



(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)



1-0033190

(51)¹⁹ A61K 39/00; A61K 38/38; A61K 39/165; A61K 39/02; A61K 39/12; A61K 38/00 (13) B

(21) 1-2019-02329

(22) 30/10/2017

(86) PCT/CU2017/050006 30/10/2017

(87) WO2018/082719 11/05/2018

(30) 2016-0161 01/11/2016 CU

(45) 25/09/2022 414

(43) 25/10/2019 379A

(73) CENTRO DE INGENIERIA GENETICA Y BIOTECNOLOGIA (CU)

Avenida 31 entre 158 y 190, Playa La Habana 11600, Cuba

(72) MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, Rebeca (CU); HERNANDEZ PEREZ, Liz (CU); GIL GONZÁLEZ, Lázaro (CU); CARPIO GONZÁLEZ, Yamila (CU); ESTRADA GARCÍA, Mario, Pablo (CU).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM VACXIN CHỨA PEPTIT KÍCH THÍCH BÀI TIẾT HORMON TĂNG TRƯỞNG

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm vacxin chứa peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2, ít nhất một kháng nguyên vacxin, và chất dẫn hoặc chất pha loãng dược dụng, trong đó peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng này là ở lượng đủ để kích thích đáp ứng miễn dịch của vật chủ với kháng nguyên vacxin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin chứa peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2, ít nhất một kháng nguyên vaccin, và chất dẫn hoặc chất pha loãng được dụng, trong đó peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng này là ở lượng đủ để kích thích đáp ứng miễn dịch của vật chủ với kháng nguyên vaccin.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chất kích thích bài tiết hormon tăng trưởng (Davenport *et al.* 2005, *Pharmacol. Rev.* 57: 541-546) là nhóm các hợp chất bao gồm hợp chất peptidyl và hợp chất không peptidyl kích thích bài tiết hormon tăng trưởng (GH) *in vitro* và *in vivo* (Tannenbaum and Bowers, 2001, *Endocrine* 14: 21-27).

Ghrelin là phối tử nội sinh của thụ thể chất kích thích bài tiết hormon tăng trưởng (GHS-R) (Kojima *et al.*, 1999, *Nature* 402: 656-660). Ghrelin tham gia vào nhiều quá trình, bao gồm điều hòa cân bằng năng lượng, tình trạng thèm ăn, tín hiệu chuyển hóa, và các quá trình khác (Dixit and Taub, 2005, *Exp. Gerontology* 40: 900-910). Ngoài ra, ghrelin có hoạt tính chống viêm, điều hòa quá trình thực bào và tăng cường sản sinh tế bào tủy ức, cũng như làm giảm tình trạng sốc nhiễm trùng (Hattori, 2009, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 4284-4291).

Ngoài kích thích bài tiết hormon tăng trưởng, chất kích thích bài tiết hormon tăng trưởng cũng điều hòa tình trạng thèm ăn và tăng cân ở động vật có vú, gia cầm và động vật thủy sinh (Kaiya *et al.*, 2008, *Comp. Biochem. Physiol. A* 149: 109-128). Chất kích thích bài tiết hormon tăng trưởng cũng có đặc tính bảo vệ tim mạch, bằng cách cải thiện các thông số chức năng tim mạch trong một số nghiên cứu *in vivo*, và ức chế tăng sinh tế bào ung thư (Locatelli and Rossoni, 1999, *Endocrinol.* 140:4024-4031; Tivesten and Bollano, 2000, *Endocrinol.* 141: 60-66; Cassoni *et al.*, 2001, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 1738-1745). Hơn nữa, chất kích thích bài tiết hormon tăng trưởng tham gia vào các quá trình, như quá trình viêm và lão hóa (Hattori, 2009, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 4284-4291).

Đã biết rằng peptit hexame GHRP-6 (có trình tự axit amin là His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) có hoạt lực rất mạnh, an toàn, và hoạt hóa giải phóng hormon tăng trưởng ở động vật có vú và gia cầm (Bowers *et al.*, 1984, *Endocrinol.* 114: 1537-45), cũng như động vật giáp xác (Patent Châu Âu số EP1477181 B1).

Hoạt tính chống viêm của ghrelin đã được mô tả trên các mô hình động vật (Smith *et al.*, 2005, *Trends Endocrinol. Metab.* 16, 436-442). Hầu hết các nghiên cứu trong tài liệu Baatar *et al.*, 2011, *Molecular and Cellular Endocrinology* 340: 44- 58 cho thấy rằng việc sử dụng axyl-ghrelin ức chế biểu hiện và/hoặc sản sinh các xytokin tiền viêm, không phụ thuộc vào tình trạng bệnh lý hoặc liều, và phác đồ điều trị được sử dụng. Tài liệu Dixit *et al.*, 2004, *J. Clin. Invest.* 114: 57-66; Taub, 2007, *Vitam. Horm.* 77: 325-346 đề cập đến vai trò của ghrelin trong việc làm giảm tỷ lệ chết và tác dụng viêm gây ra bởi lipopolysaccarit (LPS), trong cả điều kiện *in vivo* và *in vitro*, cũng như tình trạng nhiễm trùng trên mô hình động vật gặm nhấm.

Trong các nghiên cứu được thực hiện trên mô hình chuột nhất bị viêm mãn tính, ghrelin và peptit chủ vận tổng hợp GHRP-2 đã ức chế đáng kể giải phóng interleukin 6 (IL-6) và axit nitric từ đại thực bào được hoạt hóa, và làm giảm tình trạng viêm khớp (Granado *et al.*, 2005, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 288: E486-E492). Ngoài ra, các nghiên cứu tương tự đã được thực hiện và kiểm chứng được hoạt tính chống viêm của ghrelin và peptit chủ vận tổng hợp GHRP (González-Rey *et al.*, 2006, *Gastroenterol.* 130 (6), 1707-1720).

Theo tài liệu Lofti *et al.*, 2011, *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 17 (6): 949-952), ghrelin được tiêm qua đường *in ovo* có ảnh hưởng đến mức độ biệt hóa tế bào lympho ở các gà con mới nở. Sau 10 ngày ấp, ghrelin được tiêm ở liều bằng 100ng đã làm tăng số lượng bạch cầu trung tính, bạch cầu ưa bazơ và bạch cầu ưa eosin, và tỷ lệ bạch cầu trung tính/tế bào lympho, đồng thời làm giảm số lượng tế bào lympho.

Trong trường hợp của phân lớp cá xương thật, các nghiên cứu *in vitro* cho thấy rằng quá trình điều trị bạch cầu của cá hồi cầu vòng (*Oncorhynchus mykiss*) bằng ghrelin làm tăng sản sinh anion superoxit, nồng độ axit ribonucleic thông tin mã hóa hormon tăng trưởng, và superoxit dismutaza ở các tế bào này (Yada *et al.*, 2006, *Endocrinol.* 189: 57-65). Trong nghiên cứu này, đã ghi nhận được rằng quá trình ủ trước bằng peptit đối kháng thụ thể chất kích thích bài tiết [D-Lys³]-GHRP-6, và quá trình trung hòa miễn dịch

hormon tăng trưởng, đã làm giảm sản sinh các gốc oxy phản ứng ($O_2^{\cdot-}$), cho thấy tác dụng của ghrelin đến các bạch cầu được điều hòa bởi quá trình bài tiết hormon tăng trưởng (Yada *et al.*, 2007, *Endocrinol.* 152: 353-358). Mặt khác, các nghiên cứu *in vitro* được thực hiện với peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có cấu trúc tương tự peptit GHRP-6, tức là peptit A233, cho thấy quá trình sản sinh các chất chỉ thị hoạt tính đại thực bào, như anion superoxit, ở các bạch cầu của cá diêu hồng (*Oreochromis sp.*) (Martínez *et al.*, 2012, *J. of Endocrinol.* 214: 409-419) được kích thích. Nghiên cứu này cũng đã kiểm chứng được rằng việc sử dụng peptit A233, qua bể ngâm, kích thích các thông số của quá trình bảo vệ chống oxy hóa chống lại ấu trùng bằng enzym superoxit dismutaza ở cá diêu hồng (*Oreochromis sp.*), cũng như nồng độ lectin và hoạt tính kháng proteaza. Trong các thử nghiệm khác, được thực hiện trên cá diêu hồng mới sinh, được sử dụng qua đường miệng bằng peptit GHRP-6, nồng độ lectin, và số lượng tế bào lympho biểu mô ở niêm mạc dạ dày đã được gia tăng (Martínez *et al.*, 2016, *Aquaculture* 452 304-310). Số lượng tế bào lympho biểu mô ở niêm mạc dạ dày liên quan đến hệ miễn dịch bẩm sinh không đặc hiệu, và không liên quan đến việc sử dụng kháng nguyên cụ thể.

