



(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)



1-0048118

(51)^{2020.01} A61K 39/145; A61K 39/42; C12N 7/00; (13) B
C07K 14/005; C07K 16/10; A61K 39/00;
A61P 31/16

(21) 1-2020-04833

(22) 22/01/2019

(86) PCT/EP2019/051532 22/01/2019

(87) WO 2019/145310 01/08/2019

(30) 18152991.8 23/01/2018 EP

(45) 25/07/2025 448

(43) 26/10/2020 391A

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

Archimedesweg 4, 2333 CN Leiden, the Netherlands

(72) Milder, Ferdinand, Jacobus (NL); RITSCHER, Tina (DE); BRANDENBURG, Boerries (DE); JONGENEEL, Mandy, Antonia, Catharina (NL); TRUAN, Daphné (CH); LANGEDIJK, Johannes, Petrus, Maria (NL).

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

(54) POLYPEPTIT THÂN HEMAGGLUTININ (HA) CÚM A VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY

(21) 1-2020-04833

(57) Sáng chế đề cập đến polypeptit thân hemagglutinin cúm, axit nucleic mã hóa cho polypeptit này, vectơ có chứa axit nucleic này và dược phẩm có chứa chúng, cũng như là phương pháp sử dụng chúng, cụ thể là để ngăn ngừa và/hoặc điều trị sự lây nhiễm virus cúm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực y học. Sáng chế đề xuất polypeptit miền thân hemagglutinin (HA) cúm A, axit nucleic mã hóa cho polypeptit này, dược phẩm có chứa chúng, và phương pháp sử dụng chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus cúm là các tác nhân gây bệnh chính ở người, gây ra bệnh hô hấp (thường gọi là "cúm" hoặc "bệnh cúm") mà có mức độ nghiêm trọng thay đổi từ sự lây nhiễm cận lâm sàng đến viêm phổi sơ cấp do virus mà có thể dẫn đến tử vong. Tác động lâm sàng của sự nhiễm cúm khác nhau tùy theo độc lực của chủng virus cúm và tình trạng phơi nhiễm, tiền sử, độ tuổi và miễn dịch của vật chủ. Mỗi năm, trên thế giới ước tính có khoảng 1 tỷ người nhiễm virus cúm, gây ra 3-5 triệu ca bệnh nghiêm trọng và ước tính có từ 300.000 đến 500.000 ca tử vong liên quan đến bệnh cúm. Khởi của sự nhiễm bệnh này có thể được quy cho virus cúm A mang các kiểu phụ hemagglutinin H1 hoặc H3, với sự đóng góp nhỏ hơn từ virus Cúm B, và do đó các đại diện của chúng thường được bao gồm trong vắc xin mùa. Công tác gây miễn dịch hiện nay dựa trên sự nhận dạng sớm các virus cúm đang lưu hành để cho phép sản xuất kịp thời vắc xin cúm mùa hiệu quả. Ngoài những khó khăn cố hữu trong việc dự đoán các chủng sẽ là chủng trội trong suốt mùa tới, tính kháng virus và sự lẩn tránh miễn dịch cũng có vai trò trong sự thất bại của các vắc xin hiện nay để ngăn ngừa tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong. Ngoài ra, khả năng xảy ra dịch bệnh gây ra bởi chủng virus độc lực cao bắt nguồn từ ổ chứa bệnh động vật và được tái sắp xếp để làm tăng sự lây lan từ người sang người, vẫn gây ra sự đe dọa đáng kể và thực sự cho y tế toàn cầu.

Virus cúm là virus ARN có vỏ bọc thuộc họ Orthomyxoviridae. Bộ gen của chúng chứa tám đoạn ARN sợi đơn mã hóa cho 11 protein khác nhau, một nucleoprotein (NP), ba protein polymeraza (PA, PB1, và PB2), hai protein nền (M1 và M2), ba protein phi cấu trúc (NS1, NS2, và PB1-F2), và hai glycoprotein vỏ ngoài: hemagglutinin (HA) và neuraminidaza (NA).

Virut cúm A được phân bố rộng rãi trong tự nhiên và có thể gây nhiễm cho nhiều loài chim và động vật có vú. Các virut cúm được phân loại dựa trên sự khác nhau về cấu trúc kháng nguyên của các protein HA và NA, với các tổ hợp khác nhau của chúng đại diện các kiểu phụ virut cúm độc nhất và được tiếp tục phân loại thành các chủng virut cúm cụ thể. Mặc dù tất cả các kiểu phụ đã biết có thể được tìm thấy ở chim, các kiểu phụ của virut cúm A hiện đang lưu hành ở người là H1N1 và H3N2. Phân tích phát sinh loài của virut cúm A đã chứng minh sự chia nhỏ của hemagglutinin thành hai nhóm chính, gọi là các nhóm phát sinh loài: không kể những cái khác các kiểu phụ H1, H2, H5 và H9 trong nhóm phát sinh loài 1 (virut nhóm 1) và không kể những cái khác các kiểu phụ H3, H4 và H7 trong nhóm phát sinh loài 2 (virut nhóm 2).

Chủng virut cúm typ B gây bệnh cúm lành tính ở người. Sự biến đổi kháng nguyên trong HA trong chủng virut cúm typ B nhỏ hơn sự biến đổi quan sát được trong chủng virut cúm A. Hai dòng khác biệt về mặt di truyền và về mặt kháng nguyên của virut cúm B lưu hành ở người, được đại diện bởi các dòng B/Yamagata/16/88 (còn được đề cập đến dưới dạng B/Yamagata) và B/Victoria/2/87 (B/Victoria). Mặc dù phổ gây bệnh do virut cúm B thường nhẹ hơn bệnh do virut cúm A gây ra, nhưng vẫn thường quan sát được ca bệnh trầm trọng cần phải nằm viện do nhiễm virut cúm B.

Biết rằng các kháng thể trung hòa virut cúm chủ yếu là nhằm kháng lại hemagglutinin (HA). Hemagglutinin hoặc HA là glycoprotein dạng trimer mà được neo giữ trong màng virut và có chức năng kép: nó chịu trách nhiệm liên kết với axit sialic thụ thể màng tế bào và, sau khi hấp thụ, nó làm trung gian cho sự dung hợp của màng virut và hạt cơ quan nội bào dẫn đến sự giải phóng của ARN virut vào bào tương của tế bào đích. HA gồm miền đầu lớn và miền thân nhỏ hơn. Miền thân được neo giữ vào màng virut thông qua trình tự miền xuyên màng đầu C. Protein được phân cắt sau dịch mã để thu được hai polypeptit HA, HA1 và HA2 (trình tự đầy đủ được đề cập đến dưới dạng HA0) (Hình 1A). Vùng đầu xa màng chủ yếu có nguồn gốc từ HA1 và vùng thân gần màng chủ yếu từ HA2. Sự phân cắt của phân tử tiền thân HA HA0 cần thiết để hoạt hóa khả năng lây nhiễm virut, và sự phân bố của proteaza hoạt hóa trong vật chủ là một trong các yếu tố quyết định của khả năng gây bệnh của virut cúm. HA của virut động vật có vú và virut chim không gây bệnh được phân cắt ngoại bào, mà hạn chế sự lây lan của chúng ở vật chủ đến mô nơi mà proteaza thích hợp được bắt gặp. Mặt khác, HA của

virut gây bệnh được phân cắt nội bào bằng proteaza có mặt ở khắp nơi và do đó có khả năng lây nhiễm các loại tế bào khác nhau và gây ra sự lây nhiễm toàn thân.

Lý do mà vắc xin cúm mùa phải được thay đổi hàng năm là do sự biến đổi lớn của virut. Trong protein HA sự biến đổi này được biểu lộ cụ thể trong miền đầu trong đó sự dịch chuyển và trôi dạt kháng nguyên dẫn đến số lượng lớn của các biến thể khác nhau. Vì đây cũng là vùng trội miễn dịch, hầu hết kháng thể trung hòa được định hướng kháng lại vùng này và hoạt động bằng cách gây cản trở sự liên kết với thụ thể. Dạng kết hợp của tính trội miễn dịch và sự thay đổi lớn của miền đầu giải thích tại sao sự lây nhiễm bởi chủng cụ thể không dẫn đến sự miễn dịch đối với các chủng khác: các kháng thể được tạo ra bởi lần lây nhiễm thứ nhất chỉ nhận diện số lượng chủng giới hạn có quan hệ gần gũi với virut của sự lây nhiễm sơ cấp.

Gần đây, polypeptit thân hemagglutinin cúm, thiếu miền đầu hình cầu hemagglutinin cúm hoàn chỉnh hoặc phần đáng kể của nó, đã được mô tả và đã được sử dụng để tạo ra đáp ứng miễn dịch đối với một hoặc nhiều epitop bảo toàn của polypeptit miền thân. Người ta tin rằng epitop của polypeptit thân ít gây miễn dịch hơn các vùng gây miễn dịch ở mức độ cao của miền đầu hình cầu, và sự không có mặt của miền đầu hình cầu trong polypeptit thân có thể cho phép đáp ứng miễn dịch chống lại một hoặc nhiều epitop của polypeptit thân phát triển (Steel et al., 2010). Do đó Steel và cộng sự đã tạo ra polypeptit thân HA cúm bằng cách làm khuyết gốc axit amin từ 53 đến 276 từ miền HA1 của các chủng A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1) và A/Hong Kong/1968 (H3N2) và thay thế trình tự đã được làm khuyết bằng trình tự nối linh hoạt ngắn GGGG. Chủng ngừa cho chuột bằng cấu trúc HK68 của H3 không tạo ra kháng huyết thanh mà phản ứng chéo với các HA nhóm 1. Ngoài ra, như thể hiện trong WO2013/079473, polypeptit thân không ổn định và không tuân theo cấu hình đúng như đã xác minh bởi sự thiếu liên kết của kháng thể mà đã được chứng tỏ là liên kết với epitop bảo toàn trong vùng thân.

Bommakanti và cộng sự (2010) đã mô tả polypeptit thân HA2 có chứa các gốc axit amin 330-501 (HA2), cầu nối có 7 axit amin (GSAGSAG), các gốc axit amin 16-55 của HA1, cầu nối có 6 axit amin GSAGSA, sau đó là các gốc 290-321 của HA1, với các đột biến V297T, I300E, Y302T và C305T ở HA1. Thiết kế này dựa trên trình tự HA của H3 (A/Hong Kong/1968). Polypeptit chỉ tạo ra sự bảo vệ chéo kháng lại một chủng virut cúm khác trong kiểu phụ H3 (A/Phil/2/82 nhưng không kháng lại kiểu phụ H1

(A/PR/8/34). Trong bài báo gần đây hơn của Bommakanti và cộng sự (2012), polypeptit thân dựa trên HA từ H1N1 A/Puerto Rico/8/1934 (H1HA0HA6) được mô tả. Trong polypeptit này, dạng tương đương của các gốc axit amin từ 48 đến 288 đã được làm khuyết và các đột biến I297T, V300T, I302N, C305S, F392D, F395T, và L402D đã được tạo ra. Cả hai polypeptit thân H3 và H1 được biểu hiện ở *E. coli* và do đó thiếu glycan mà là một phần của protein HA có trong tự nhiên.

Gần đây hơn, Lu và cộng sự (2014) cũng đã mô tả các polypeptit thân hòa tan có nguồn gốc từ HA của H1N1 A/California/05/2009. Trong thiết kế cuối cùng, các gốc axit amin từ 52 đến 277 được làm khuyết (trình tự dẫn đầu cũng không có mặt) và hai đột biến được đưa vào trong vòng B của protein, tức là F392D, và L402D. Thêm nữa, polypeptit chứa miền trime hóa ở đầu C (foldon). Ngoài ra, hai cầu disulfua liên monome được đưa vào, một ở khu vực của miền foldon trime, và một ở vị trí 416 và 417 (tức là G416C và F417C trong đánh số H3). Polypeptit được sản xuất trong hệ thống không chứa tế bào dựa trên *E. coli*, (và do đó thiếu glycan mà là một phần của protein HA có trong tự nhiên) và được thu hồi ở dạng biến tính, mà cần phải tái cuộn gập trước khi sử dụng. Protein đã được tái cuộn gập không thể liên kết kháng thể trung hòa rộng (bnAb) CR6261 mà liên kết với epitop gốc có cấu hình được bảo toàn. Không có dữ liệu miễn dịch học hoặc bảo vệ nào từ thử thách cúm được thể hiện.

Trong bài báo khác Mallajosyula và cộng sự (2014) cũng đã mô tả polypeptit thân HA cúm. Trong thiết kế này, dựa trên HA từ H1N1 A/Puerto Rico/8/1934, không chỉ phần lớn của trình tự HA1 được làm khuyết (gốc từ 48 đến 289, đánh số H3), mà còn phần lớn của các trình tự đầu N và đầu C của HA2 (lần lượt các gốc từ 323 đến 369 và từ 443 đến cuối). Polypeptit chứa miền trime hóa foldon ở đầu C và cũng được sản xuất ở *E. coli*, do đó thiếu glycan có trong tự nhiên trên HA virut. Polypeptit được chứng minh là liên kết các bnAb CR6261, F10 và FI6v3, và bảo vệ chuột nhắt khỏi thử thách virut cúm gây chết (1LD90 của H1N1 A/Puerto Rico/8/1934). Các polypeptit tương đương có nguồn gốc từ HA của H1N1 A/New Caledonia/20/1999 và H1N1 A/California/04/2009 cũng có thể bảo vệ một phần. Polypeptit có nguồn gốc từ H5N1 A/Viet Nam/1203/2004 chỉ mang lại sự bảo vệ hạn chế ở mẫu thử thách này. Ngoài ra, mẫu thử thách được sử dụng là nhẹ với liều lượng tương đối thấp được sử dụng (1-2 LD90).

