc aagcctcaac cacccttca	4740
gaacgtgtac caactgggtc aagaggtgat tgagcgggtg gagctccacg agaaggtgtc	4800
gagccacccg attttcaaac agatctcaat tccttcccaa aaatccgtgt tgtacttcct	4860
cattgagaaa ggacagcacg aggcagcaat tgaattcttt gagggcatgg tgcacgactc	4920
catcaaggag gagctccggc cgctcatcca acaaacctca tttgtgaaac gcgcttttaa	4980
gcgcctgaag gaaaactttg agattgttgc cctatgtctg accctcctgg ccaacatagt	5040
gatcatgac cgcgaaactc gcaagagaca gaagatggtg gacgatgcag tgagtgagta	5100
cattgagaga gcaaaccatc ccaccgacga caagactctt gatgaggcgg aaaagaaccc	5160
tctggaaacc agcggtgcca gcaccgtcg cttcagagag agacctctcc caggccaaaa	5220
ggcgcgtaat gacgagaact ccgagccgc ccagcctgct gaagagcaac cacaagctga	5280
aggaccctac gctggcccga tggagagacc agttaaagtt aaagtgaaag caaaagcccc	5340
ggtcgttaag gaaggacctt acgagggacc ggtgaagaag cctgttgctt tgaaagtga	5400
agctaagaac ttgatcgta ctgagagtgg tgccccaccg accgacttgc aaaagttggt	5460
catgggcaac accaagcccc ttgagctcat ccttgacggg aagacggtag ccatttgctg	5520
tgctactgga gttttcggca ctgcttacct cgtgcctcgt catcttttcg cagaaaagta	5580
cgacaagatc atgttgagc gcagagccat gacagatagt gactacagag tgtttgagtt	5640
tgagattaaa gtaaaaggac aggacatgct ctcagacgct gcgctcatgg tgctccaccg	5700
tgggaatcgc gtgagagaca tcacgaaaca ctttcgtgac acagcaagaa tgaagaaagg	5760
cacccccgtc gttggtgtga tcaacaacgc cgatgtcggg agactgattt tctctggtga	5820
agcccttacc tacaaggaca ttgtagtgtg catggatgga gacaccatgc ctgggctctt	5880
tgctacaaa gccgcaacca aggctggtta ttgcggagga gccgtcctcg ctaaggacgg	5940
ggctgacacg ttcacgttg gcaccactc cgctggaggc aatggcggtg gatactgctc	6000
ttgcgtttcc aggtccatgc ttctcaagat gaaggcacac gttgaccccg aaccacacca	6060
cgaggggttg attgttgaca ccagagatgt ggaagagcgc gttcacgtga tgcgcaaaac	6120
caagcttgca cccaccgttg cgtacggtgt gttccgtcct gagttcgggc ctgccgcctt	6180

```

gtccaacaag gacccgcgcc tgaacgacgg tgttgctctc gacgaagtca tcttctccaa 6240
acacaagggg gacacaaaga tgtctgagga agacaaagcg ctgttccgcc gctgtgctgc 6300
tgactacgcg tcacgcctgc acagcgtggt gggtacggca aatgccccac tgagcatcta 6360
cgaggcaatt aaaggcgttg atggactcga cgcaatggaa ccagacaccg caccggcct 6420
cccctgggca ctccagggga agcgccgtgg cgcgctcatc gacttcgaga acggcactgt 6480
tggaaccgaa gttgaggctg ctttgaagct catggagaaa agagaataca agtttgcttg 6540
ccaaaccttc ctgaaggacg agattcgccc gatggagaaa gtacgtgccg gtaagactcg 6600
cattgtcgac gtctacctg ttgaacacat cctctacacc aggatgatga ttggcagatt 6660
ttgtgcacaa atgcactcaa acaacggacc ccaaattggc tcggcggtcg gttgtaacco 6720
tgatgttgat tggcaaagat ttggcacaca cttcgcccaa tacagaaacg tgtgggatgt 6780
ggactattcg gccttcgatg ctaaccactg cagtgcgcc atgaacatca tgtttgagga 6840
agtgtttcgc acagaattcg ggttccaccc aaacgctgag tggatcctga agactctcgt 6900
gaacacggaa cacgcctatg agaacaaacg catcactgtt gaaggcggga tgccatctgg 6960
ttgttccgca acaagcatca tcaacacaat tttgaacaac atctacgtgc tctacgcttt 7020
gcgtagacac tatgagggag ttgagctgga cacttacacc atgatctctt acggagacga 7080
tatcgtgggtg gcaagtgatt acgatttgga ctttgaggct ctcaagcccc acttcaaate 7140
ccttgggtcaa accatcactc cagctgacaa aagcgacaaa ggttttgctt ttggtcactc 7200
cattactgat gtcactttcc tcaaaagaca cttccacatg gattatggaa ctgggtttta 7260
caaacctgtg atggcctcaa agacccttga ggctatcctc tcctttgcac gccgtgggac 7320
catacaggag aagttgatct ccgtggcagg actcgtgtt cactctggac cagacgagta 7380
ccggcgtctc ttcgagccct ttcaaggcct cttcgagatt ccaagctaca gatcacttta 7440
cctgcgttgg gtgaacgccg tgtgcggcga cgcataatcc ctacagagact acattggcat 7500
actgtttctg aggcgcgcga cgccgtagga gtgaaaagcc tgaaagggtt tttcccgtt 7560
cctattccaa aaaaaaaaaa aaaaaa 7586