Miễn dịch bảo vệ chống lại các tác nhân gây bệnh khác nhau cần các đáp ứng có thể được tạo ra bằng chất bổ trợ vacxin thích hợp (Awate *et al.*, 2013, *Frontiers in Immunology* 4: 1-10). Do đó, cần nghiên cứu và phát triển chất bổ trợ vacxin thế hệ mới, để phát triển vacxin chống lại các tác nhân gây bệnh cho đến nay vẫn chưa được điều trị hữu hiệu bằng các phác đồ tiêm phòng thông thường và khắc phục các nhược điểm của một số chất bổ trợ vacxin đã biết (Harandi *et al.*, 2010, *Vaccine* 28(12):2363-6; Pérez *et al.*, 2012, *Braz J Med Biol Res* 45(8):681-92).

Nhiều chất bổ trợ vacxin tăng cường đáp ứng viêm mạnh và không đặc hiệu, làm tăng khả năng sinh miễn dịch của kháng nguyên được sử dụng đồng thời, nhưng cũng có thể gây ra các tác dụng không mong muốn. Do đó, cần phát triển chất bổ trợ vacxin thế hệ mới gây đáp ứng miễn dịch đặc hiệu hơn, để thu được tác dụng bảo vệ an toàn và tối ưu tạo ra bởi các vacxin.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để khắc phục các nhược điểm nêu trên, sáng chế đề cập đến chất bổ trợ vacxin có thể tăng cường hữu hiệu đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên được sử dụng đồng thời. Cụ thể, sáng chế đề cập đến chế phẩm vacxin chứa peptit kích thích bài tiết hormon tăng

trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2, ít nhất một kháng nguyên vaccin, và chất dẫn hoặc chất pha loãng được dụng, trong đó peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng này là ở lượng đủ để kích thích đáp ứng miễn dịch của vật chủ với kháng nguyên vaccin.

Mô tả vât tất hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ thể hiện đáp ứng kháng thể ở các chuột nhắt được gây miễn dịch bằng albumin trứng, peptit GHRP-6 và chất bổ trợ Freund, hoặc bằng albumin trứng và chất bổ trợ Freund. Fig.1A là biểu đồ thể hiện nồng độ của globulin miễn dịch G (IgG) ở các nhóm được gây miễn dịch qua đường tiêm dưới da. Fig.1B là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgG ở các nhóm được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng. Trị số trung bình và độ lệch chuẩn trong mỗi nhóm được thể hiện. ** thể hiện $p < 0,0014$; *** thể hiện $p < 0,001$.

Fig.2 là biểu đồ thể hiện đáp ứng kháng thể ở các chuột nhắt được gây miễn dịch bằng albumin trứng, peptit GHRP-6 và chất bổ trợ Freund, qua đường tiêm dưới da và đường tiêm màng bụng. (nhóm 3 và nhóm 4 tương ứng); hoặc bằng albumin trứng và chất bổ trợ Freund, qua đường tiêm dưới da và đường tiêm màng bụng (nhóm 5 và nhóm 6 tương ứng). Fig.2A là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgG1. Fig.2B là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgG2a. Trị số trung bình và độ lệch chuẩn trong mỗi nhóm được thể hiện. ** thể hiện $p < 0,0014$; *** thể hiện $p < 0,001$.

Fig.3 là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgG ở các chuột nhắt được gây miễn dịch bằng peptit A233, albumin trứng và chất bổ trợ Freund; hoặc albumin trứng và chất bổ trợ Freund, qua đường tiêm màng bụng. Nồng độ của các kháng thể được phát hiện trong huyết thanh được lấy vào ngày 22 của quá trình thử nghiệm được thể hiện. Trị số trung bình và độ lệch chuẩn trong mỗi nhóm được thể hiện. ** thể hiện $p < 0,0014$.

Fig.4 là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgG (được phát hiện vào ngày 28 của quá trình thử nghiệm) ở các nhóm được gây miễn dịch bằng protein C2 và nhôm; hoặc bằng protein C2, peptit GHRP-6 và nhôm, qua đường tiêm dưới da. Trị số trung bình và độ lệch chuẩn trong mỗi nhóm được thể hiện. * thể hiện $p < 0,05$.

Fig.5 là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgG ở các chuột nhắt được gây miễn dịch bằng peptit P0 và chất bổ trợ Freund; hoặc bằng peptit P0, peptit GHRP-6 và chất bổ trợ

Freund qua đường tiêm màng bụng, vào ngày 36 của quá trình thử nghiệm. Trị số trung bình và độ lệch chuẩn trong mỗi nhóm được thể hiện. * thể hiện $p < 0,05$.

Fig.6 là biểu đồ thể hiện nồng độ của globulin miễn dịch M (IgM) ở các cá điều hồng được gây miễn dịch bằng protein thể khảm P0-my32 hoặc bằng protein thể khảm P0-my32 kết hợp với peptit GHRP-6 hoặc với peptit A233, được phát hiện vào ngày 28 của thử nghiệm, các kháng nguyên được sử dụng qua đường tiêm màng bụng. Fig.6A và Fig.6C là biểu đồ thể hiện nồng độ IgM chống lại my-32. Fig.6B và Fig.6D là biểu đồ thể hiện nồng độ IgM chống lại P0. Fig.6A và Fig.6B là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgM ở các cá điều hồng được điều trị hoặc không được điều trị bằng peptit GHRP-6 được thể hiện. Fig.6C và Fig.6D là biểu đồ thể hiện nồng độ của IgM ở các cá điều hồng được điều trị hoặc không được điều trị bằng peptit A233 được thể hiện. Trị số trung bình và độ lệch chuẩn trong mỗi nhóm được thể hiện. * thể hiện $p < 0,01$; ** thể hiện $p < 0,0014$; *** thể hiện $p < 0,001$.

Fig.7 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm cá điều hồng có nồng độ IgM lớn hơn 1:1000, sau khi gây miễn dịch bằng chế phẩm P0-my32 chứa montanide ISA 50 hoặc chế phẩm P0-my32 chứa peptit GHRP-6 và montanide ISA 50, vào ngày 28 của thử nghiệm. Fig.7A là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm cá điều hồng đáp ứng kháng my32. Fig.7B là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm cá điều hồng đáp ứng kháng P0.