Cuối cùng, Yassine và cộng sự (2015) cũng đã mô tả sự phát triển của polypeptit thân HA đã được làm ổn định có nguồn gốc từ HA của H1N1 A/New Caledonia/20/1999. Trong thiết kế này, phần lớn của trình tự HA1 (gốc từ 43 đến 313, đánh số H3) và trình tự HA2 (gốc từ 504 đến cuối) đã được làm khuyết. Ngoài ra, thiết kế này chứa hai đột biến làm ổn định (K380M và E432L) trong HA2 và được dung hợp di truyền vào tiểu đơn vị ferritin của *H. pylori* để tạo ra hạt nano tự lắp ráp thể hiện polypeptit thân HA đã được làm ổn định. Polypeptit thân HA đã được làm ổn định có vẻ không hòa tan hoặc có chức năng không được dung hợp vào tiểu đơn vị ferritin. Polypeptit thân Ha-ferritin đã lắp vào vào hạt nano được thử nghiệm trong mô hình thử thách virus cúm H5N1 2004 VN kiểu phụ khác loại (25 x LD₅₀ và 1.000 x TCID₅₀ lần lượt ở chuột nhắt và chồn sương) và có thể bảo vệ chuột nhắt khỏi bị chết trong khi đó sự bảo vệ chỉ một phần được quan sát thấy ở chồn sương. Không rõ là bao nhiêu đáp ứng ferritin được gây cảm ứng ở người và nhiều lần dùng sẽ có tác dụng như thế nào.

Do đó vẫn có nhu cầu về vắc xin “vạn năng” an toàn và hữu hiệu mà kích thích sự sản xuất của đáp ứng kháng thể trung hòa rộng, mạnh mẽ và mang lại sự bảo vệ chống lại tổ hợp rộng của các chủng virus cúm hiện nay và trong tương lai (cả theo mùa và gây dịch), cụ thể là vắc xin mà tạo ra sự bảo vệ chống lại một hoặc nhiều kiểu phụ virus cúm A ở trong nhóm phát sinh loài 1 và/hoặc nhóm phát sinh loài 2, để ngăn ngừa và/hoặc điều trị hiệu quả bệnh cúm.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất polypeptit mới có nguồn gốc từ hemagglutinin (HA) cúm, polypeptit này có chứa miền thân HA cúm và thiếu vùng đầu có hình cầu, trong bản mô tả này được đề cập đến dưới dạng polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm. Polypeptit này gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại HA khi được dùng cho đối tượng, cụ thể là đối tượng là người. Polypeptit theo sáng chế trình diện epitop bảo toàn của gốc gần màng của phân tử HA cho hệ miễn dịch khi không có mặt epitop trội mà có mặt trong miền đầu xa màng. Do đó, một phần của trình tự bậc một của protein HA0, tức là phần tạo nên miền đầu đã được làm khuyết, và trình tự axit amin còn lại được nối lại, trực tiếp hoặc, theo một số phương án, bằng cách đưa vào trình tự nối linh hoạt ngắn ('cầu nối') để khôi phục tính liên tục của chuỗi axit amin. Trình tự axit amin thu được được cải biến

thêm bằng cách đưa vào các cải biến cụ thể mà làm ổn định cấu trúc 3 chiều tự nhiên của phần còn lại của phân tử HA.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm A nhóm 1 có chứa miền HA1 và miền HA2, polypeptit này có chứa trình tự axit amin mà có chứa, khi so với trình tự axit amin của polypeptit HA chiều dài đầy đủ có chứa miền HA1 và miền HA2:

- (i) sự làm khuyết của vùng đầu trong miền HA1;
- (ii) sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2, tốt hơn là sự cải biến trong xoắn C,
- (iii) ít nhất là 2 gốc xystein (có khả năng) tạo thành cầu disulphua nội monome;
- (iv) ít nhất là 2 gốc xystein (có khả năng) tạo thành cầu disulphua liên monome;

trong đó axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 392 là P, R hoặc Y, tốt hơn là P hoặc R, và axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 434 là Q, và trong đó việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số H3 như được sử dụng trong Winter et al. (1981).

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm A nhóm 1 có chứa miền HA1 và miền HA2, trong đó polypeptit thân HA này có chứa trình tự axit amin mà có chứa, khi so với trình tự axit amin của polypeptit HA chiều dài đầy đủ (HA0) có chứa miền HA1 và miền HA2:

(i) sự làm khuyết của vùng đầu trong miền HA1, sự làm khuyết này có chứa ít nhất là trình tự axit amin từ axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 302;

(ii) sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2, tốt hơn là sự cải biến của vùng trime hóa trong xoắn C, vùng trime hóa này có chứa trình tự axit amin từ axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 405 đến và bao gồm axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 419;

(iii) xystein tại vị trí axit amin tương ứng với vị trí 310 và xystein tại vị trí tương ứng với vị trí 422 (có khả năng) tạo thành cầu disulphua nội monome;

(iv) xystein tại vị trí tương ứng với vị trí 397 kết hợp với xystein tại vị trí tương ứng với vị trí 405; hoặc xystein tại vị trí tương ứng với vị trí 396 kết hợp với xystein tại vị trí tương ứng với vị trí 408; hoặc xystein tại vị trí tương ứng với vị trí 399 kết hợp với xystein tại vị trí 405;

trong đó axit amin tại vị trí tương ứng với vị trí 392 là P, R hoặc Y, tốt hơn là P hoặc R, và trong đó axit amin tại vị trí tương ứng với vị trí 434 là Q; và trong đó việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số H3 như được sử dụng trong Winter et al. (1981).

Theo sáng chế đã bất ngờ chứng minh được rằng polypeptit thân HA cúm mới theo sáng chế có thể được biểu hiện ở mức độ cao, chủ yếu là dạng trime trong dịch nổi môi trường nuôi cấy tế bào, có nhiệt độ nóng chảy tăng lên mà dẫn đến độ ổn định lớn hơn. Ngoài ra, polypeptit thân HA theo sáng chế bắt chước gốc của HA chiều dài đầy đủ bằng cách trình diện ổn định epitop của bnAb liên kết gốc HA, chẳng hạn như CR9114 và/hoặc CR6261.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân HA cúm.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất vector, cụ thể là vector adenovirut tái tổ hợp, có chứa axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân HA cúm.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp gây cảm ứng đáp ứng miễn dịch chống lại HA cúm ở đối tượng cần chúng, phương pháp này có chứa bước dùng cho đối tượng polypeptit thân HA cúm, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm có chứa polypeptit thân HA cúm, phân tử axit nucleic và/hoặc vector theo sáng chế, và chất mang dược dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit thân HA cúm, phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân HA cúm này, và/hoặc vector có chứa phân tử axit nucleic này để sử dụng làm thuốc, cụ thể là để sử dụng làm vắc xin để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh gây ra bởi chủng virut cúm A từ nhóm phát sinh loài 1 và/hoặc 2 và/hoặc chủng virut cúm B.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

- HÌNH 1. A. Sơ đồ tổng quan của polypeptit theo sáng chế; B. Sự loại bỏ vùng đầu của HA dẫn đến polypeptit thân theo sáng chế (mini-HA); C. Hình vẽ ba chiều của polypeptit dựa trên thân theo sáng chế.
- HÌNH 2. Hình vẽ dạng sơ đồ của cấu trúc ban đầu dựa trên A/Brisbane 5367.
- HÌNH 3. Hình vẽ dạng sơ đồ của cấu trúc ban đầu dựa trên A/Brisbane 5369.
- HÌNH 4. Hình vẽ dạng sơ đồ của một phương án của polypeptit theo sáng chế, thể hiện đột biến mới của axit amin tại vị trí 392 trong vòng B thành P hoặc R, đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q và đột biến tại vị trí 442 thành A, và còn chứa đột biến của axit amin tại vị trí 404 thành Q.
- HÌNH 5. Mức độ biểu hiện và hàm lượng trime của một vài polypeptit theo sáng chế (màu xám) và thiết kế ban đầu (màu đen). A: Mức độ biểu hiện protein như xác định bằng OCTET (CR9114); B và C: Hàm lượng trime như xác định bằng AlphaLISA (các giá trị được biểu diễn theo % tương quan với polypeptit UFV160656 mà được đặt là 100%; giá trị đối với polypeptit 5367 là giá trị ước lượng dựa trên thẩm tách Western). Thí nghiệm được thực hiện nhiều lần và các dữ liệu này là đại diện cho các giá trị quan sát được. Đột biến làm ổn định được thể hiện trong các ô bên trái.
- HÌNH 6. Các phân đoạn rửa giải Sắc Ký Ái Lực được gom lại được tách bằng Sắc Ký Loại Trừ Kích Thước; khối kết tụ, trime và monome được chỉ ra (Ô A và Ô B). Phân tích SEC-MALS của phân đoạn trime đã gom lại chỉ ra rằng polypeptit theo sáng chế rất tinh khiết và đồng nhất trong khối lượng mol (Ô C).
- HÌNH 7. Biên dạng SEC của polypeptit thân dạng trime theo sáng chế và mảnh Fab. Phân chồng lên nhau thể hiện các biểu đồ sắc ký của polypeptit (màu đen), mảnh Fab (nét đứt) và của mẫu chứa cả hai (màu xám). Kết quả đối với polypeptit 160656 được thể hiện. Các đỉnh chồng lên nhau trong ô A chỉ ra rằng Fab dùng làm đối chứng âm không liên kết với polypeptit, trong khi đó polypeptit đã được ủ trước với Fab6261 (Ô B) và Fab9114 (Ô C) thể hiện sự dịch chuyển đỉnh (thời gian lưu giảm) chỉ ra sự tạo thành phức hợp (một trime được liên kết bởi ba mảnh Fab).

- HÌNH 8. Hình biểu diễn dạng sơ đồ của sự loại bỏ miền đầu HA (HA1). Trong thiết kế ban đầu, miền đầu được loại bỏ và hai đầu HA1 được nối bằng "GGGG-cầu nối" nhân tạo (ô bên trái). Trong polypeptit theo sáng chế các đầu được nối trực tiếp (vị trí cắt khác) hoặc bằng trình tự cầu nối tương đồng bắt nguồn từ miền đầu.
- HÌNH 9. Mức độ biểu hiện, sự liên kết kháng thể và hàm lượng trime của polypeptit theo sáng chế, như xác định bằng AlphaLISA. A: mức độ biểu hiện, B: sự liên kết CR9114 và C: hàm lượng trime. Các thiết kế bao gồm các chỗ cắt thay đổi được tô màu xám (ô bên trái), các thiết kế bao gồm các cầu nối thay đổi được tô màu xám nhạt. Tất cả dữ liệu được chuẩn hóa đối với thiết kế tham chiếu UFV160360 (màu đen).
- Hình 10. Mức độ biểu hiện và sự trime hóa của polypeptit theo sáng chế. Mức độ biểu hiện được xác định bằng OCTET (ô A) và hàm lượng trime bằng AlphaLISA (ô B). Dữ liệu được chuẩn hóa đối với polypeptit tham chiếu UFV150850.
- HÌNH 11. Mức độ biểu hiện, hàm lượng trime và sự liên kết CR9114 đã chuẩn hóa. Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được phân tích bằng AlphaLISA. Cấu trúc tham chiếu UFV160097 chứa đoạn lặp heptad giống GCN4 và được chỉ ra bằng màu đen trong khi đó polypeptit chứa đoạn lặp heptad thay đổi được tô màu xám. Mức độ liên kết CR9114 được chuẩn hóa bằng mức độ biểu hiện đã được xác định.
- HÌNH 12. Sự biểu hiện và sự liên kết kháng thể với biến thể polypeptit với các dạng cắt đầu C thay đổi. A: Thảm tách Western sử dụng kháng thể đơn miền đặc hiệu HA. Hầu hết tất cả các mẫu thể hiện bằng rõ ràng trên chiều cao trime mà tương tự với cả hai polypeptit tham chiếu (UFV5367 và UFV5369). B: Sự liên kết của polypeptit với kháng thể trung hòa rộng CR9114 như xác định bằng OCTET, được thể hiện là các giá trị $K_{bật}$ tương đối của polypeptit so với thiết kế tham chiếu UFV5367 và UFV5369.
- HÌNH 13. Mức độ biểu hiện, hàm lượng trime và sự liên kết CR9114 đã chuẩn hóa. Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được phân tích bằng AlphaLISA.

Cấu trúc tham chiếu UFV160090 được chỉ ra bằng màu đen trong khi đó polypeptit chứa các xystein đã được đưa vào tại các vị trí thay đổi được tô màu xám. Hàm lượng trime và mức độ liên kết CR9114 được chuẩn hóa dựa trên mức độ biểu hiện đã được xác định.

HÌNH 14: Việc đánh số các vị trí axit amin trong H1 A/California/07/09 và trong UFV160664, theo đánh số H3 của Winter et al.(1981).