```

<210> 27

<211> 2076

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit dung hợp chứa capsit và một phần trình tự 2A của chủng C3 Indaial của FMD

<400> 27

```

ggggccggcc aatccagccc agctactggc tcgcagaacc aatctggtta cacaggtagc 60

```

ataatcaaca	actactacat	gcaacagtac	caaaactcca	tggacacaca	gcttggtgac	120
aatgccatca	gtggaggctc	taacgagggc	tccacggaca	caacttcaac	tcacacaacc	180
aacacccaaa	acaatgactg	gttttcaaga	ctcgccggtt	cggccttctc	cggtttgttt	240
ggggccttgc	ttgccgacaa	gaagacggag	gagacgacac	tccttgagga	cgcatttctc	300
accactcgca	atgggcacac	cacctccacg	accagtccta	gcgtaggcgt	tacatacggg	360
tactccacaa	cagaggacca	cgttgctgga	cccaacacat	caggtttgga	gacacgagtg	420
gtacaggcag	agagattcta	caaaaagttt	ttgtttgatt	ggacaacgga	caagcctttt	480
ggacacctgc	acaaactgga	gttgcccacc	gaccaccacg	gtgttttcgg	acacttggtg	540
gactcatacg	cctacatgag	gaacggttgg	gacgttgagg	tgtctgctgt	tggcaaccag	600
ttcaacggcg	gatgcctcct	agtggccatg	gtaccggaat	ggaaagagtt	tgaaacgcgg	660
gagaagtacc	agctcacgct	tttcccgcac	cagttcatta	gcccagaac	caacatgacc	720
gcccacatca	cggttcctta	ccttggtgtg	aatagatatg	atcagtacaa	aaaacacaaa	780
ccctggacac	tggttgtcat	ggtcgtgtcc	ccgctcacgg	tcaacgccac	gagcgcggca	840
cagatcaagg	tctatgccaa	catcgctccg	acctacgttc	atgtggccgg	cgagctcccc	900
tcgaaagagg	ggatcttccc	tgtcgcgtgc	gcggaagggt	acggaggact	ggtgacaacg	960
gacccgaaaa	cagctgaccc	cgcctacggc	aagggtgtaca	atccgccccg	gactaactac	1020
cccgggcgtt	tcactaactt	gttggaactg	gctgaggcat	gtcccacctt	tctgtgtttt	1080
gacgacggga	aaccgtacgt	taccacacag	acaggtgagt	ctcgtcttct	ggccaagttc	1140
gacctttccc	ttgccgcgaa	gcacatgtct	aacacatact	tggcaggaat	tgcccagtac	1200
tacacacagt	actcaggcac	catcaatttg	catttcatgt	tcacaggttc	aactgattca	1260
aaagcccgc	acatggtggc	ttacatccc	cctgggggtg	aaacaccacc	ggacacacct	1320
gagagggcag	cccactgcat	ccatgctgag	tgggacacag	ggctgaattc	caaattcaca	1380
ttctcaatcc	cgtacgtgtc	tgccgcggat	tacgcctaca	cggcgtctga	tgaggcagag	1440
acaacaaacg	tacagggatg	ggtctgcgtt	taccagatca	cacacgggaa	ggctgacaac	1500
gacactctgg	tcgtgtcgg	tagcgccggc	aaggacttcg	agttgcgcct	ccccattgac	1560
ccccgaccgc	agaccaccgc	tactggggaa	tcagcagacc	ctgtcaccac	cactgtagag	1620
aactacggcg	gtgagacaca	agttcagaga	cgccaccaca	ccgacgttgg	cttcatcatg	1680
gacagatttg	tgaaaataaa	cagcccaaaa	tccacccatg	ttattgacct	catgcaaacc	1740
caccaaacacg	gtctagtggg	tgcgctgctg	cgtgcggcga	cctactactt	ctcagatctg	1800
gaaattgttg	tgcggcatga	cggcaacct	acttgggtgc	ccaatggtgc	tcccgtgtca	1860
gccttgtcca	acaccagcaa	ccccaccgcc	tacaacaagg	caccgttcac	gagacttgcc	1920

ctcccctaca ccgcgccaca ccgcgtgttg gcgactgtgt acaacgggac gagcaagtac 1980
 actgtgagtg ggtcaagcag acgaggcgac ttgggttccc tcgcggcacg agtcgtgaag 2040
 gcacttcctg cttctttcaa ctacggtgca atcaag 2076

<210> 28
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mỗi

<400> 28
 gacaaaggtt ttgttcttgg tca 23

<210> 29
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mỗi

<400> 29
 tgcgagtcct gccacgga 18

<210> 30
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mẫu dò

<400> 30
 tcctttgcac gccgtgggac 20