Fig.8 là biểu đồ thể hiện nồng độ kháng thể IgM ở các cá trê phi được gây miễn dịch bằng polypeptit dung hợp P0-TT hoặc bằng polypeptit dung hợp P0-TT trong sự có mặt của peptit GHRP-6 hoặc peptit A233, vào ngày 28 của thử nghiệm, trong đó các cá trê phi được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng. Fig.8A là biểu đồ thể hiện nồng độ kháng thể IgM kháng P0 ở các nhóm thử nghiệm với chất bổ trợ là peptit GHRP-6. Fig.8B là biểu đồ thể hiện nồng độ kháng thể IgM kháng P0 ở các nhóm thử nghiệm với chất bổ trợ là peptit A233. Toàn bộ các kháng nguyên được kết hợp với montanide ISA 50.

Fig.9 là biểu đồ thể hiện nồng độ của các kháng thể ngưng kết chống lại *Aeromonas hydrophila* ở các cá chép. Các trị số trên trục Y thể hiện trị số trung bình $\pm$ sai số chuẩn. * thể hiện $p < 0,05$; ** thể hiện $p < 0,01$. Nhóm 1: được tiêm bằng PBS, nhóm 2: được tiêm bằng tế bào *Aeromonas hydrophila* được bất hoạt bằng formalin, nhóm 3: được tiêm bằng tế bào *Aeromonas hydrophila* được bất hoạt bằng formalin và

peptit GHRP-6 (20µg/cá). Toàn bộ các kháng nguyên được kết hợp với montanide ISA 50.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin chứa peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2, ít nhất một kháng nguyên vaccin, và chất dẫn hoặc chất pha loãng được dụng.

Sáng chế mô tả việc sử dụng peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 (GHRP-6) hoặc SEQ ID NO.2 (A233), làm chất bổ trợ vaccin được sử dụng trong phác đồ tiêm phòng khác nhau. Theo một phương án vaccin này được sử dụng trong phòng ngừa bệnh gây ra bởi tác nhân truyền nhiễm. Theo phương án cụ thể, các bệnh này ảnh hưởng đến động vật có vú, gia cầm hoặc động vật thủy sinh; và tác nhân truyền nhiễm có thể là virus, vi khuẩn và sinh vật ngoại ký sinh, và các tác nhân lây nhiễm khác.

Thuật ngữ “chất bổ trợ” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hợp chất có khả năng điều hòa hữu hiệu đáp ứng miễn dịch chống lại kháng nguyên vaccin, dẫn đến làm tăng đáp ứng miễn dịch. Cho đến nay chưa có nghiên cứu kiểm chứng hoặc đề cập đến việc sử dụng ghrelin, hoặc peptit tương tự cấu trúc của nó, làm chất bổ trợ vaccin. Ngược lại, việc sử dụng ghrelin để điều trị bệnh viêm đã được đề cập đến (González-Rey *et al.*, 2006, *Gastroenterology* 130 (6), 1707-1720; Baatar *et al.*, 2011, *Mol Cell Endocrinol* 340: 44- 58). Các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện thấy rằng peptit GHRP-6 hoặc peptit A233 được sử dụng kết hợp với kháng nguyên vaccin, kích thích đáp ứng miễn dịch đặc hiệu chống lại kháng nguyên.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin chứa peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 (peptit GHRP-6) hoặc SEQ ID NO.2 (peptit A233), ít nhất một kháng nguyên vaccin, và chất dẫn hoặc chất pha loãng được dụng. Chế phẩm vaccin theo sáng chế có thể chứa các hợp chất khác đóng vai trò là các chất bổ trợ vaccin đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ về các chất bổ trợ này bao gồm chất bổ trợ dạng muối nhôm và chất bổ trợ dạng dầu.

Theo các phương án khác nhau, chế phẩm vaccin theo sáng chế chứa các kháng nguyên khác nhau và peptit GHRP-6 hoặc peptit A233. Các kháng nguyên kết hợp với GHRP-6 hoặc peptit A233 tương tự cấu trúc của nó bao gồm albumin trứng (OVA),

protein capsit của virus Dengue 2 (C2), peptit pP0 có nguồn gốc từ *Rhipicephalus sanguineus* (Rodríguez-Mallón *et al.*, 2012; *Vaccine* 30: 1782-1789), protein thể khảm P0-my32 (polypeptit dung hợp của hai kháng nguyên có nguồn từ *Lepeophtheirus salmonis*), và protein dung hợp của peptit P0 có nguồn từ *L. salmonis* và epitop tế bào T (P0-TT). Không có giới hạn cụ thể, chế phẩm vaccin theo sáng chế được sử dụng cho chuột nhắt, gia cầm và động vật thủy sinh, và trước tiên tác dụng bổ trợ vaccin được kiểm chứng đối với các peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng này. Các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện thấy rằng peptit GHRP-6 hoặc peptit A233 được sử dụng kết hợp với kháng nguyên làm tăng nồng độ kháng thể đặc hiệu kháng nguyên, ở một số loài động vật.

Theo một phương án, kháng nguyên vaccin được chọn từ nhóm bao gồm peptit, protein, virus và vi khuẩn giảm độc lực. Theo một phương án ưu tiên, vaccin này được sử dụng cho động vật có vú, gia cầm hoặc động vật thủy sinh. Theo phương án ưu tiên hơn, chế phẩm vaccin theo sáng chế được sử dụng qua đường miệng hoặc đường tiêm. Theo phương án cụ thể, trong chế phẩm vaccin, peptit có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2 ở liều nằm trong khoảng từ 50 đến 600µg/kg thức ăn chăn nuôi, khi vaccin này được sử dụng qua đường miệng cho động vật thủy sinh.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm tăng đáp ứng miễn dịch chống lại kháng nguyên vaccin, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 (GHRP-6) hoặc SEQ ID NO.2 (A233), làm chất bổ trợ cho kháng nguyên vaccin này. Theo một phương án, kháng nguyên vaccin được sử dụng trong phòng ngừa bệnh gây ra bởi tác nhân truyền nhiễm. Theo phương án cụ thể, peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2 được sử dụng ở liều nằm trong khoảng từ 50 đến 600µg/kg thức ăn chăn nuôi, khi kháng nguyên vaccin và chất bổ trợ peptit được sử dụng qua đường miệng. Theo một phương án khác, peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2 được sử dụng ở liều nằm trong khoảng từ 0,1 đến 40µg/g trọng lượng cơ thể của động vật, khi kháng nguyên vaccin và peptit đóng vai trò làm chất bổ trợ được sử dụng qua đường tiêm. Để đạt được mục đích theo sáng chế, peptit GHRP-6 và peptit A233, là các peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng đã biết, được điều chế bằng phương pháp tổng hợp hóa học.

Như được thể hiện trong các phương án khác nhau theo sáng chế, đáp ứng miễn dịch gia tăng chống lại kháng nguyên quan tâm tạo ra mức độ bảo vệ cao hơn chống lại các tác nhân truyền nhiễm khác nhau, bao gồm virus, vi khuẩn và sinh vật ngoại ký sinh.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Tác dụng của việc sử dụng đồng thời peptit GHRP-6 đến đáp ứng miễn dịch dịch thể chống lại albumin trứng

Các chuột nhắt cái BALB/c (36) được sử dụng và chia thành 6 nhóm nghiên cứu, với mỗi nhóm bao gồm 6 chuột nhắt. Ba nhóm được gây miễn dịch qua đường tiêm dưới da và ba nhóm còn lại được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng. Trong toàn bộ các nhóm, các kháng nguyên được nhũ hóa với chất bổ trợ Freund.

Nhóm 1: giả được (dung dịch muối đệm phosphat, được viết tắt là PBS) được gây miễn dịch qua đường tiêm dưới da.

Nhóm 2: giả được (PBS) được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng.

Nhóm 3: peptit GHRP-6 ở liều bằng 10 μ g/chuột nhắt và albumin trứng ở liều bằng 5 μ g/chuột nhắt được gây miễn dịch qua đường tiêm dưới da.