HÌNH 15: Độ chuẩn kháng thể đặc hiệu HA H1 A/Brisbane/59/07 FL sau khi gây miễn dịch chuột nhắt bằng polypeptit theo sáng chế. Đường nét đứt chỉ ra LLOQ (Lower Limit of Quantification - Giới Hạn Dưới Của Sự Định Lượng), đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

HÌNH 16: Ô trên: Tỷ lệ sống sót trong khoảng thời gian theo dõi sau khi thử thách H1N1 A/Brisbane/59/07 của chuột nhắt được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế. Ô dưới: Khối lượng cơ thể tương đối trong khoảng thời gian theo dõi sau khi thử thách H1N1 A/Brisbane/59/07 của chuột nhắt được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế. Sự thay đổi khối lượng cơ thể tương đối được biểu diễn tương quan với Ngày 0. Sự giảm khối lượng cơ thể tích lũy trong khoảng thời gian theo dõi được xác định bằng cách tính Diện Tích Dưới Đường Cong (AUC). Cột sai số chỉ ra khoảng tin cậy 95%.

HÌNH 17: Ô trên: Tỷ lệ sống sót trong khoảng thời gian theo dõi sau khi thử thách H1N1 A/Puerto Rico/8/34 của chuột nhắt được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế. Ô dưới: Khối lượng cơ thể tương đối trong khoảng thời gian theo dõi sau khi thử thách H1N1 A/Puerto Rico/8/34 của chuột nhắt được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế. Sự thay đổi khối lượng cơ thể tương đối được biểu diễn tương quan với Ngày 0. Sự giảm khối lượng cơ thể tích lũy trong khoảng thời gian theo dõi được xác định bằng cách tính Diện Tích Dưới Đường Cong (AUC). Cột sai số chỉ ra khoảng tin cậy 95%.

HÌNH 18: Độ chuẩn kháng thể đặc hiệu HA H1 A/California/07/09 FL sau khi gây miễn dịch chồn sương bằng polypeptit theo sáng chế. Sự so sánh thống kê

của các liều lượng khác nhau của polypeptit theo sáng chế và SOC với nhóm chỉ dùng tá dược sử dụng ANOVA bị thiếu với kiểm định t hậu kiểm, bắt đầu ở liều lượng cao nhất và sự điều chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh. Đường nét đứt chỉ ra ULLOQ (Uper Limit of Quantification - Giới Hạn Trên Của Sự Định Lượng) và LLOQ. Đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

HÌNH 19: Độ chuẩn kháng thể đặc hiệu gốc HA H1 A/California/07/09 FL sau khi gây miễn dịch chồn sương bằng polypeptit theo sáng chế. Sự so sánh thống kê của các liều lượng khác nhau của polypeptit theo sáng chế và SOC với nhóm chỉ dùng tá dược sử dụng ANOVA bị thiếu với kiểm định t hậu kiểm, bắt đầu ở liều lượng cao nhất và sự điều chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh. Đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

HÌNH 20: Độ chuẩn tải lượng virus phổi khi kết thúc khoảng thời gian theo dõi (ngày 4 sau khi thử thách) sau khi gây miễn dịch chồn sương bằng polypeptit theo sáng chế sau đó là thử thách bằng H1N1 A/NL/602/09. Đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm, các kí hiệu rỗng chỉ mẫu ở Giới Hạn Phát Hiện (Limit Of Detection - LOD).

HÌNH 21: Sự sống sót trong khoảng thời gian theo dõi 5 ngày của chồn sương được gây miễn dịch bằng polypeptit theo sáng chế, H5 FL HA (đối chứng thử thách dương) và chỉ có tá dược (đối chứng thử thách âm), sau đó là thử thách bằng H5N1 A/Indonesia/05/05.

HÌNH 22: Sự giảm khối lượng cơ thể tích lũy (AUC) của các con vật riêng lẻ, thu được từ phép đo khối lượng cơ thể hàng ngày liên tục trong khoảng thời gian theo dõi (từ ngày 0 đến ngày 5), tương quan với khối lượng cơ thể vào ngày 0 sau khi gây miễn dịch chồn sương bằng polypeptit theo sáng chế sau đó là thử thách bằng H5N1 A/Indonesia/05/05. Đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

HÌNH 23: Độ chuẩn tải lượng virus phổi vào ngày chết hoặc khi kết thúc khoảng thời gian theo dõi (ngày 5 sau khi thử thách) sau khi gây miễn dịch chồn sương

bằng polypeptit theo sáng chế sau đó là thử thách bằng H5N1 A/Indonesia/05/05. Đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm, các ký hiệu rỗng chỉ mẫu ở Giới Hạn Phát Hiện (Limit Of Detection - LOD).

HÌNH 24: Tải lượng virus hòng tích lũy (AUC), thu được từ dịch phết hòng hàng ngày liên tục trong khoảng thời gian theo dõi (từ ngày 0 đến ngày 5), tương quan với khối lượng cơ thể vào ngày 0 sau khi gây miễn dịch chồn sưng bằng polypeptit theo sáng chế sau đó là thử thách bằng H5N1 A/Indonesia/05/05. Đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

HÌNH 25: Độ chuẩn kháng thể đặc hiệu HA H1 A/California/07/09 FL sau khi gây miễn dịch chuột nhất bằng polypeptit theo sáng chế. Đường nét đứt chỉ ra LLOQ (Lower Limit of Quantification - Giới Hạn Dưới Của Sự Định Lượng), các ký hiệu rỗng thể hiện mẫu trên LLOQ, đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

Hình 26: Độ chuẩn kháng thể đặc hiệu gốc HA H1 A/California/07/09 FL sau khi gây miễn dịch chuột nhất bằng polypeptit theo sáng chế. Đường nét đứt chỉ ra LLOQ (Lower Limit of Quantification - Giới Hạn Dưới Của Sự Định Lượng), các ký hiệu rỗng thể hiện mẫu trên LLOQ, đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

Hình 27: Tế bào T sản xuất IFN- γ trong mỗi triệu tế bào lách của chuột nhất đã được gây miễn dịch, sau khi kích thích in vitro bằng peptit UFV160664. Đường nét đứt chỉ ra LLOQ (Lower Limit of Quantification - Giới Hạn Dưới Của Sự Định Lượng), các ký hiệu rỗng thể hiện mẫu trên LLOQ, đường nằm ngang cho mỗi nhóm chỉ trung vị của nhóm.

HÌNH 28: Sự xác định đặc điểm in vitro của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy của polypeptit thân dạng trime được biểu hiện EXPI-CHO có nguồn gốc từ các chủng cúm Nhóm 1 khác nhau trong đó các đột biến của cấu trúc UFV160664 được chuyển.

A. Mức độ biểu hiện protein như xác định bằng OCTET (kháng-His2); B. Biên dạng SEC, đỉnh trime và monome lần lượt được chỉ ra bằng 'T' và 'M'; C. Đường cong liên kết của polypeptit với mAb CR9114 và MD3606 như xác định bằng AlphaLISA. Các đột biến của polypeptit thân dạng trime theo sáng chế trong chủng A/California/07/09) có thể chuyển được đến các khung Nhóm 1 khác; mini-HA dạng trime được biểu hiện và sự liên kết của kháng thể đặc hiệu gốc CR9114 và MD3606 đa miền được quan sát.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

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

Axit amin theo sáng chế có thể là axit amin bất kỳ trong số hai mươi axit amin có trong tự nhiên (hay axit amin 'tiêu chuẩn') hoặc biến thể của chúng, ví dụ như D-prolin (chất đồng phân đối ảnh D của prolin), hoặc biến thể bất kỳ mà không được tìm thấy trong tự nhiên ở protein, ví dụ như norloxin. Axit amin tiêu chuẩn có thể được chia thành một số nhóm dựa trên các đặc tính của chúng. Các yếu tố quan trọng là đặc tính tích điện, ưa nước hoặc kỵ nước, các nhóm chức và kích thước. Các đặc tính này là quan trọng đối với cấu trúc protein và tương tác protein-protein. Một số axit amin có các đặc tính đặc biệt như xystein, có thể tạo thành liên kết disulfua cộng hóa trị (hoặc cầu disulfua) với các gốc xystein khác, prolin có thể tạo thành vòng thành khung polypeptit, và glyxin linh động hơn các axit amin khác. Bảng 12 thể hiện các chữ viết tắt và đặc tính của các axit amin tiêu chuẩn.

Thuật ngữ "được bao gồm" hoặc "bao gồm" như được dùng trong bản mô tả này được cho là sẽ kèm theo cụm từ "nhưng không giới hạn ở" ở phía sau.

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

Theo một số phương án, sự nhiễm chỉ trạng thái bệnh lý bắt nguồn từ sự có mặt của virus trong tế bào hoặc đối tượng, hoặc do sự xâm lấn của virus vào tế bào hoặc đối tượng.

Virus cúm thường được phân loại thành các kiểu phụ virus cúm: chi A, B và C. Thuật ngữ "kiểu phụ virus cúm" như được dùng trong bản mô tả này dùng để chỉ biến thể virus cúm A mà đặc trưng ở sự kết hợp của các protein bề mặt virus hemagglutinin (H) và neuramidase (N). Theo sáng chế kiểu phụ virus cúm có thể được thể hiện bằng số lượng H của chúng, chẳng hạn như ví dụ "virus cúm có chứa HA thuộc kiểu phụ H3", "virus cúm thuộc kiểu phụ H3" hoặc "cúm H3", hoặc bằng dạng kết hợp của số lượng H và số lượng N, chẳng hạn như ví dụ "kiểu phụ virus cúm H3N2" hoặc "H3N2". Thuật ngữ "kiểu phụ" đặc biệt bao gồm tất cả các "chủng" cụ thể, trong mỗi kiểu phụ, mà thường bắt nguồn từ các đột biến và thể hiện các biên dạng gây bệnh khác nhau, bao gồm các thể phân lập tự nhiên cũng như là các thể đột biến do con người tạo ra hoặc thể tái hợp và dạng tương tự. Các chủng này có thể còn được gọi là các "thể phân lập" khác nhau của kiểu phụ virus. Theo đó, như được dùng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "chủng" và "thể phân lập" có thể được dùng thay thế lẫn nhau. Danh pháp hiện nay đối với các chủng virus cúm hoặc các thể phân lập được từ người bao gồm typ (chi) virus, tức là A, B hoặc C, vị trí địa lý lần đầu tiên phân lập được, số chủng và năm phân lập được, thường với việc mô tả kháng nguyên của HA và NA được đưa ra trong ngoặc đơn, ví dụ A/Moscow/10/00 (H3N2). Các chủng không gây bệnh cho người cũng bao gồm vật chủ có nguồn gốc trong danh pháp này.

Kiểu phụ của virus cúm A có thể còn được phân loại bằng cách viện dẫn đến nhóm phát sinh loài của chúng. Phân tích phát sinh loài đã chứng minh việc chia nhỏ các hemagglutinin thành hai nhóm chính: *không kể những cái khác* các kiểu phụ H1, H2, H5 và H9 trong nhóm phát sinh loài 1 (virus cúm "nhóm 1") và *không kể những cái khác* các kiểu phụ H3, H4, H7 và H10 trong nhóm phát sinh loài 2 (virus cúm "nhóm 2").

Như dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "bệnh virus cúm" hoặc "cúm" dùng để chỉ tình trạng bệnh lý bắt nguồn từ sự có mặt của virus cúm, ví dụ như virus cúm A hoặc B, ở đối tượng. Như dùng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "bệnh" và "rối loạn" được

sử dụng thay thế lẫn nhau. Theo phương án cụ thể, thuật ngữ này dùng để chỉ tình trạng đau yếu hô hấp gây ra bởi sự lây nhiễm virus cúm của đối tượng.

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

Như dùng trong bản mô tả này, việc đánh số của axit amin trong HA được dựa trên việc đánh số H3, như được mô tả bởi Winter et al. (1981). Do đó việc đánh số của các gốc axit amin hoặc các vị trí axit amin dùng để chỉ việc đánh số trong H3 HA chiều dài đầy đủ (cụ thể là, việc đánh số của các vị trí axit amin trong A/Aichi/2/68), như được mô tả bởi và được thể hiện trên Hình 2 trong Winter et al. (1981). Việc đánh số cụ thể là dùng để chỉ việc đánh số của các vị trí axit amin trong SEQ ID NO: 15. Ví dụ như, cách diễn đạt 'axit amin tại vị trí 392' hoặc "axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 392" (mà được sử dụng thay thế lẫn nhau trong toàn bộ đơn này) dùng để chỉ gốc axit amin mà nằm ở vị trí 392 theo sự đánh số H3 của Winter et al. (1981). Lưu ý rằng, vì trong polypeptit theo sáng chế một phần của miền HA1 (miền đầu) đã được làm khuyết, việc đánh số, như dùng trong bản mô tả này, không nhất thiết dùng để chỉ vị trí thực sự của axit amin trong polypeptit thân HA theo sáng chế. Người có trình độ trung bình

trong lĩnh vực cũng hiểu rằng axit amin tương đương trong các chủng và/hoặc các kiểu phụ virus cúm khác, chẳng hạn như trong HA H1, và trong polypeptit thân theo sáng chế, có thể được xác định bằng sự sắp xếp thẳng hàng trình tự (như được thể hiện ví dụ như trên Hình 14).

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

"Polypeptit thân HA" dùng để chỉ polypeptit có nguồn gốc từ HA mà không chứa miền đầu của hemagglutinin (HA) có trong tự nhiên (hoặc kiểu đại). Như dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "kiểu đại" dùng để chỉ HA từ virus cúm mà lưu hành tự nhiên.

Mô tả các phương án thực hiện sáng chế

Virus cúm có tác động đáng kể đến sức khỏe cộng đồng toàn cầu, gây ra hàng triệu ca bệnh trầm trọng mỗi năm, hàng nghìn ca tử vong, và thiệt hại đáng kể về kinh tế. Các vắc xin cúm ba thành phần hoặc bốn thành phần hiện nay gây ra ra đáp ứng kháng thể trung hòa hiệu nghiệm đối với các chủng vắc xin và các thể phân lập có quan hệ gần gũi, nhưng hiếm khi mở rộng đến các chủng phân tán hơn trong kiểu phụ hoặc đến các kiểu phụ khác. Ngoài ra, việc chọn lọc chủng làm vắc xin thích hợp gặp phải nhiều thách thức và thường dẫn đến sự phòng ngừa chưa được tối ưu. Ngoài ra, việc dự đoán kiểu phụ của virus gây dịch tiếp theo, bao gồm khi và nơi nó sẽ phát sinh, hiện nay vẫn là điều không thể.

Hemagglutinin (HA) là glycoprotein vỏ chính từ virus cúm mà là đích chính của kháng thể trung hòa. Hemagglutinin có hai chức năng chính trong quá trình xâm nhập của virus. Thứ nhất, hemagglutinin làm trung gian cho sự bám dính của virus lên bề mặt

của tế bào đích thông qua tương tác với thụ thể axit sialic. Thứ hai, sau quá trình nhập bào của virus, tiếp theo hemagglutinin khởi động quá trình dung hợp của màng virus và màng endosom để giải phóng bộ gen của nó vào tế bào chất của tế bào đích. HA có chứa miền ngoại bào lớn có ~500 axit amin mà được phân cắt bằng enzym có nguồn gốc từ vật chủ để tạo ra 2 polypeptit (HA1 và HA2) mà vẫn được liên kết bằng liên kết disulfua. Phần lớn của mảnh đầu N (miền HA1, 320-330 axit amin) tạo thành "miền đầu" hình cầu xa màng mà chứa vị trí liên kết thụ thể và hầu hết các thể quyết định được nhận diện bằng kháng thể trung hòa virus. Phần đầu C nhỏ hơn (miền HA2, ~180 axit amin) tạo thành cấu trúc giống thân mà neo giữ miền hình cầu vào màng tế bào hoặc virus. Độ tương đồng trình tự giữa các kiểu phụ nhỏ hơn trong polypeptit HA1 (độ tương đồng 34% - 59% giữa các kiểu phụ) so với trong polypeptit HA2 (độ tương đồng 51%- 80%). Vùng được bảo toàn nhất là trình tự xung quanh vị trí phân cắt proteaza, cụ thể là 23 axit amin đầu N HA2, mà được bảo toàn giữa tất cả các kiểu phụ virus cúm A (Lorieau et al., 2010). Một phần của vùng này được bộc lộ dưới dạng vòng trên bề mặt trong phân tử HA tiền thân (HA0), nhưng trở nên không thể xâm nhập được khi HA0 được cắt thành HA1 và HA2.

Hầu hết kháng thể trung hòa liên kết với các vòng mà bao xung quanh vị trí liên kết thụ thể và bằng cách đó gây trở ngại đối với sự liên kết và gắn thụ thể. Do các vòng này có tính biến đổi cao, hầu hết kháng thể hướng đích các vùng này là đặc hiệu chủng, điều này giải thích tại sao vắc xin hiện nay kích thích hệ miễn dịch giới hạn, đặc hiệu chủng này. Tuy nhiên, gần đây, kháng thể đơn dòng người đầy đủ chống lại hemagglutinin virus cúm với hiệu lực trung hòa chéo rộng được tạo ra, chẳng hạn như ví dụ như CR6261. Phân tích chức năng và cấu trúc đã phát hiện ra rằng các kháng thể này gây trở ngại cho quy trình dung hợp màng và được định hướng chống lại epitop bảo toàn cao trong miền thân của protein HA cúm nhóm 1 (Throsby et al., 2008; Ekiert et al. 2009, WO 2008/028946). Với việc xác định CR9114 (như được mô tả trong WO2013/007770) mà phản ứng chéo với nhiều phân tử HA nhóm 1 và 2, rõ ràng rằng hệ miễn dịch người có thể tạo ra kháng thể trung hòa rất rộng chống lại virus cúm. Tuy nhiên, với nhu cầu về kế hoạch chủng ngừa hàng năm các kháng thể này dường như không được tạo ra, hoặc chỉ đến mức độ rất thấp, sau khi lây nhiễm hoặc chủng ngừa bằng virus cúm (mùa) thuộc các kiểu phụ H1 và/hoặc H3.

Theo sáng chế polypeptit thân HA mới được đề xuất mà bất chước epitop đặc hiệu của kháng thể CR6261 (có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 11 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 12) và/hoặc kháng thể CR9114 (có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 9 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 10). Polypeptit theo sáng chế có thể được sử dụng để gây tạo ra kháng thể trung hòa virus cúm, tốt hơn là kháng thể trung hòa chéo khi được dùng *in vivo*, một mình, hoặc kết hợp với việc điều trị phòng ngừa và/hoặc trị liệu khác. Trong "kháng thể trung hòa chéo", kháng thể có khả năng làm trung hòa ít nhất là hai, tốt hơn là ít nhất là ba, bốn, hoặc năm typ virus cúm A khác nhau từ nhóm phát sinh loài 1, hoặc ít nhất là hai, tốt hơn là ít nhất là ba, bốn, hoặc năm typ virus cúm A khác nhau từ nhóm phát sinh loài 2, hoặc ít nhất là hai typ virus cúm B khác nhau, hoặc kháng thể mà có khả năng trung hòa ít nhất là một virus cúm nhóm 1, và ít nhất là một virus cúm nhóm 2 và/hoặc ít nhất là trên virus cúm B.

Polypeptit thân HA cúm trình diện ổn định epitop của các kháng thể này đã được mô tả trước đây trong WO2013/079473. Ít nhất là một số trong số các polypeptit thân HA này có khả năng trình diện ổn định epitop của CR6261 và/hoặc CR9114 và được thể hiện là gây miễn dịch ở chuột nhắt. Các polypeptit HA miền thân khác, có khả năng trình diện ổn định epitop của CR6261 và/hoặc CR9114 được mô tả trong WO2014/191435, WO2016/005480 và WO2016/005482.

Polypeptit thân HA theo sáng chế, có chứa các cải biến mới, thể hiện mức độ biểu hiện tăng lên ở tế bào động vật có vú, xu hướng trimer hóa tăng lên (ví dụ như đo được bằng AlphaLISA) và/hoặc mức độ ổn định nhiệt tăng lên (ví dụ như đo được bằng, Phép Đo Huỳnh Quang/Đo Nhiệt Lượng Quét Động Học (DSF/DSC)), khi so với polypeptit thân HA đã được mô tả trước đây. Ngoài ra, ái lực của tất cả các bnAb được thử nghiệm với polypeptit theo sáng chế nhỏ hơn 1nM (đo được bằng Octet và ELISA), mà tương tự với ái lực của các kháng thể với HA chiều dài đầy đủ. Điều này cho thấy rõ ràng rằng polypeptit bất chước thân của HA chiều dài đầy đủ, tự nhiên. Ngoài ra polypeptit thân HA mới không đòi hỏi bất kỳ cầu nối nhân tạo, đuôi, hai miền trimer hóa đầu N hoặc C nào.

Do đó, sáng chế đề xuất polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm A nhóm 1 có chứa miền HA1 và miền HA2, polypeptit này có chứa trình tự axit amin mà có chứa,

khi so với trình tự axit amin của polypeptit HA chiều dài đầy đủ (HA0) có chứa miền HA1 và miền HA2:

- (i) sự làm khuyết của vùng đầu trong miền HA1;
- (ii) sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2, tốt hơn là sự cải biến trong xoắn C,
- (iii) ít nhất là 2 gốc xystein tạo thành cầu disulphua nội monome;
- (iv) ít nhất là 2 gốc xystein tạo thành cầu disulphua liên monome;

trong đó axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 392 là P, R hoặc Y, tốt hơn là P hoặc R, và axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 434 là Q, và trong đó việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số H3 theo Winter et al. (1981).

Do đó sáng chế đề xuất polypeptit thân HA (tức là polypeptit HA không có đầu), có chứa:

sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2, tốt hơn là sự cải biến trong xoắn C,

ít nhất là 2 gốc xystein tạo thành cầu disulphua nội monome;

ít nhất là 2 gốc xystein tạo thành cầu disulphua liên monome;

trong đó axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 392 là P, R hoặc Y, tốt hơn là P hoặc R, và axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 434 là Q, và trong đó việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số H3 như được sử dụng trong Winter et al. (1981).

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm A nhóm 1 có chứa miền HA1 và miền HA2, trong đó polypeptit thân HA này có chứa trình tự axit amin mà có chứa, khi so với trình tự axit amin của polypeptit HA chiều dài đầy đủ (HA0) có chứa miền HA1 và miền HA2 có chứa miền HA1 và miền HA2:

- (i) sự làm khuyết của vùng đầu trong miền HA1, sự làm khuyết này có chứa ít nhất là trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 302;

- (ii) sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2, tốt hơn là sự cải biến trong vùng trime hóa trong xoắn C, vùng này có chứa trình tự axit amin từ axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí tại vị trí 405 đến và bao gồm axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí tại vị trí 419;
- (iii) xystein tại vị trí 310 và xystein tại vị trí 422;
- (iv) xystein tại vị trí 397 kết hợp với xystein tại vị trí 405; hoặc xystein tại vị trí 396 kết hợp với xystein tại vị trí 408; hoặc xystein tại vị trí 399 kết hợp với xystein tại vị trí 405;

trong đó axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 392 là P, R hoặc Y, tốt hơn là P hoặc R, và trong đó axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 434 là Q; trong đó việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số H3 theo Winter et al. (1981).

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm A nhóm 1 có chứa:

- (i) sự làm khuyết của vùng đầu trong miền HA1, sự làm khuyết này có chứa ít nhất là trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 302;
- (ii) sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2, tốt hơn là sự cải biến trong vùng trime hóa trong xoắn C, vùng này có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 405 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 419;
- (iii) đột biến của axit amin tại các vị trí 310 và 422 thành C;
- (iv) đột biến của axit amin tại vị trí 397 thành C và đột biến của axit amin tại vị trí 405 thành C; hoặc đột biến của axit amin tại vị trí 396 thành C và đột biến của axit amin tại vị trí 408 thành C; hoặc đột biến của axit amin tại vị trí 399 thành C và đột biến của axit amin tại vị trí 405 thành C;

trong đó polypeptit còn chứa ít nhất là một đột biến trong vòng B, vòng B này có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 385 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 404, trong đó ít nhất là một đột biến trong vòng B này là đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành

P, R hoặc Y, tốt hơn là thành P hoặc R; và trong đó polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q;

trong đó việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số H3 như được sử dụng trong Winter et al. (1981).

Theo sáng chế, đã bất ngờ phát hiện ra rằng polypeptit thân HA có gốc axit amin Y, P hoặc R, tốt hơn là P hoặc R, tại vị trí 392, ví dụ như bằng cách đưa vào đột biến của axit amin tại vị trí 392 trong vòng B thành Y, P hoặc R, tốt hơn là thành P hoặc R; kết hợp với vị trí axit amin Q tại vị trí 434, ví dụ như bằng cách đưa vào đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q, thể hiện mức độ biểu hiện tăng, xu hướng trime hóa tăng và/hoặc độ ổn định tăng, so với polypeptit thân HA đã được mô tả trước đây. Ngoài ra, polypeptit thân HA theo sáng chế có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại virus cúm.

Như đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực, hemagglutinin cúm chiều dài đầy đủ (HA0) thường có chứa miền HA1 và miền HA2. Miền thân được tạo thành bởi hai đoạn của miền HA1 và hầu hết hoặc tất cả của miền HA2. Hai đoạn của miền HA1 được tách riêng, trong trình tự bậc một, bằng miền đầu hình cầu. Như được mô tả trong bản mô tả này, polypeptit thân HA theo sáng chế có chứa trình tự axit amin mà có chứa một vài cải biến trong miền HA1 và/hoặc miền HA2, khi so với trình tự axit amin của polypeptit HA chiều dài đầy đủ, kiểu đại (HA0), cụ thể là trình tự axit amin của HA nhóm 1.

Do đó, ít nhất là một phần của đầu trội miễn dịch và biến đổi cao trong miền HA1 của polypeptit HA cúm, phần này có chứa ít nhất là trình tự axit amin bắt đầu với axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 302, đã được làm khuyết từ protein HA chiều dài đầy đủ (HA0) để tạo ra polypeptit thân, còn gọi là "mini-HA" (Hình 1A, thiết kế thứ hai). Các phần còn lại của miền HA1 được liên kết, trực tiếp hoặc thông qua cầu nối có từ 1 đến 10 axit amin. Do đó, ví dụ như, khi trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 302 được làm khuyết, axit amin tại vị trí 52 được liên kết với axit amin tại vị trí 303, trực tiếp, hoặc thông qua sự thay thế của vùng đầu đã được làm khuyết bằng cầu nối có từ 1 đến 10 axit amin. Sự làm khuyết của trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 302 là sự làm khuyết tối thiểu trong miền HA1 (Hình 1A, thiết kế thứ hai). Theo sáng chế, ngoài

ra phần lớn hơn của miền HA1 có thể được làm khuyết, ví dụ như trình tự axit amin bắt đầu với axit amin tại vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308, như được thể hiện trên Hình 1A, thiết kế thứ ba.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 48 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 49 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 50 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 51 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 52 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 305.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 48 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 304.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 48 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 305.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 302.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 48 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 49 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 50 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 51 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 52 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo các phương án nhất định, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 53 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 308.

Theo phương án được ưu tiên, sự làm khuyết trong miền HA1 có chứa ít nhất là trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo phương án được ưu tiên, sự làm khuyết trong miền HA1 gồm có trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306.