Nhóm 4: peptit GHRP-6 ở liều bằng 10 μ g/chuột nhắt và albumin trứng ở liều bằng 5 μ g/chuột nhắt được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng.

Nhóm 5: albumin trứng ở liều bằng 5 μ g/chuột nhắt được gây miễn dịch qua đường tiêm dưới da.

Nhóm 6: albumin trứng ở liều bằng 5 μ g/chuột nhắt được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng.

Các chuột nhắt được tiêm kháng nguyên (150 μ L) trong toàn bộ các nhóm, được sử dụng cho các chuột nhắt vào ngày 1 và ngày 15 của quá trình thử nghiệm. Máu được lấy vào ngày 0 (huyết thanh tiền miễn dịch), 8, 15, 22, 36, 43 và 50. Nồng độ của IgG tổng số, IgG1 và IgG2a được xác định. Chất bổ trợ Freund đầy đủ (CFA) được sử dụng trong quá trình gây miễn dịch lần đầu và chất bổ trợ Freund không đầy đủ (IFA) được sử dụng trong quá trình gây miễn dịch tiếp theo.

Các chuột nhắt ở nhóm được gây miễn dịch bằng peptit GHRP-6 và albumin trứng, qua đường tiêm dưới da, có nồng độ kháng thể cao hơn (với mức ý nghĩa thống kê:

$p < 0,05$) so với các chuột nhắt ở nhóm được tiêm albumin trứng và không được tiêm peptit GHRP-6, theo cùng đường tiêm, vào ngày 22, 36, 43 và 50 của thử nghiệm (Fig.1A). Các chuột nhắt được tiêm cùng với các kháng nguyên, nhưng qua đường tiêm màng bụng, có cùng trạng thái vào ngày 36 và 43 của thử nghiệm (Fig.1B).

Nồng độ IgG1 và IgG2a được xác định trong huyết thanh được lấy vào ngày 36, ở các nhóm được gây miễn dịch bằng alubmin trứng kết hợp với peptit GHRP-6 hoặc không, qua đường tiêm dưới da và đường tiêm màng bụng (Fig.2A và Fig.2B). Mức độ kháng biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ IgG2a không quan sát được giữa các nhóm được tiêm bằng peptit GHRP-6 và nhóm không được tiêm bằng peptit GHRP-6, đối với cả hai đường tiêm (Fig.2A và Fig.2B). Mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ IgG1 quan sát được ở cả hai đường tiêm, và cao hơn ở các nhóm được gây miễn dịch trong sự có mặt của peptit GHRP-6.

Tỷ lệ IgG1/IgG2a, là thông số đánh giá khả năng phản ứng khác biệt theo hướng đáp ứng Th2 hoặc đáp ứng Th1 tương ứng, và vượt trội đáng kể ở nhóm được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng, bằng alubmin trứng trong sự có mặt của peptit GHRP-6 và chất bổ trợ Freund, so với nhóm chỉ được tiêm bằng alubmin trứng và chất bổ trợ Freund. Tỷ lệ này được thể hiện trong Bảng 1, trong đó dữ liệu thử nghiệm thể hiện trị số trung bình của tỷ lệ IgG1/IgG2a tương đương với 6 chuột nhắt ở mỗi nhóm.

Bảng 1. Tỷ lệ IgG1/IgG2a ở cả hai nhóm được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng.

Kháng nguyên của nhóm	Tỷ lệ IgG1/IgG2a
Peptit GHRP-6 + albumin trứng + chất bổ trợ Freund	981,33*
Albumin trứng + chất bổ trợ Freund	172,33
* thể hiện mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê: $p < 0,05$.	

Ví dụ 2. Tác dụng của việc sử dụng đồng thời peptit A233 đến đáp ứng miễn dịch dịch thể chống lại albumin trứng.

Để đánh giá xem peptit A233 có phải là chất bổ trợ hữu hiệu để kích thích áp ứng miễn dịch dịch thể chống lại albumin trứng hay không, các chuột nhắt cái BALB/c (18) được sử dụng. Các chuột nhắt được tiêm kháng nguyên (150 μ L) trong toàn bộ các nhóm, qua đường tiêm màng bụng, được thực hiện đối với các chuột nhắt vào ngày 1 và ngày 15 của quá trình thử nghiệm. Các mẫu máu được lấy vào ngày 0 (huyết thanh tiền miễn dịch), 8, 15, 22, 36, 43 và 50. Nồng độ của IgG tổng số trong huyết thanh được xác định.

Các chuột nhắt được gây miễn dịch bằng albumin trứng ở liều bằng 5µg/chuột nhắt và peptit A233 ở liều bằng 10µg/chuột nhắt (nhóm 2), hoặc albumin trứng ở liều bằng 5µg/chuột nhắt (nhóm 3). Nhóm đối chứng được tiêm bằng PBS (nhóm 1). Toàn bộ các kháng nguyên được nhũ hóa với chất bổ trợ Freund.

Ở các chuột nhắt được tiêm bằng alubmin trứng và peptit A233, nồng độ kháng thể kháng albumin trứng được gia tăng đáng kể, so với các chuột nhắt được gây miễn dịch chỉ bằng alubmin trứng, vào ngày 22 của quá trình thử nghiệm (Fig.3).

Ví dụ 3. Tác dụng của việc sử dụng đồng thời peptit GHRP-6 đến đáp ứng miễn dịch dịch thể chống lại kháng nguyên C2.

Kháng nguyên C2, là protein capsit của virus Dengue 2, được điều chế dưới dạng protein tái tổ hợp trong *Escherichia coli*, có khối lượng phân tử bằng 15 kDa. Để đánh giá đáp ứng miễn dịch dịch thể và đáp ứng miễn dịch tế bào ở các chuột nhắt được gây miễn dịch bằng protein C2, trong sự có mặt hoặc vắng mặt của peptit GHRP-6, các chuột nhắt cái BALB/c (24, 6 tuần tuổi) được sử dụng, và chia thành 3 nhóm. Mỗi chuột nhắt được tiêm kháng nguyên, theo nhóm thử nghiệm:

Nhóm 1: 10µg protein C2

Nhóm 2: 10µg protein C2 được sử dụng đồng thời với 10µg peptit GHRP-6

Nhóm 3: PBS

Trong toàn bộ các nhóm, các kháng nguyên còn chứa nhôm hydroxit, cũng được gọi là phèn. Các chuột nhắt được gây miễn dịch qua đường tiêm dưới da, vào ngày 0, 15 và 30 của quá trình thử nghiệm. Các mẫu máu được lấy vào ngày 0 (huyết thanh tiền miễn dịch), 7, 16, 21, 28 và 35, để xác định nồng độ của IgG tổng số.

Kết quả thử nghiệm được thể hiện trên Fig.4 cho thấy, vào ngày 28 của quá trình thử nghiệm, nhóm 2, được tiêm bằng protein C2 và peptit GHRP-6, có nồng độ IgG kháng protein C2 được gia tăng đáng kể, so với nhóm 1, được tiêm bằng protein C2 và chất bổ trợ nhôm hydroxit, trong sự vắng mặt của peptit GHRP-6.

Ví dụ 4. Tác dụng của việc sử dụng đồng thời peptit GHRP-6 đến đáp ứng miễn dịch dịch thể chống lại peptit P0 có nguồn gốc từ *R. sanguineus*.