Theo một số phương án, sự làm khuyết trong miền HA1 đã được thay thế bằng trình tự kết nối có từ 1 đến 10 axit amin.

Ngoài ra, polypeptit thân HA theo sáng chế có chứa sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2, tốt hơn là sự cải biến trong xoắn C, để cải thiện sự trime hóa của polypeptit thân HA sau khi làm khuyết vùng đầu. Theo sáng chế, sự cải biến này trong miền HA2 là sự cải biến mà làm tăng cường sự trime hóa của polypeptit thân HA.

Theo các phương án nhất định, sự cải biến này có chứa sự đưa vào của miền trime hóa khác loại trong xoắn C. Thường hiểu rằng xoắn C có chứa trình tự axit amin từ axit

amin tại vị trí 405 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 434 (đánh số H3). Theo phương án được ưu tiên, miền trime hóa khác loại này được đưa vào tại vị trí tương ứng với trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 405 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 419 (Hình 1A). Do đó, theo các phương án nhất định, trình tự axit amin ban đầu (kiểu đại) trong miền HA2 từ vị trí 405 lên đến vị trí 419 đã được thay thế bằng trình tự trime hóa khác loại có cùng chiều dài, tức là có số lượng axit amin giống nhau.

Theo các phương án nhất định, miền trime hóa khác loại là trình tự GCN4.

Theo các phương án được ưu tiên nhất định, trình tự trime hóa khác loại có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có:

RMKQIEDKIEEIESK (SEQ ID NO: 18);

RIKQIEDKIEEIESK (SEQ ID NO: 19);

RMEALEKKVDDIEKK (SEQ ID NO: 20);

RIEALEKKVDDIEKK (SEQ ID NO: 21);

RMENLEKKVDDIEEK (SEQ ID NO: 22); và

RIENLEKKVDDIEEK (SEQ ID NO: 23).

Theo một số phương án, ít nhất là một trong số các axit amin của trình tự trime hóa khác loại đã được đột biến thành C, gây ra sự tạo thành của cầu xystein liên monome.

Theo các phương án được ưu tiên nhất định, trình tự trime hóa khác loại do đó có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có:

CMKQIEDKIEEIESK (SEQ ID NO: 24);

CIKQIEDKIEEIESK (SEQ ID NO: 25);

CMEALEKKVDDIEKK (SEQ ID NO: 26);

CIEALEKKVDDIEKK (SEQ ID NO: 27);

RMECLEKKVDDIEKK (SEQ ID NO: 28); và

RIECLEKKVDDIEKK (SEQ ID NO: 29).

Theo phương án được ưu tiên, trình tự trime hóa khác loại có chứa trình tự axit amin CMKQIEDKIEEIESK (SEQ ID NO: 24).

Theo các phương án nhất định, sự cải biến có chứa sự tối ưu hóa của trình tự đoạn lặp heptad trong xoắn C, tốt hơn là trong vùng trime hóa có chứa trình tự axit amin từ axit amin tại vị trí 405 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 419. Đoạn lặp heptad, được biểu thị là $[abcdefg]_n$, thường có các gốc kỵ nước tại **a** và **d**, và các gốc phân cực/tích điện tại **e** và **g**. Các mô típ này là cơ sở đối với các cấu trúc cuộn được cuộn xoắn nhiều nhất, mà là mô típ cấu trúc trong protein trong đó xoắn alpha được cuộn xoắn với nhau như sợi dây thừng (các đime và trime là các dạng phổ biến nhất) (Ciani et al., 2010).

Sự cải biến khác là, polypeptit thân HA theo sáng chế có chứa ít nhất là hai gốc xystein (có khả năng) tạo thành cầu xystein (hoặc disulphua) nội monome. Cầu xystein đã được thiết kế có thể được đưa vào bằng cách gây đột biến ít nhất là một gốc (nếu gốc kia đã là xystein), nhưng thường là bằng cách gây đột biến hai gốc mà ở gần về mặt không gian thành xystein, mà tự động hoặc bằng sự oxy hóa hoạt tính tạo thành liên kết cộng hóa trị giữa các nguyên tử lưu huỳnh của các gốc này. Theo phương án được ưu tiên, polypeptit có chứa xystein tại vị trí 310 và xystein tại vị trí 422, gây ra sự tạo thành của cầu xystein nội monome. Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại các vị trí 310 và 422 thành C, tạo ra cầu xystein nội monome. Do đó các gốc xystein này tạo thành cầu xystein (hoặc disulphua) nội monome mà làm ổn định protein (xem Hình 4).

Ngoài ra, để thu được polypeptit thân HA dạng trime ổn định, polypeptit theo sáng chế có chứa ít nhất là hai gốc xystein tạo thành cầu xystein liên monome (liên protome). Do đó, theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa xystein tại vị trí 397 kết hợp với xystein tại vị trí 405; hoặc xystein tại vị trí 396 kết hợp với xystein tại vị trí 408; hoặc xystein tại vị trí 399 kết hợp với xystein tại vị trí 405.

Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 397 thành C và đột biến của axit amin tại vị trí 405 thành C; hoặc đột biến của axit amin tại vị trí 396 thành C và đột biến của axit amin tại vị trí 408 thành C; hoặc đột biến của axit amin tại vị trí 399 thành C và đột biến của axit amin tại vị trí 405 thành C, tạo ra cầu xystein liên monome giữa xystein tại vị trí 397 của monome thứ nhất và xystein tại vị trí 405 của monome thứ hai; hoặc giữa xystein tại vị trí 396 của monome thứ nhất và xystein tại vị trí 408 của monome thứ hai; hoặc giữa xystein tại vị trí 399 của monome

thứ nhất và xystein tại vị trí 405 của monome thứ hai. Lưu ý rằng, theo một số phương án, axit amin tại vị trí 405 và 408 nằm trong trình tự trime hóa khác loại.

Theo phương án được ưu tiên, polypeptit có chứa xystein tại vị trí 397 và xystein tại vị trí 405, tạo ra cầu xystein liên monome giữa xystein tại vị trí 397 của monome thứ nhất và axit amin tại vị trí 405 của monome thứ hai.

Theo các phương án được ưu tiên nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 397 thành xystein và đột biến của axit amin tại vị trí 405 thành xystein, tạo ra cầu xystein liên monome giữa xystein tại vị trí 397 của monome thứ nhất và axit amin tại vị trí 405 của monome thứ hai.

Ngoài ra, theo các phương án nhất định, ít nhất là một đột biến được đưa vào trong cái gọi là vòng B, mà vòng B có chứa trình tự axit amin bắt đầu từ axit amin tại vị trí 385 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 404 (xem Hình 1C). Theo sáng chế, ít nhất là một đột biến là đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành P, R hoặc Y, tốt hơn là thành R hoặc P. Sự đột biến thành R (axit amin tích điện) loại trừ axit amin kỵ nước được lộ ra ban đầu (F trong hầu hết HA cúm) sau khi loại bỏ miền đầu, và làm tăng độ hòa tan và sự biểu hiện của polypeptit thân được biểu hiện. Sự đột biến thành axit amin P làm giảm xu hướng xoắn của vòng B. Theo các phương án nhất định, ít nhất là một đột biến trong vòng B là đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành R. Theo các phương án nhất định, ít nhất là một đột biến trong vòng B là đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành P.

Ngoài ra, theo các phương án nhất định của polypeptit theo sáng chế, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 395 là I, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 399 là Y hoặc C, tốt hơn là Y, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 400 là P, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 401 là K, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 402 là S, và/hoặc axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 404 là R hoặc Q (cũng đánh số theo sự đánh số H3). Theo các phương án nhất định, axit amin tại vị trí 392 là P hoặc R, axit amin tại vị trí 395 là I; axit amin tại vị trí 399 là Y; axit amin tại vị trí 402 là S; và axit amin tại vị trí 404 là R hoặc Q.

Theo các phương án được ưu tiên, polypeptit, khi so với polypeptit HA kiểu đại, thì có chứa ít nhất là một đột biến nữa trong vòng B được chọn từ nhóm gồm có:

- đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 395 thành I;
- đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 399 thành Y hoặc C, tốt hơn là Y;
- đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 400 thành P;
- đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 401 thành K;
- đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 402 thành S; và
- đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 404 thành Q hoặc R.

Theo phương án nhất định, polypeptit, khi so với polypeptit HA kiểu đại, có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành P hoặc R, đột biến của axit amin tại vị trí 395 thành I; đột biến của axit amin tại vị trí 399 thành Y; đột biến của axit amin tại vị trí 402 thành S; và tùy ý đột biến của axit amin tại vị trí 404 thành Q hoặc R.

Theo các phương án nhất định, axit amin tại vị trí 392 là P hoặc R, axit amin tại vị trí 395 là I; axit amin tại vị trí 399 là Y; axit amin tại vị trí 401 là K; axit amin tại vị trí 402 là S; và tùy ý axit amin tại vị trí 404 là R hoặc Q.

Theo phương án được ưu tiên khác, polypeptit, khi so với polypeptit HA kiểu đại, có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành P hoặc R, đột biến của axit amin tại vị trí 395 thành I; đột biến của axit amin tại vị trí 399 thành Y; đột biến của axit amin tại vị trí 401 thành K; đột biến của axit amin tại vị trí 402 thành S; và tùy ý đột biến của axit amin tại vị trí 404 thành R hoặc Q.

Theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế có chứa vòng B có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có:

IEKMNTQYTAIGKEYNKSER (SEQ ID NO: 126);

IEKMNTQYTAIGCEYNKSER (SEQ ID NO: 127);

IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQ (SEQ ID NO: 128);

IEKMNTQRTAIGCEFKNKSEQ (SEQ ID NO: 129);

IEKMNTQPTAIGCEYNKSER (SEQ ID NO: 130);

IEKMNTQPTAIGCEFKNKSEQ (SEQ ID NO: 131);

IEKMNTQRTAIGCEYNKSER (SEQ ID NO: 132);

IEKMNTQRTAICKEYPKSEQ (SEQ ID NO: 133); và

IEKMNTQRTAIGKECNKSER (SEQ ID NO: 134).

Ngoài ra, theo sáng chế, axit amin tại vị trí 434 là Q. Theo các phương án nhất định, polypeptit thân HA do đó có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q mà làm cải thiện sự tương tác liên kết hydro của nó. Theo các phương án nhất định, axit amin tại vị trí 434 là Q và axit amin tại vị trí 442 là A. Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q, và đột biến tại vị trí 442 thành A. Các đột biến này làm cải thiện sự tương tác mặt phân cách trime trong xoắn D và E và peptit dung hợp bên cạnh và vòng B₂B₃.

Cũng lưu ý rằng như dùng trong bản mô tả này việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số H3 theo Winter et al. (1981). Cũng lưu ý rằng việc đánh số của các vị trí axit amin như dùng trong bản mô tả này được dựa trên việc đánh số của các vị trí trong polypeptit HA H3 chiều dài đầy đủ (HA0). Do đó, như dùng trong bản mô tả này, "axit amin tại vị trí 434" dùng để chỉ axit amin tại vị trí 434 trong H3 HA0. Do đó việc đánh số không dùng để chỉ vị trí thực sự của axit amin trong polypeptit thân HA theo sáng chế, do sự làm khuyết của vùng đầu (xem Hình 14).

Ngoài ra, theo các phương án nhất định, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 323 là K và/hoặc axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 326 là K. Theo phương án được ưu tiên, axit amin tại vị trí 323 là K và axit amin tại vị trí 326 là K.

Theo các phương án nhất định, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 339 là T.

Theo các phương án nhất định, axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 438 là E và/hoặc axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 442 là I.

Theo các phương án nhất định, polypeptit thân HA do đó còn chứa một hoặc nhiều đột biến khác nữa trong miền HA1 và/hoặc miền HA2, khi so với polypeptit HA kiểu đại.

Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 323 thành K và/hoặc đột biến của axit amin tương ứng với

axit amin tại vị trí 326 thành K. Các đột biến này làm tăng độ hòa tan và sự biểu hiện của phân tử. Theo phương án khác, polypeptit thân theo sáng chế có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 323 thành K và đột biến của axit amin tại vị trí 326 thành K.

Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 339 thành T. Đột biến này loại bỏ axit amin kỵ nước lộ ra với dung môi trong vòng peptit dung hợp (vòng FP) và bằng cách đó làm tăng độ hòa tan của phân tử.

Theo các phương án được ưu tiên nhất định, axit amin tại vị trí 323 là K, axit amin tại vị trí 326 là K, axit amin tại vị trí 339 là T, axit amin tại vị trí 392 là Y, P hoặc R, tốt hơn là P hoặc R, axit amin tại vị trí 395 là I, axit amin tại vị trí 399 là Y, axit amin tại vị trí 402 là S, axit amin tại vị trí 404 là Q hoặc R, axit amin tại vị trí 434 là Q.

Theo các phương án được ưu tiên nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 323 thành K, đột biến của axit amin tại vị trí 326 thành K, đột biến của axit amin tại vị trí 339 thành T, đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành P hoặc R, đột biến của axit amin tại vị trí 395 thành I, đột biến của axit amin tại vị trí 399 thành Y, đột biến của axit amin tại vị trí 402 thành S, đột biến của axit amin tại vị trí 404 thành Q hoặc R, và đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q.

Theo các phương án được ưu tiên nhất định, axit amin tại vị trí 323 là K, axit amin tại vị trí 326 là K, axit amin tại vị trí 339 là T, axit amin tại vị trí 392 là P hoặc R, axit amin tại vị trí 395 là I, axit amin tại vị trí 399 là Y, axit amin tại vị trí 402 là S, axit amin tại vị trí 404 là Q hoặc R, axit amin tại vị trí 434 là Q, và axit amin tại vị trí 442 là A.