Peptit P0 là mảnh peptit tương đương với vùng có độ tương đồng trình tự thấp giữa protein ribosom P0 có nguồn gốc từ ve *R. sanguineus* và vật chủ động vật có vú của

nó. Để đánh giá đáp ứng miễn dịch dịch thể stimulated by việc sử dụng đồng thời peptit GHRP-6 và P0, các chuột nhắt cái BALB/c (24, 6 tuần tuổi) được sử dụng, và chia thành ba nhóm, mỗi nhóm bao gồm 8 chuột nhắt. Mỗi chuột nhắt được tiêm kháng nguyên (150 μ L), qua đường tiêm màng bụng, vào ngày 1, 15 và 29 của quá trình thử nghiệm. Chất bổ trợ Freund đầy đủ (CFA) được sử dụng trong quá trình gây miễn dịch lần đầu và chất bổ trợ Freund không đầy đủ (IFA) được sử dụng trong hai quá trình gây miễn dịch tiếp theo.

Nhóm 1. Đối chứng (PBS)

Nhóm 2. 100 μ g P0.

Nhóm 3. 100 μ g P0 được sử dụng đồng thời với 200 μ g peptit GHRP-6.

Các mẫu máu được lấy vào ngày 0 (huyết thanh tiền miễn dịch), 8, 16, 21, 28, 36, 43, 50 và 58, để xác định nồng độ của IgG tổng số. Ở các chuột nhắt được gây miễn dịch bằng peptit P0, trong sự có mặt của peptit GHRP-6, nồng độ IgG được gia tăng đáng kể, so với các chuột không được tiêm bằng peptit GHRP-6, như được thể hiện trên Fig.5, là biểu đồ thể hiện nồng độ kháng thể kháng P0 vào ngày 36 của quá trình thử nghiệm.

Ví dụ 5. Tác dụng của việc sử dụng đồng thời peptit GHRP-6 hoặc peptit A233 đến đáp ứng miễn dịch dịch thể chống lại protein thể khảm P0-my32 ở cá điêu hồng (*Oreochromis sp.*)

Protein thể khảm P0-my32 được điều chế bằng cách tách dòng axit deoxyribonucleic bổ sung (ADN bổ sung) mã hóa pepit chứa 35 axit amin của protein ribosom P0 có nguồn gốc từ *L. salmonis* được dung hợp với đầu tận cùng N của ADN bổ sung mã hóa protein my32 cũng có nguồn gốc từ *L. salmonis* (Carpio *et al.*, 2013; *Exp. Parasitol* 135: 188-199), trong vector được thiết kế để biểu hiện cảm ứng các gen quan tâm ở vi khuẩn vật chủ *E. coli*. Protein này được sản sinh trong vật chủ vi khuẩn *E. coli* và tinh chế, dưới dạng protein dung hợp chứa đầu tận cùng histidin, bằng phương pháp sắc ký ái lực phức chelat kim loại.

Để thực hiện thử nghiệm gây miễn dịch, các cá điêu hồng đực mới sinh *Oreochromis niloticus* được sử dụng, và chia thành 6 nhóm, mỗi nhóm bao gồm 15 cá điêu hồng đực mới sinh. Trong toàn bộ các nhóm, kháng nguyên được sử dụng qua

đường tiêm màng bụng, và bổ trợ bằng montaide ISA 50. Các nhóm thử nghiệm được tiêm các kháng nguyên sau:

Nhóm 1: PBS

Nhóm 2: P0-my32 (1 μ g/g thể trọng cá)

Nhóm 3: P0-my32 (1 μ g/g thể trọng cá) được sử dụng đồng thời với 20 μ g peptit GHRP-6

Nhóm 4: P0-my32 (1 μ g/g thể trọng cá) được sử dụng đồng thời với 20 μ g A233

Nhóm 5: P0-my32 (1 μ g/g thể trọng cá). Các cá điều hồng ở nhóm này được cho ăn bằng thức ăn chăn nuôi chứa 100 μ g peptit GHRP-6/kg thức ăn chăn nuôi, hai lần mỗi ngày, trong 1 tuần trước và 1 tuần sau khi tiêm my32.

Trong quá trình thử nghiệm, các cá điều hồng ở các nhóm 1 đến 4 được cho ăn hai lần mỗi ngày bằng thức ăn chăn nuôi cân bằng không được điều chỉnh có bán trên thị trường, ở tỷ lệ bằng 1% thể trọng của chúng. Các cá điều hồng được gây miễn dịch vào ngày 0 và 14 của quá trình thử nghiệm. Các mẫu máu được lấy vào ngày 0, 21, 28 và 35 từ khi bắt đầu thử nghiệm.

Ở các cá điều hồng được tiêm bằng protein thể khảm P0-my32 trong sự có mặt của peptit GHRP-6 nồng độ kháng thể IgM kháng my32 được gia tăng đáng kể, so với nhóm được tiêm bằng protein thể khảm P0-my32. Mức độ gia tăng này có ý nghĩa thống kê, như được thể hiện trên Fig.6A, là biểu đồ thể hiện nồng độ của kháng thể trong huyết thanh được lấy vào ngày 28. Tác dụng tương tự được quan sát đối với nồng độ IgM kháng P0 (Fig.6B). Việc sử dụng đồng thời peptit A233 với kháng nguyên thể khảm này cũng làm tăng nồng độ IgM chống lại my32 và P0, so với nhóm đối chứng (Fig.6C và Fig.6D). Nhóm được tiêm bằng protein thể khảm P0-my32 cho ăn đồng thời bằng thức ăn chăn nuôi chứa peptit GHRP-6 cũng làm tăng nồng độ IgM, so với nhóm được tiêm bằng protein thể khảm, là nhóm được cho ăn bằng thức ăn chăn nuôi cân bằng không được điều chỉnh có bán trên thị trường (Bảng 2).

Bảng 2. Tác dụng của việc sử dụng đồng thời peptit GHRP-6 trong thức ăn chăn nuôi đến nồng độ kháng thể IgM kháng my32 và P0

Nồng độ IgM	Nhóm 2	Nhóm 5
Kháng my32	601,0 ± 484,8	5760 ± 1866 *
Kháng P0	200,0 ± 150,0	6600 ± 2229 *

* thể hiện mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm $p < 0,05$.

Ngoài ra, ở nhóm được tiêm qua đường tiêm màng bụng bằng kháng nguyên chứa peptit GHRP-6 (nhóm 3), số lượng cá điều hồng đáp ứng miễn dịch, có nồng độ IgM lớn hơn 1:1000, cao hơn đối với cả hai thành phần của protein thể khảm, so với nhóm được tiêm bằng protein thể khảm P0-my32 và không được tiêm peptit GHRP-6 (nhóm 2), như được thể hiện trên Fig. 7A và Fig. 7B.

Ví dụ 6. Tác dụng của việc sử dụng đồng thời peptit GHRP-6 hoặc peptit A233 và protein P0-TT đến đáp ứng miễn dịch dịch thể ở các cá trê phi (*Clarias gariepinus*).

Protein thể khảm P0-TT chứa: a) peptit pP0, chứa 35 axit amin, tương đương với vùng ít bảo thủ giữa protein ribosom P0 có nguồn gốc từ *L. salmonis* và protein tương tự ở một trong số các vật chủ của nó, *Salmo salar* và b) hai epitop tế bào T, có nguồn gốc tương ứng từ virus sởi và độc tố uốn ván. Để thực hiện thử nghiệm, các cá trê phi thử nghiệm *C. gariepinus* được chia thành 4 nhóm, mỗi nhóm bao gồm 12 cá trê phi thử nghiệm. Các cá trê phi này được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng bằng protein P0-TT ở liều bằng 1 µg/g thể trọng cá trê phi (nhóm 2) hoặc bằng protein P0-TT ở liều bằng 1 µg/g thể trọng cá trê phi kết hợp với peptit GHRP-6 ở liều bằng 20 µg/cá trê phi hoặc peptit A233 ở liều bằng 20 µg/cá trê phi (nhóm 3 và nhóm 4 tương ứng), trong tổng thể tích bằng 120 µL. Nhóm đối chứng (nhóm 1) được tiêm PBS ở thể tích tương đương. Các kháng nguyên tương ứng với toàn bộ các nhóm được nhũ hóa với chất bổ trợ dầu montanide ISA 50. Các cá trê phi được gây miễn dịch trong cùng điều kiện, vào ngày 0 và 14 của quá trình thử nghiệm. Các mẫu máu được lấy vào ngày 0, 21, 28 và 35 được tính từ khi bắt đầu thử nghiệm.