Theo các phương án được ưu tiên nhất định, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 323 thành K, đột biến của axit amin tại vị trí 326 thành K, đột biến của axit amin tại vị trí 339 thành T, đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành P hoặc R, đột biến của axit amin tại vị trí 395 thành I, đột biến của axit amin tại vị trí 399 thành Y, đột biến của axit amin tại vị trí 402 thành S, đột biến của axit amin tại vị trí 404 thành Q hoặc R, và đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q, và đột biến của axit amin tại vị trí 442 thành A.

Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa ít nhất là một đột biến nữa được chọn từ nhóm gồm có đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 438 thành E dưới dạng axit amin tích điện âm thay thế có thể có và đột biến của axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 442 thành I để làm tăng mức độ kỵ nước trong mặt phân cách trime.

Theo sáng chế, polypeptit thân HA là polypeptit HA nhóm 1. Do đó, theo sáng chế, sự cải biến được mô tả trong bản mô tả này được đưa vào trong HA của virus cúm từ nhóm phát sinh loài 1, chẳng hạn như virus cúm có chứa HA của kiểu phụ H1, H2 hoặc H5, dẫn đến polypeptit thân HA theo sáng chế. Theo các phương án nhất định, polypeptit thân HA là polypeptit HA H1. Do đó, theo các phương án nhất định, polypeptit thân HA có nguồn gốc từ HA của virus cúm A có chứa HA của kiểu phụ H1, chẳng hạn như từ virus cúm A/Brisbane/59/2007 (H1N1), với trình tự axit amin SEQ ID NO:1, hoặc A/California/07/09 (H1N1), với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực hiểu rằng polypeptit theo sáng chế cũng có thể có nguồn gốc từ HA của các chủng virus cúm A khác từ nhóm 1, bao gồm nhưng không giới hạn ở A/Texas/UR06-0526/2007 (H1N1) (SEQ ID NO: 3), A/NewYork/629/1995 (H1N1) (SEQ ID NO: 4), A/AA_Marton/1943 (H1N1) (SEQ ID NO: 5), A/Puerto Rico/8/1934 (H1), A/Michigan/45/2015 (H1), A/Adachi/2/57 (H2N2) (SEQ ID NO: 6), A/Singapore/1/57 (H2N2) (SEQ ID NO: 7), hoặc virus cúm có chứa HA của kiểu phụ H5, bao gồm nhưng không giới hạn ở A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) (SEQ ID NO: 8) hoặc A/Hong Kong/156/97 (H5).

Như được mô tả ở trên, polypeptit thân có thể chứa hoặc không chứa trình tự kết nối có 1- 10 gốc axit amin thay thế trình tự HA1 đã được làm khuyết và bằng cách đó kết nối hai phần HA1 còn lại. Theo các phương án nhất định, trình tự kết nối có chứa từ 1 đến 5 axit amin. Theo các phương án nhất định, trình tự kết nối có chứa 2, 3 hoặc 4 axit amin. Trình tự kết nối có thể là trình tự kết nối khác loại, tức là trình tự axit amin mà không có trong HA có trong tự nhiên, hoặc kiểu đại, chẳng hạn như, nhưng không giới hạn ở G, GS, GGG, GSG, GSA, GSGS, GSAG, GGGG, GSAGS, GSGSG, GSAGSA, GSAGSAG, và GSGSGSG.

Theo các phương án được ưu tiên, trình tự kết nối là trình tự kết nối tương đồng, tức là trình tự axit amin có nguồn gốc từ vùng đầu tương ứng đã được làm khuyết chẳng

hạn như, nhưng không giới hạn ở AGSG, AGS, GSG, HAGA, DQEG, DTPV, FPKT, EPGD, EPG, TGNL. TPSS, TPS, ATGN, YPGD.

Theo các phương án được ưu tiên, polypeptit không chứa trình tự kết nối.

Như mô tả ở trên, sự phân cắt của protein HA0 cúm (trong HA1 và HA2) cần thiết cho hoạt tính của nó, làm thuận lợi cho sự đi vào của hệ gen virus vào trong tế bào đích bằng cách gây ra sự dung hợp của màng cơ quan nội bào vật chủ với màng virus.

Theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế có chứa vị trí phân cắt proteaza tự nhiên. Do đó, đã biết rằng trình tự Arg (R) - Gly (G) mở rộng HA1 và HA2 (tức là các vị trí axit amin 329 và 330) là vị trí nhận diện đối với trypsin và proteaza giống trypsin và thường được phân cắt để hoạt hóa hemagglutinin (Hình 1A).

Theo các phương án nhất định, polypeptit không chứa vị trí phân cắt proteaza. Do đó, theo các phương án được ưu tiên nhất định, vị trí phân cắt proteaza đã được loại bỏ bằng đột biến của gốc axit amin tại vị trí 329 thành axit amin bất kỳ không phải là arginin (R) hoặc lysin (K). Theo các phương án nhất định, gốc axit amin tại vị trí 329 không phải là arginin (R). Theo phương án được ưu tiên, polypeptit có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 329 thành glutamin (Q). Do đó, theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế có chứa đột biến bất hoạt vị trí phân cắt R329Q để ngăn chặn sự phân cắt giả định của phân tử trong quá trình sản xuất *in vitro* hoặc *in vivo* sau khi dùng.

Theo phương án khác, polypeptit có chứa vị trí phân cắt đa bazơ, ví dụ như vị trí phân cắt Furin (như được mô tả trong Ví dụ 6). Do đó, polypeptit có thể được phân cắt bằng proteaza giống furin ở trong tế bào để sản xuất mini-HA đã được phân cắt, tương tự với HA đã được xử lý và được cuộn gấp tự nhiên.

Theo các phương án nhất định, polypeptit không chứa trình tự tín hiệu. Trình tự tín hiệu (đôi khi được đề cập đến dưới dạng peptit tín hiệu, tín hiệu nhắm đích, tín hiệu định vị, trình tự định vị, peptit chuyển tiếp, trình tự dẫn đầu hoặc peptit dẫn đầu) là peptit ngắn (thường dài 16-30 axit amin) mà có mặt ở đầu N của phần lớn protein mới được tổng hợp mà được dự định về phía con đường tiết. Trình tự tín hiệu hoạt động để thúc đẩy tế bào di chuyển protein, thường là đến màng tế bào. Trong nhiều trường hợp axit amin có chứa peptit tín hiệu được phân cắt khỏi protein khi đến được đích cuối cùng của

nó. Trong HA cúm, trình tự tín hiệu thường có chứa 16 axit amin đầu tiên của trình tự axit amin của HA0 chiều dài đầy đủ (tương ứng với axit amin từ vị trí -6 đến vị trí 10 theo đánh số H3).

Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa (một phần của) trình tự tín hiệu. Polypeptit có thể có chứa (một phần của) trình tự tín hiệu kiểu đại hoặc có thể có chứa (một phần của) trình tự tín hiệu thay thế, chẳng hạn như, nhưng không giới hạn ở trình tự tín hiệu được chọn từ nhóm của:

MGSTAILGLLLAVLQGVCA (SEQ ID NO: 136) và

MGMTSALLALLALALKPGAWA (SEQ ID NO: 137).

Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa miền HA2 bao gồm miền xuyên màng và miền tế bào chất (tương ứng với trình tự axit amin bắt đầu với axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 515 đến và bao gồm axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 550 (đánh số H3)).

Để sản xuất polypeptit thân được tiết ra (hòa tan), theo các phương án nhất định polypeptit không chứa miền xuyên màng và miền tế bào chất. Do đó, theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa miền HA2 được cắt cụt, cụ thể là miền HA2 mà được cắt cụt tại đầu C. Miền HA2 được cắt cụt theo sáng chế do đó ngắn hơn trình tự HA2 chiều dài đầy đủ, bằng sự làm khuyết của một hoặc nhiều gốc axit amin tại đầu C của miền HA2.

Theo các phương án nhất định, phần đầu C của miền HA2 bắt đầu với axit amin tương ứng với axit amin tại vị trí 516 đã được làm khuyết, do đó về cơ bản loại bỏ toàn bộ miền xuyên màng và miền tế bào chất.

Theo các phương án nhất định, ngoài ra một phần của xoắn đầu C đã được làm khuyết. Theo sáng chế đã phát hiện ra rằng ngay cả khi phần lớn hơn của miền HA2 được làm khuyết, polypeptit thân HA hòa tan ổn định có thể được tạo ra. Do đó, theo các phương án nhất định, phần đầu C của miền HA2 bắt đầu ở trình tự axit amin tại vị trí 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514 hoặc 515 đã được làm khuyết (cũng đánh số theo đánh số H3 như được mô tả bởi Winter et al., *nêu trên*) để sản xuất polypeptit hòa tan sau khi biểu hiện trong tế bào (Hình 12).

Theo phương án được ưu tiên, phần đầu C của miền HA2 từ vị trí tương ứng với 516 đã được làm khuyết.

Một cách tùy ý, trình tự axit amin khác loại (tức là trình tự axit amin mà không có trong tự nhiên trong HA cúm) đã được liên kết với miền HA2 (đã được cắt cụt).

Do đó, theo các phương án nhất định, trình tự đuôi His, ví dụ như HHHHHH (SEQ ID NO: 113) hoặc HHHHHHH (SEQ ID NO: 114.), hoặc đuôi FLAG (DYKDDDDK) (SEQ ID NO: 115) hoặc dạng kết hợp của chúng được liên kết với axit amin đầu C của miền HA2 (tùy ý đã được cắt cụt) nhằm mục đích phát hiện và/hoặc tinh chế. Theo các phương án nhất định, trình tự axit amin khác loại, chẳng hạn như trình tự đuôi His, có thể được nối với miền HA2 (đã được cắt cụt) thông qua cầu nối. Theo các phương án nhất định, cầu nối có thể chứa (một phần của) vị trí phân cắt phân giải protein, ví dụ như trình tự axit amin IEGR (SEQ ID NO: 116) hoặc LVPRGS (SEQ ID NO: 117) để loại bỏ bằng enzym trình tự đuôi His sau khi tinh chế.

Theo các phương án nhất định, trình tự axit amin khác loại mà được liên kết với axit amin đầu C của miền HA2 (đã được cắt cụt) có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có:

GYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFL (foldon), (SEQ ID NO: 118),

SGRDYKDDDDKLVPBGSPGSGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGHHH
HHH (Flag – Foldon – đuôi His), (SEQ ID NO: 119),

SGRDYKDDDDKPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHHH
HHH (FLAG- cầu nối GS – đuôi His), (SEQ ID NO: 120),

EGRAAAGGSGGGGSMVFTLEDFVGDWRQTAGYNLDQVLEQGGVSSLFQNLG
VSVTPIQRIVLSENGLKIDIHVIIPYEGLSGDQMGQIEKIFKVVYPVDDHHFKV
ILHYGTLVIDGVTPNMIDYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLINP
DGSLLFRVTINGVTGWRLCERILAAAWSHPPQFEKGAAWSHPPQFEKGAAWS
HPQFEK (Nanoluc – đuôi Strep), (SEQ ID NO: 121),

EGRAAAGGSGGGGSMVFTLEDFVGDWRQTAGYNLDQVLEQGGVSSLFQNLG
VSVTPIQRIVLSENGLKIDIHVIIPYEGLSGDQMGQIEKIFKVVYPVDDHHFKV
ILHYGTLVIDGVTPNMIDYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLINP

trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 61;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 62;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 63;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-230 nêu trong SEQ ID NO: 64;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 65;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-232 nêu trong SEQ ID NO: 66;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-233 nêu trong SEQ ID NO: 67;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 68;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-235 nêu trong SEQ ID NO: 69;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-236 nêu trong SEQ ID NO: 70;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-237 nêu trong SEQ ID NO: 71;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-238 nêu trong SEQ ID NO: 72;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 73;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 74;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-228 nêu trong SEQ ID NO: 75;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-229 nêu trong SEQ ID NO: 76;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-230 nêu trong SEQ ID NO: 77;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 78;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-232 nêu trong SEQ ID NO: 79;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-233 nêu trong SEQ ID NO: 80;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 81;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-235 nêu trong SEQ ID NO: 82;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 83;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-233 nêu trong SEQ ID NO: 84;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-235 nêu trong SEQ ID NO: 85;

trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-233 nêu trong SEQ ID NO: 86;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 87;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-233 nêu trong SEQ ID NO: 88;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 89;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 90;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 91;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 92;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 93;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 94;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 95;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 96;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-233 nêu trong SEQ ID NO: 97;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 98;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 99;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-232 nêu trong SEQ ID NO: 100;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-237 nêu trong SEQ ID NO: 101;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-238 nêu trong SEQ ID NO: 102;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 103;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 104;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-237 nêu trong SEQ ID NO: 105;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 106;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-237 nêu trong SEQ ID NO: 107;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 108;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 109;
trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 110;

trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-237 nêu trong SEQ ID NO: 111;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-237 nêu trong SEQ ID NO: 112;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-234 nêu trong SEQ ID NO: 135;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 18-248 nêu trong SEQ ID NO: 147;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 18-248 nêu trong SEQ ID NO: 148;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 18-248 nêu trong SEQ ID NO: 149;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 17-247 nêu trong SEQ ID NO: 150;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 17-247 nêu trong SEQ ID NO: 151;
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 16-246 nêu trong SEQ ID NO: 152;
 hoặc
 trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 18-248 nêu trong SEQ ID NO: 153.

Theo phương án được ưu tiên, polypeptit có chứa trình tự axit amin có chứa ít nhất là các axit amin 1-231 nêu trong SEQ ID NO: 103, 104, 109 hoặc 110.

Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 31, 31, 52-112 và 135.

Theo phương án được ưu tiên, polypeptit có chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO: 103, 104, 109 và 110.

Theo các phương án nhất định, polypeptit được glycosyl hóa khi được biểu hiện trong tế bào thích hợp (ví dụ như tế bào động vật có vú). Polypeptit có thể chứa một hoặc nhiều mô típ glycosyl hóa tự nhiên. Theo các phương án nhất định, polypeptit có chứa ít nhất là một mô típ glycosyl hóa khác/được đưa vào. Theo các phương án nhất định, ít nhất là một mô típ glycosyl hóa được đưa vào bằng đột biến của axit amin tại vị trí 402 thành S. Đột biến này sẽ đưa vào mô típ glucosyl hóa được liên kết n tại vị trí 400.

Polypeptit cũng có thể được dùng kết hợp với hoặc được liên hợp với hạt nano, chẳng hạn như ví dụ như polyme, liposom, virosom, hạt giống virus. Polypeptit có thể được kết hợp với, được bao vỏ trong hoặc được liên hợp (ví dụ như được liên kết hoặc được hấp phụ cộng hóa trị) với hạt nano

Sáng chế còn đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân HA cúm theo sáng chế. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực hiểu rằng nhiều phân tử axit nucleic khác nhau có thể mã hóa cho cùng một polypeptit như là kết quả của sự thoái hóa mã di truyền. Cũng cần hiểu rằng người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể sử dụng các kỹ thuật thông thường để tạo ra các sự thể nucleotit không ảnh hưởng đến trình tự polypeptit được mã hóa bởi các polynucleotit đã được mô tả để phản ánh việc sử dụng bộ ba mã hóa của sinh vật chủ cụ thể bất kỳ trong đó polypeptit được biểu hiện. Do đó, trừ khi được quy định cụ thể khác, "phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin" bao gồm tất cả các trình tự nucleotit mà là các phiên bản suy biến của nhau và mã hóa cùng trình tự axit amin.

Theo các phương án nhất định, phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân HA cúm được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện ở tế bào động vật có vú, chẳng hạn như tế bào người. Các phương pháp tối ưu hóa bộ ba mã hóa đã được biết và mô tả trước đây (ví dụ WO 96/09378).

Theo các phương án nhất định, phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân HA cúm có chứa trình tự axit nucleic được chọn từ SEQ ID NO: 138-145.

Các polypeptit miễn thân hemagglutinin của virus cúm này có thể được điều chế theo kỹ thuật bất kỳ được xem là phù hợp với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, bao gồm các kỹ thuật mô tả dưới đây. Do đó, polypeptit theo sáng chế có thể được tổng hợp dưới dạng trình tự ADN bằng các phương pháp tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực và được tách dòng và sau đó được biểu hiện, *in vitro* hoặc *in vivo*, bằng cách sử dụng enzym giới hạn và phương pháp thích hợp đã biết trong lĩnh vực.

Sáng chế còn đề cập đến vectơ có chứa phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit theo sáng chế. Theo các phương án nhất định, phân tử axit nucleic theo sáng chế do đó là một phần của vectơ, ví dụ như plasmit. Vectơ này có thể được thao tác dễ dàng bằng phương pháp đã biết rõ đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực, và ví dụ như được thiết kế để có khả năng sao chép trong tế bào nhân sơ và/hoặc nhân chuẩn. Vectơ được sử dụng có thể là vectơ bất kỳ mà thích hợp để tách dòng ADN và có thể được sử dụng để phiên mã axit nucleic được quan tâm. Khi tế bào chủ được sử dụng, ưu tiên là vectơ là vectơ tích hợp. Theo cách khác, vật truyền này có thể là vật truyền sao chép thể bổ sung. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có khả năng lựa chọn các vật

truyền biểu hiện phù hợp, và chèn các trình tự axit nucleic theo sáng chế theo cách có chức năng. Để thu được sự biểu hiện của các trình tự axit nucleic mã hóa polypeptit, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết rằng các trình tự có khả năng điều khiển sự biểu hiện có thể được nối theo cách có chức năng với các trình tự axit nucleic mã hóa polypeptit, tạo thành các phân tử axit nucleic tái tổ hợp mã hóa protein hoặc polypeptit ở dạng biểu hiện được. Các trình tự điều khiển sự biểu hiện có thể bao gồm trình tự khởi đầu phiên mã, trình tự tăng cường và tương tự, và sự kết hợp của chúng. Các trình tự này có khả năng hoạt động trong tế bào chủ, qua đó điều khiển sự biểu hiện của các trình tự axit nucleic mà được nối theo cách có chức năng với chúng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết các vùng khởi động khác nhau có thể được sử dụng để thu được sự biểu hiện của gen trong tế bào chủ. Các trình tự khởi đầu phiên mã có thể cấu thành hoặc được điều hòa, và có thể thu được từ các nguồn khác nhau, bao gồm nguồn virus, nhân sơ hoặc nhân chuẩn, hoặc được thiết kế nhân tạo. Sự biểu hiện của các axit nucleic quan tâm có thể là từ trình tự khởi đầu phiên mã tự nhiên hoặc dẫn xuất của nó hoặc từ trình tự khởi đầu phiên mã hoàn toàn khác loài (Kaufman, 2000). Một số vùng khởi động đã biết rõ và được sử dụng nhiều để biểu hiện trong tế bào nhân chuẩn có chứa vùng khởi động có nguồn gốc từ các virus, như adenovirus, ví dụ vùng khởi động E1A, vùng khởi động có nguồn gốc từ cytomegalovirus (CMV), như vùng khởi động sớm qua trung gian (IE) CMV (được gọi trong bản mô tả này là vùng khởi động CMV) (có thể thu được chẳng hạn từ pcDNA, Invitrogen), vùng khởi động có nguồn gốc từ virus khi 40 (SV40) (Das et al, 1985), và dạng tương tự. Vùng khởi động thích hợp cũng có thể có nguồn gốc từ tế bào nhân chuẩn, chẳng hạn như vùng khởi động methallothionein (MT), vùng khởi động yếu tố kéo dài 1 α (Ef-1 α) (Gill et al., 2001), vùng khởi động ubiquitin C hoặc UB6 (Gill et al., 2001), vùng khởi động actin, vùng khởi động globulin miễn dịch, vùng khởi động sốc nhiệt, và dạng tương tự. Thử nghiệm về chức năng và chiều dài của trình tự khởi đầu phiên mã là vấn đề thông thường đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, và nhìn chung có thể chẳng hạn bao gồm tách dòng gen thử nghiệm như lacZ, luxiferaza, GFP, v.v. nằm sau trình tự trình tự khởi đầu phiên mã, và thử nghiệm về sự biểu hiện của gen thử nghiệm. Tất nhiên, các trình tự khởi đầu phiên mã có thể được làm thay đổi bằng cách làm khuyết, thêm, gây đột biến về trình tự trong đó, và được thử nghiệm về chức năng, để tìm ra các trình tự khởi đầu phiên mã mới, được làm yếu hoặc được cải

thiện. Theo sáng chế, việc chọn lựa các trình tự khởi đầu phiên mã mạnh tạo ra mức độ phiên mã cao trong tế bào nhân chuẩn được ưu tiên.

Các cấu trúc này có thể được chuyển nhiễm vào tế bào nhân chuẩn (ví dụ tế bào thực vật, nấm, nấm men hoặc động vật) hoặc hệ biểu hiện nhân sơ phù hợp như *E. coli* bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Trong một số trường hợp trình tự 'đuôi' thích hợp (chẳng hạn như ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, đuôi his, đuôi myc, đuôi strep, sortase, hoặc đuôi flag) hoặc protein hoàn chỉnh (chẳng hạn như ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, protein liên kết maltoza hoặc glutathion S transferaza) có thể được bổ sung vào các trình tự theo sáng chế, như được mô tả ở trên, để cho phép tinh chế và/hoặc nhận dạng các polypeptit từ tế bào hoặc dịch nổi bề mặt. Tùy ý, trình tự chứa vị trí phân giải protein đặc hiệu có thể được bao gồm để sau đó loại bỏ đuôi bằng cách phân giải protein.

Theo các phương án được ưu tiên, polypeptit được sản xuất trong tế bào động vật có vú.

Các polypeptit tinh sạch có thể được phân tích bằng phương pháp quang phổ đã biết trong lĩnh vực (ví dụ phương pháp quang phổ lượng sắc vòng, phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier và phương pháp quang phổ NMR hoặc tinh thể học tia X) để kiểm tra sự có mặt của cấu trúc mong muốn như chuỗi cuộn xoắn và dải beta. ELISA, AlphaLISA, phép đo cản trở lớp sinh học (Octet) và FACS và dạng tương tự có thể được sử dụng để khảo sát sự liên kết của polypeptit theo sáng chế với kháng thể trung hòa rộng, chẳng hạn như CR6261 và/hoặc CR9114. Do đó, các polypeptit theo sáng chế có cấu hình chính xác có thể được chọn lọc. Hàm lượng trimer có thể được phân tích ví dụ như bằng sử dụng điện di gel trên SDS trong điều kiện không khử, sắc ký loại trừ kích thước trong sự có mặt của mảnh Fab kháng thể của kháng thể trung hòa rộng, chẳng hạn như CR6261 và/hoặc CR9114, cũng như là AlphaLISA bằng cách sử dụng các kháng thể được gắn nhãn khác nhau. Độ ổn định của polypeptit có thể được đánh giá như mô tả ở trên sau căng thẳng nhiệt độ, các chu kỳ kết đông-rã đông, nồng độ protein tăng, hoặc khuấy trộn. Nhiệt độ nóng chảy của polypeptit có thể được đánh giá thêm bằng Phép Đo Huỳnh Quang Quét Vi Sai (DSF) và/hoặc Phép Đo Nhiệt Lượng Quét Vi Sai (DSC).

Theo các phương án nhất định, vector là adenovirus tái tổ hợp người. Do đó sáng chế còn đề xuất vector adenovirus tái tổ hợp có chứa phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân HA theo sáng chế. Theo phương án được ưu tiên, phân tử axit nucleic mã hóa cho polypeptit thân có chứa trình tự axit nucleic được chọn từ nhóm gồm có SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144 và SEQ ID NO: 145.

Việc điều chế vector adenovirus tái tổ hợp đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Thuật ngữ 'tái tổ hợp' đối với adenovirus, như được sử dụng ở đây nghĩa là nó được biến đổi bởi bàn tay con người, ví dụ đã sửa đổi đầu tận cùng được tách dòng hoạt tính trong đó và/hoặc chứa gen khác loài, tức là không phải là adenovirus kiểu dại có trong tự nhiên. Theo các phương án nhất định, vector adenovirus theo sáng chế thiếu hụt ít nhất một chức năng gen thiết yếu của vùng E1, ví dụ vùng E1a và/hoặc vùng E1b, của hệ gen adenovirus cần thiết cho sự sao chép của virus. Theo các phương án nhất định, vector adenovirus theo sáng chế thiếu hụt ít nhất một phần của vùng E3 không thiết yếu. Theo các phương án nhất định, vector thiếu hụt ít nhất một chức năng gen thiết yếu của vùng E1 và ít nhất một phần của vùng E3 không thiết yếu. Vector adenovirus có thể là "thiếu hụt gấp bội," nghĩa là vector adenovirus là thiếu trong một hoặc nhiều chức năng gen cơ bản trong mỗi vùng hai hoặc nhiều vùng của bộ gen adenovirus. Ví dụ, vector adenovirus thiếu E1- hoặc E1-, thiếu E3- có thể còn thiếu trong ít nhất một gen cơ bản của vùng E4 và/hoặc ít nhất một gen cơ bản của vùng E2 (ví dụ, vùng E2A và/hoặc vùng E2B). Vector adenovirus, phương pháp tạo cấu trúc của nó và phương pháp nhân giống nó, đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trong, ví dụ, các Bảng Sáng Chế Mỹ số 5,559,099, 5,837,511, 5,846,782, 5,851,806, 5,994,106, 5,994,128, 5,965,541, 5,981,225, 6,040,174, 6,020,191, và 6,113,913.

Theo các phương án nhất định, adenovirus là adenovirus ở người có kiểu huyết thanh 26 hoặc 35.

Sáng chế còn đề xuất được phẩm có chứa polypeptit, axit nucleic, và/hoặc vector theo sáng chế, và chất mang được dụng. Sáng chế đề cập cụ thể đến được phẩm có chứa lượng hữu hiệu để điều trị của polypeptit, axit nucleic, và/hoặc vector theo sáng chế. Được phẩm này còn chứa chất mang được dụng. Trong phạm vi của sáng chế, thuật ngữ "được dụng" có nghĩa là chất mang, với liều dùng và nồng độ được sử dụng, sẽ không gây ra các tác dụng không mong muốn hoặc có hại cho đối tượng dùng các chất mang

này. Các chất mang và tá dược được dụng này là đã biết trong lĩnh vực (xem Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. R. Gennaro, Ed., Mack Publishing Company [1990]; Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins, S. Frokjaer and L. Hovgaard, Eds., Taylor & Francis [2000]; và Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd edition, A. Kibbe, Ed., Pharmaceutical Press [2000]). Thuật ngữ "chất mang" dùng để chỉ chất pha loãng, tá dược, hoặc tá dược lỏng mà polypeptit, axit nucleic, và/hoặc vector được dùng với nó. Dung dịch nước muối và dung dịch nước dextroza và dung dịch glyxerol có thể ví dụ được sử dụng làm chất mang lỏng, cụ thể là làm các dung dịch tiêm được.