Ở các cá trê phi được gây miễn dịch bằng polypeptit dung hợp P0-TT và peptit GHRP-6 nồng độ kháng thể IgM kháng P0, khi so với nhóm được tiêm bằng polypeptit dung hợp P0-TT trong sự vắng mặt của peptit GHRP-6, kết quả này có ý nghĩa thống kê

vào ngày 28 (Fig.8A). Nồng độ kháng thể cũng được gia tăng đáng kể sau khi sử dụng polypeptit dung hợp P0-TT và peptit A233 (Fig.8B).

Ví dụ 7. Kiểm chứng tác dụng hỗ trợ của peptit GHRP-6 đến đáp ứng miễn dịch dịch thể của cá chép (*Cyprinus carpio*) chống lại vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*.

Thử nghiệm này được thực hiện với các cá chép (*Cyprinus carpio*) có trọng lượng bằng 40 ± 10 g. Các cá chép thử nghiệm được nuôi trong bể có dung tích bằng 600L, ở nhiệt độ bằng $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Ba nhóm thử nghiệm, mỗi nhóm bao gồm 10 cá chép được sử dụng và được tiêm màng bụng với các kháng nguyên sau:

Nhóm 1: PBS + Montanide ISA 50.

Nhóm 2: Tế bào *Aeromonas hydrophila* bất hoạt (1×10^8 Đơn vị tạo khuẩn lạc, được viết tắt là CFU) + Montanide ISA 50.

Nhóm 3: Tế bào *Aeromonas hydrophila* bất hoạt (1×10^8 CFU) + 20 μ g peptit GHRP-6/cá chép+ Montanide ISA 50.

Các cá chép thử nghiệm được tiêm vào ngày 0 và 14, và các mẫu máu được lấy từ tĩnh mạch đuôi vào ngày 0 và 21. Các kết quả thử nghiệm cho thấy nồng độ của các kháng thể ngưng kết chống lại *Aeromonas hydrophila* cao hơn đáng kể ở nhóm được gây miễn dịch bằng vi khuẩn này và peptit GHRP-6, so với nhóm được gây miễn dịch bằng vi khuẩn này trong sự vắng mặt của peptit GHRP-6 peptit (Fig.9). Các kết quả này kiểm chứng tác dụng của peptit GHRP-6 làm chất hỗ trợ ở cá. Tế bào *Aeromonas hydrophila* được điều chế và nồng độ kháng thể được đo theo phương pháp được mô tả trong tài liệu Yin *et al.* ((1996) *Fish & Shellfish Immunol.* 6, 57-69.

Ví dụ 8. Thử nghiệm thử thách miễn dịch có đối chứng ở cá được gây miễn dịch bằng vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* bất hoạt và vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* bất hoạt được sử dụng đồng thời với peptit GHRP-6 peptit.

Thử nghiệm này được thực hiện với các cá chép (*Cyprinus carpio*) có trọng lượng bằng 30 ± 5 g. Các cá chép thử nghiệm được nuôi trong bể có dung tích bằng 250L, ở nhiệt độ bằng $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Ba nhóm thử nghiệm, mỗi nhóm bao gồm 20 cá chép được sử dụng và được tiêm màng bụng với các kháng nguyên sau:

Nhóm 1: PBS + Montanide ISA 50

Nhóm 2: Tế bào *Aeromonas hydrophila* bất hoạt (1×10^8 CFU) + Montanide ISA 50

Nhóm 3: Tế bào *Aeromonas hydrophila* bất hoạt (1×10^8 CFU) + 20 μ g peptit GHRP-6/cá + Montanide ISA 50.

Các cá chép thử nghiệm được tiêm vào ngày 0 và 14. Thử nghiệm thử thách miễn dịch được thực hiện vào ngày 21, bằng cách tiêm màng bụng liều gây chết 50% (LD₅₀) của vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*, và tỷ lệ cá chép chết ở mỗi nhóm được ghi lại trong 7 ngày. Tỷ lệ sống sót tương đối (RSR) được tính toán như sau:

Tỷ lệ RSR (%) = $(\% \text{ tỷ lệ cá chép chết ở các nhóm đối chứng} - \% \text{ tỷ lệ cá chép chết ở các nhóm được gây miễn dịch}) / (\% \text{ tỷ lệ cá chép chết ở các nhóm đối chứng}) \times 100$.

Kết quả thử nghiệm cho thấy tỷ lệ RSR ở nhóm 2 bằng 65%, và tỷ lệ RSR ở nhóm 3 bằng 95%, và kết quả này cũng kiểm chứng được rằng việc sử dụng peptit GHRP-6 làm tăng tỷ lệ sống sót ở cá chép được gây miễn dịch và thử thách miễn dịch bằng tác nhân gây bệnh là vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*.

Ví dụ 9: Kiểm chứng tác dụng hỗ trợ của peptit GHRP-6 đến đáp ứng miễn dịch dịch thể của các gà giò thử nghiệm chống lại albumin huyết thanh bò.

Các gà giò mới sinh (15, giống lai EB34 Cronish x White Plymoth Rock), được sử dụng, và chia thành ba nhóm thử nghiệm, mỗi nhóm bao gồm 5 gà giò. Các gà giò thử nghiệm được gây miễn dịch qua đường tiêm màng bụng, vào ngày 12 và 18 của quá trình thử nghiệm, bằng albumin huyết thanh bò (BSA) ở liều bằng 5 μ g/gà giò (nhóm 2), hoặc bằng albumin huyết thanh bò (BSA) ở liều bằng 5 μ g/gà giò và peptit GHRP-6 ở liều bằng 20 μ g/gà giò (nhóm 3). Nhóm đối chứng (nhóm 1) được gây miễn dịch bằng PBS. Nồng độ của kháng thể IgY trong huyết thanh được xác định, vào ngày 25 của thử nghiệm. Nồng độ kháng thể ở các gà giò ở nhóm được gây miễn dịch bằng albumin huyết thanh bò (BSA) và ở các nhóm được gây miễn dịch bằng albumin huyết thanh bò (BSA) và peptit GHRP-6 có mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê (Bảng 3).

Bảng 3. Đáp ứng kháng thể IgY đặc hiệu kháng nguyên trong huyết thanh của các gà giò thử nghiệm được gây miễn dịch với BSA.

Nhóm	Kháng nguyên	IgY
1	PBS	$0,10 \pm 0,08$
2	BSA	$0,47 \pm 0,06$
3	BSA+GHRP-6	$0,65 \pm 0,07$

Dữ liệu thử nghiệm thể hiện trị số trung bình và độ lệch chuẩn của trị số độ hấp thụ cực đại được xác định bằng phương pháp ELISA gián tiếp.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm vacxin chứa peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2, ít nhất một kháng nguyên vacxin, và chất dẫn hoặc chất pha loãng được dụng, trong đó peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng này là ở lượng đủ để kích thích đáp ứng miễn dịch của vật chủ với kháng nguyên vacxin.
2. Chế phẩm vacxin theo điểm 1, trong đó ít nhất một kháng nguyên vacxin được chọn từ nhóm bao gồm peptit, protein, virus và vi khuẩn giảm độc lực.
3. Chế phẩm vacxin theo điểm 1, trong đó peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng có trình tự như nêu trong SEQ ID NO.1 hoặc SEQ ID NO.2 được sử dụng ở liều nằm trong khoảng từ 50µg/kg đến 600µg/kg thức ăn chăn nuôi khi chế phẩm vacxin này được sử dụng qua đường miệng cho động vật thủy sinh.

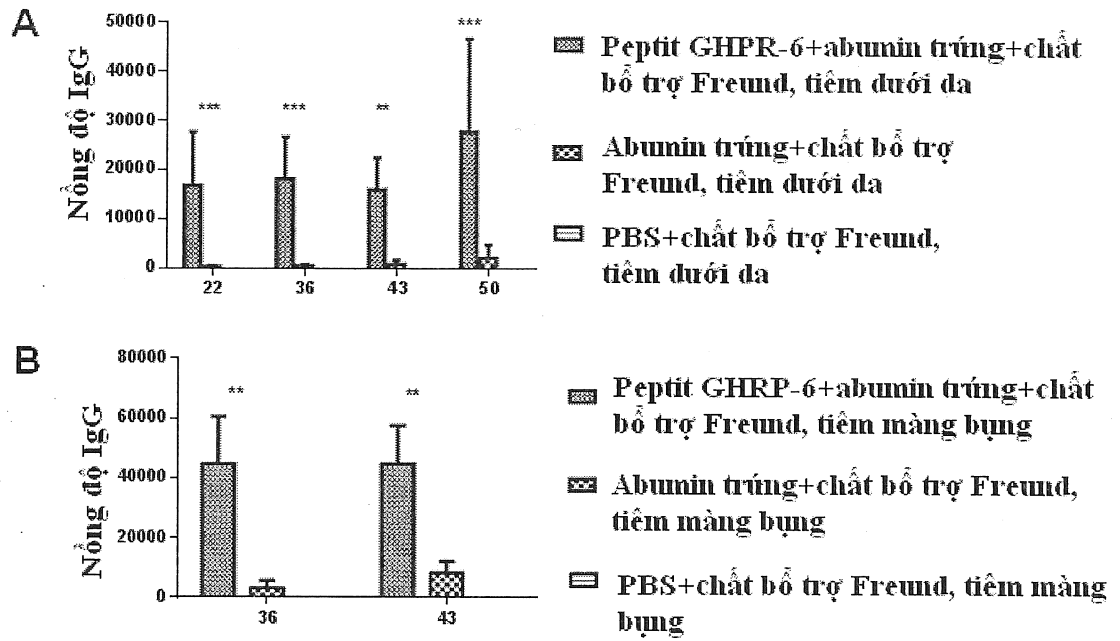


Fig.1

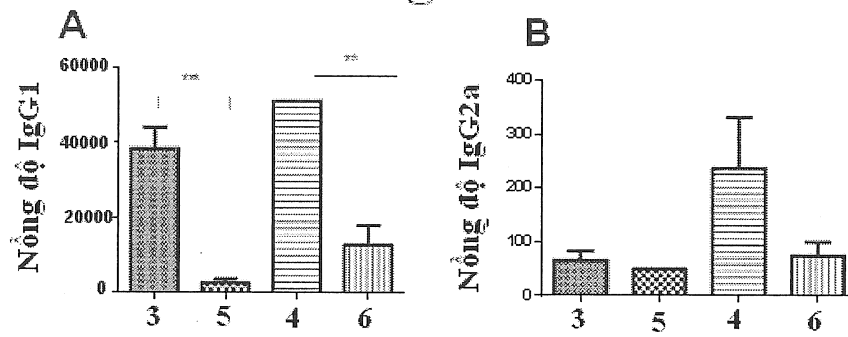
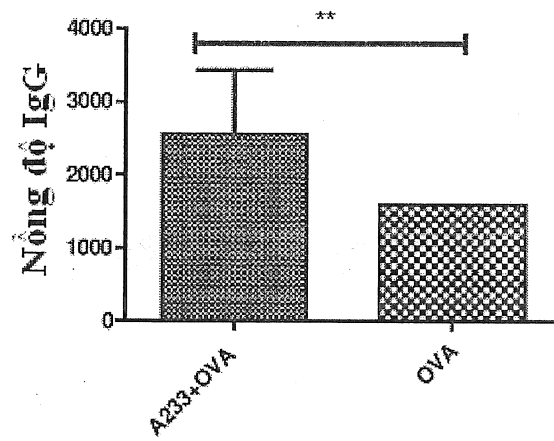
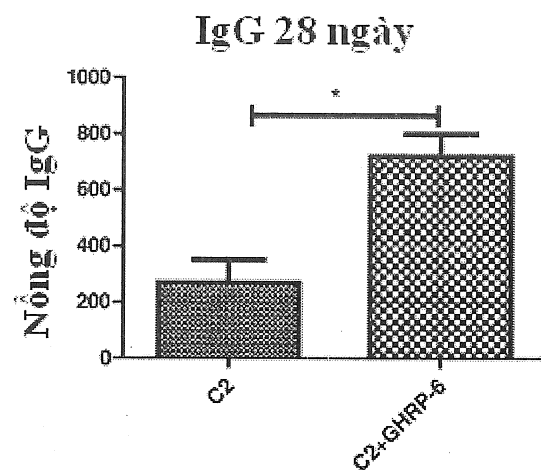
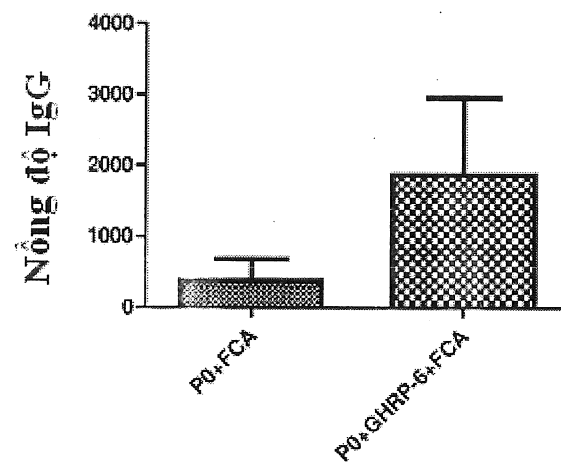


Fig.2

**Fig.3****Fig.4****Fig.5**

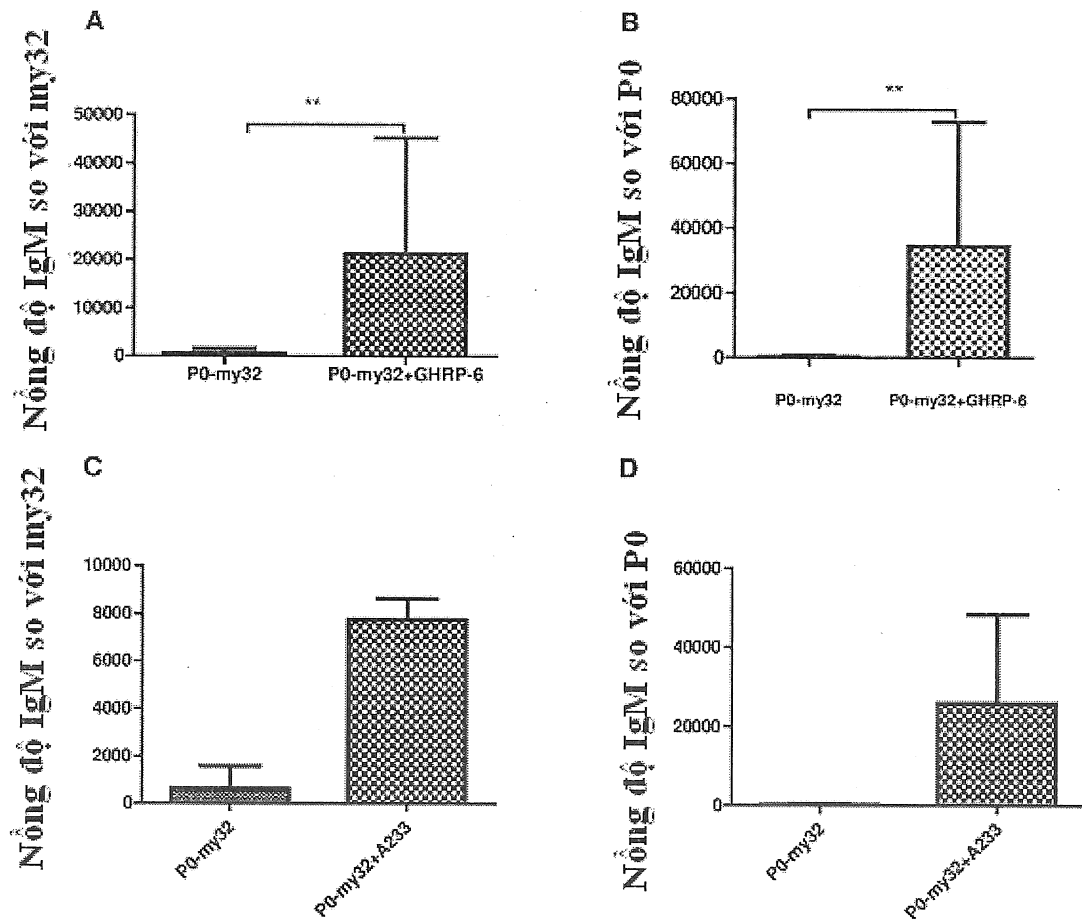


Fig.6

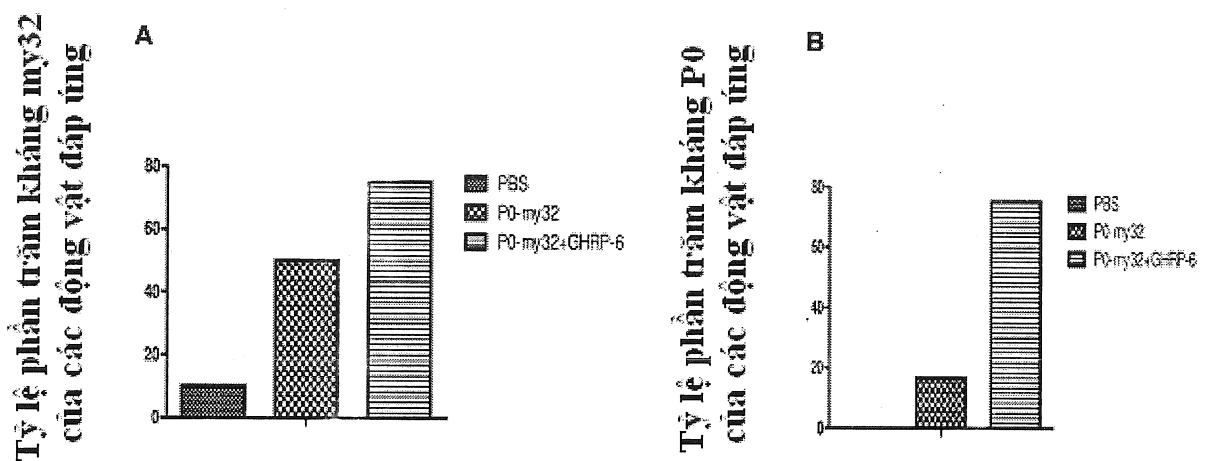


Fig.7

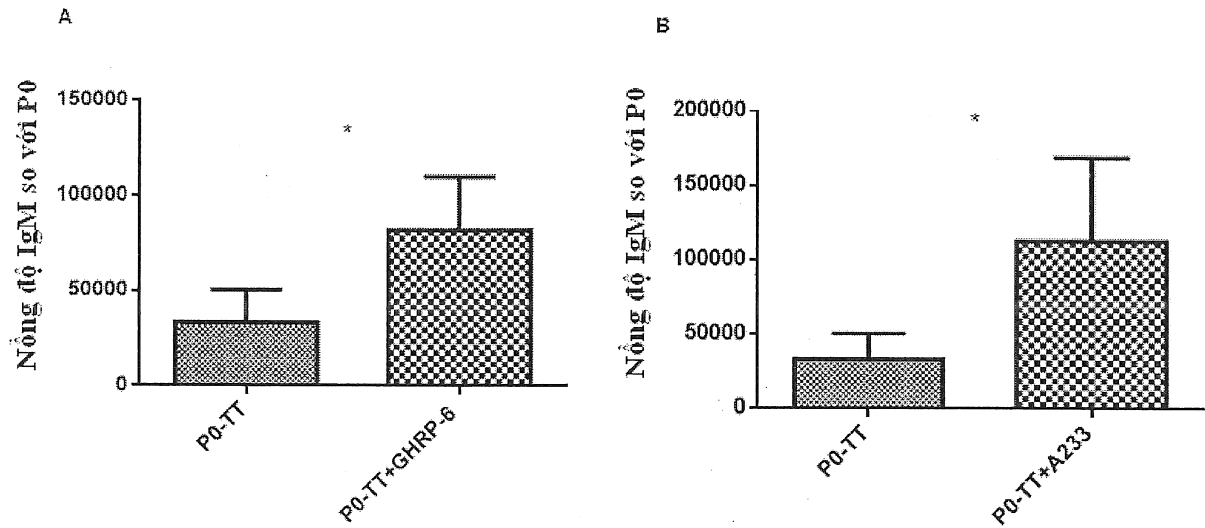


Fig.8

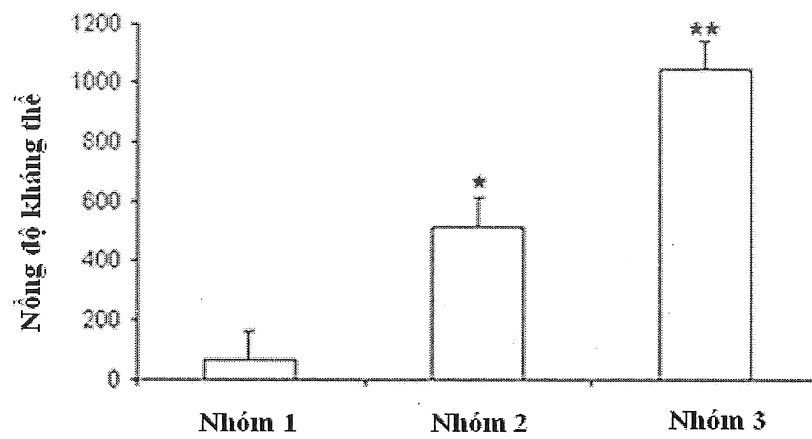


Fig.9

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> CENTRO DE INGENIERIA GENETICA Y BIOTECNOLOGIA
 <120> CHẾ PHẨM VACCIN CHỨA PEPTIT KÍCH THÍCH BÀI TIẾT HORMON TĂNG TRƯỞNG
 <130> Peptit kích thích bài tiết hormon tăng trưởng được sử dụng làm chất bổ trợ vaccin
 <140>
 <141>
 <150> CU 2016-0161
 <151> 2016-11-01
 <160> 2
 <170> PatentIn Ver. 2.1
 <210> 1
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo:GHRP-6,Trp(2) và Phe(5) là các axit amin D
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)
 <223> Amit hóa
 <400> 1
 His Trp Ala Trp Phe Lys
 1 5
 <210> 2
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: peptit A233, chứa liên kết lactam giữa Lys và Asp
 <400> 2
 Gly Lys Phe Asp Leu Ser Pro Glu His Gln
 1 5 10