Sáng chế còn đề cập đến polypeptit, axit nucleic, và/hoặc vector như được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng làm thuốc.

Sáng chế đề cập cụ thể đến polypeptit, axit nucleic, và/hoặc vector như được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng trong việc gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại virus cúm.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp gây cảm ứng đáp ứng miễn dịch chống lại virus cúm A ở đối tượng cần chúng, phương pháp này có chứa bước dùng cho đối tượng này, polypeptit, phân tử axit nucleic và/hoặc vector như được mô tả ở trên. Đối tượng theo sáng chế tốt hơn là động vật có vú mà có khả năng bị lây nhiễm virus cúm, hoặc theo cách khác có thể hưởng lợi từ sự gây ra đáp ứng miễn dịch, đối tượng này ví dụ như là động vật gặm nhấm, ví dụ như chuột nhắt, chồn sương, hoặc động vật nuôi hoặc trang trại, hoặc động vật linh trưởng không phải là người, hoặc người. Tốt hơn nếu, đối tượng là đối tượng người.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp gây cảm ứng đáp ứng miễn dịch chống lại virus cúm A nhóm 1. Đáp ứng miễn dịch có thể có chứa đáp ứng miễn dịch thể dịch (tức là gây cảm ứng kháng thể trung hòa virus cúm) và/hoặc đáp ứng miễn dịch tế bào. Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp gây cảm ứng đáp ứng miễn dịch chống lại ít nhất là hai, ba, bốn, năm hoặc sáu kiểu phụ của virus cúm A. Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp gây cảm ứng đáp ứng miễn dịch chống lại virus cúm có chứa HA của kiểu phụ H1.

Theo các phương án nhất định, đáp ứng miễn dịch được gây cảm ứng hữu hiệu để ngăn chặn và/hoặc điều trị sự lây nhiễm virus cúm gây ra bởi virus cúm A nhóm 1, chẳng hạn như virus cúm A có chứa HA của kiểu phụ H1, và/hoặc virus cúm A có chứa HA của kiểu phụ H2, và/hoặc virus cúm A có chứa HA của kiểu phụ H5. Theo các phương án nhất định, đáp ứng miễn dịch được gây cảm ứng hữu hiệu để ngăn chặn và/hoặc điều trị sự lây nhiễm virus cúm gây ra bởi virus cúm A có chứa HA của kiểu phụ H1.

Sáng chế còn đề cập đến polypeptit, axit nucleic, và/hoặc vector như được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng làm vắc xin cúm.

Theo các phương án nhất định, polypeptit, phân tử axit nucleic và/hoặc vector theo sáng chế được dùng kết hợp với tá dược. Tá dược có thể được dùng trước, cùng lúc, hoặc sau khi dùng polypeptit, phân tử axit nucleic và/hoặc vector theo sáng chế. Ví dụ về chất bổ trợ thích hợp bao gồm muối nhôm chẳng hạn như nhôm hydroxit và/hoặc nhôm phosphat; hợp phần dầu-nhũ tương (hoặc hợp phần dầu-trong-nước), bao gồm nhũ tương squalen-nước, chẳng hạn như MF59 (ví dụ xem WO 90/14837); chế phẩm saponin, chẳng hạn như ví dụ QS21 và Phức Hợp Kích Thích Miễn Dịch (ISCOMS) (ví dụ xem US 5,057,540; WO 90/03184, WO 96/11711, WO 2004/004762, WO 2005/002620); dẫn xuất vi khuẩn hoặc vi sinh vật, ví dụ về chúng là monophosphoryl lipid A (MPL), MPL được 3-O-đeoxy hóa (3dMPL), CpG-motif có chứa oligonucleotit, độc tố vi khuẩn ADP-ribosyl hóa hoặc các thể đột biến của chúng, chẳng hạn như độc tố trong ruột không bền nhiệt E. coli LT, độc tố tả CT, độc tố chứng ho lâu ngày PT, hoặc biến độc tố uốn ván TT, Chất nền M, hoặc dạng kết hợp của chúng. Ngoài ra, các kỹ thuật làm cho có khả năng miễn dịch đã biết có thể được sử dụng, như dung hợp polypeptit theo sáng chế với các protein đã biết trong lĩnh vực để tăng cường đáp ứng miễn dịch (ví dụ độc tố uốn ván, CRM197, rCTB, flagellin từ vi khuẩn hoặc các protein khác) hoặc bao gồm polypeptit trong virosom, hoặc kết hợp các kỹ thuật này.

Việc dùng các polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector theo sáng chế có thể được tiến hành bằng cách sử dụng các đường dùng tiêu chuẩn. Các ví dụ không giới hạn bao gồm sử dụng ngoài đường tiêu hóa, như trong mạch, trong da, qua da, trong cơ, dưới da, v.v., hoặc sử dụng ở niêm mạc, ví dụ trong mũi, miệng và tương tự. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực có khả năng xác định các khả năng khác nhau để dùng

polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector theo sáng chế, để gây ra đáp ứng miễn dịch.

Theo các phương án nhất định, polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector được dùng hơn một lần, tức là trong cái gọi là phác đồ môi-tăng cường tương đồng. Việc dùng liều thứ hai có thể được thực hiện, ví dụ như, một tuần sau khi dùng liều thứ nhất, hai tuần sau khi dùng liều thứ nhất, ba tuần sau khi dùng liều thứ nhất, một tháng sau khi dùng liều thứ nhất, sáu tuần sau khi dùng liều thứ nhất, hai tháng sau khi dùng liều thứ nhất, 3 tháng sau khi dùng liều thứ nhất, hoặc 4 tháng hoặc lâu hơn sau khi dùng liều thứ nhất, v.v., lên đến một vài năm sau khi dùng liều thứ nhất của polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector theo sáng chế. Cũng có thể dùng polypeptit, phân tử axit nucleic và/hoặc vector hơn hai lần, ví dụ như ba lần, bốn lần, v.v., sao cho lần dùng môi thứ nhất được theo sau bởi hơn một lần dùng tăng cường.

Polypeptit, phân tử axit nucleic, và/hoặc vector cũng có thể được dùng, dưới dạng môi, hoặc dưới dạng tăng cường, trong chế độ môi-tăng cường khác loại.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp ngăn ngừa và/hoặc điều trị, tốt hơn là ngăn ngừa, bệnh virus cúm ở đối tượng cần chúng, có chứa dùng cho đối tượng này polypeptit, phân tử axit nucleic và/hoặc vector như được mô tả trong bản mô tả này. Lượng hữu hiệu để điều trị dùng để chỉ lượng của polypeptit, axit nucleic, và/hoặc vector mà hữu hiệu để ngăn ngừa, cải thiện và/hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh bắt nguồn từ sự lây nhiễm virus cúm. Phòng ngừa bao gồm việc làm ức chế hoặc làm giảm sự phát tán của virus cúm hoặc ức chế hoặc làm giảm sự khởi phát, phát triển hoặc tiến triển của một hoặc nhiều triệu chứng đi kèm với nhiễm virus cúm. Việc làm thuyên giảm như được sử dụng ở đây có thể chỉ việc làm thuyên giảm các triệu chứng bệnh nhìn thấy được hoặc quan sát được, sự xâm nhiễm và phát triển trong máu của virus (viremia), hoặc sự biểu hiện khác có thể đánh giá được của nhiễm virus cúm.

Đối tượng cần điều trị bao gồm đối tượng mà đã bị tình trạng bệnh bắt nguồn từ sự lây nhiễm virus cúm, cũng như là những người mà sự lây nhiễm virus cúm cần được ngăn chặn. Polypeptit, axit nucleic và/hoặc vector theo sáng chế do đó có thể được dùng cho đối tượng chưa quen thí nghiệm, tức là, đối tượng không mắc bệnh gây ra bởi sự nhiễm virus cúm hoặc chưa và hiện tại không bị ảnh hưởng bởi sự nhiễm virus cúm, hoặc cho đối tượng đã nhiễm virus cúm.

Theo một phương án, phòng ngừa và/hoặc điều trị có thể hướng đến nhóm người bệnh dễ bị nhiễm virus cúm. Nhóm bệnh nhân này bao gồm, nhưng không giới hạn ở ví dụ như, người già (ví dụ như ≥ 50 tuổi, ≥ 60 tuổi, và tốt hơn là ≥ 65 tuổi), người trẻ (ví dụ như ≤ 5 tuổi, ≤ 1 tuổi), bệnh nhân đã nhập viện, đối tượng đã thỏa hiệp miễn dịch, và bệnh nhân đã được điều trị bằng hợp chất kháng virus nhưng thể hiện đáp ứng kháng virus không thỏa đáng.

Polypeptit, phân tử axit nucleic và/hoặc vector theo sáng chế có thể được dùng cho đối tượng kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất khác, chẳng hạn như vắc xin cúm thay thế, kháng thể đơn dòng, chất kháng virus, chất kháng khuẩn, và/hoặc chất điều biến miễn dịch. Một hoặc nhiều tác nhân hoạt tính khác có thể có lợi trong điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh do virus cúm hoặc có thể làm thuyên giảm triệu chứng hoặc tình trạng bệnh lý đi kèm với bệnh do virus cúm. Theo một số phương án, một hoặc nhiều tác nhân hoạt tính khác là thuốc giảm đau, thuốc chống sốt, hoặc các thuốc điều trị làm giảm hoặc hỗ trợ thở.

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

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Điều chế polypeptit dựa trên thân theo sáng chế

Trong WO2013/079473, loạt thứ nhất của polypeptit thân hemagglutinin cúm, hợp phần và vắc xin và phương pháp sử dụng chúng để ngăn ngừa và/hoặc điều trị cúm, được mô tả, bao gồm polypeptit H1-mini2-cụm 1+5+6-GCN, đều dưới dạng liên kết màng (với miền xuyên màng tự nhiên, SEQ ID NO: 45 trong WO2013/079473) và dưới dạng hòa tan của chúng, s-H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4 (không có miền xuyên màng tự nhiên, SEQ ID NO: 145 trong WO2013/079473).

Trong WO2014/191435, các polypeptit thân khác có nguồn gốc từ HA chiều dài đầy đủ của H1N1 A/Brisbane/59/2007 được mô tả, mà có chứa đột biến khác nữa khi so với H1-mini2-cụm1+5+6-GCN4, và cũng trình diện ổn định epitop trung hòa rộng của CR6261 và/hoặc CR9114.

Các polypeptit thân này đều được tạo ra bằng cách làm khuyết miền đầu từ HA1, cụ thể là vùng có chứa axit amin bắt đầu từ vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí

306, và thay thế vùng đã bị làm khuyết bằng cầu nối, như được mô tả trong WO2013/079473. Lưu ý rằng trong WO2013/079473, việc đánh số của các vị trí axit amin được dựa trên việc đánh số của HA chiều dài đầy đủ của cúm A/Brisbane/59/2007 (tức là SEQ ID NO: 1 trong WO2013/079473), trong khi đó trong sáng chế này sự đánh số H3 bằng Winter et al. được sử dụng.

Sự loại bỏ của miền đầu để lại một phần của phân tử mà đã được che chắn trước đó khỏi dung môi nước bị lộ ra, bằng cách đó khử ổn định cấu trúc của polypeptit theo sáng chế. Vì lí do này, một hoặc nhiều gốc axit amin trong vòng B, tức là vùng có chứa các axit amin 385-404 (Hình 1C) được gây đột biến để làm ổn định polypeptit. Tương tự, trong khu vực xung quanh peptit dung hợp một số lượng các gốc kỵ nước được bộc lộ với dung môi, gây ra bởi thực tế rằng, không giống như HA chiều dài đầy đủ tự nhiên, các polypeptit không thể bị phân cắt và trải qua sự thay đổi hình dạng kết hợp mà che giấu peptit dung hợp kỵ nước ở bên trong của protein. Để giải quyết vấn đề này một số hoặc tất cả các gốc axit amin kỵ nước tại vị trí 323, 326, và 339 được gây đột biến thành các gốc ưa nước khi so với HA chiều dài đầy đủ kiểu dại từ A/Brisbane/59/2007.

Ngoài ra, polypeptit kháng với sự phân cắt proteaza bằng đột biến của vị trí phân cắt tự nhiên, ví dụ như bằng đột biến của axit amin tại vị trí 329 thành Q.

Trong WO2016/005480 loạt khác của polypeptit thân được mô tả, trong đó trình tự có nguồn gốc từ GCN4 RMKQIEDKIEEIESK (SEQ ID NO: 18) được đưa vào tại vị trí 405 đến 419, chẳng hạn như ví dụ như các polypeptit được ký hiệu là 127H1-t2, s127H1-t2, và s127H1-t2long, có nguồn gốc từ A/Brisbane/59/2007. Ngoài ra, polypeptit thân có cùng sự cải biến được tạo ra bằng cách sử dụng HA từ các chủng cúm khác nhau, ví dụ như polypeptit dựa trên HA có nguồn gốc từ chủng H1N1 A/California/07/09, chẳng hạn như smH1Cali3964-127H1-t2, và mH1 Cali3964-127H1-t2.

Trong WO2016/005482 sự đưa vào của cầu xystein liên monome được mô tả, dẫn đến lượng tăng lên của polypeptit thân dạng trime, bao gồm polypeptit được ký hiệu là 127H1-t2-cl18 (còn được đề cập đến dưới dạng 5367), và phiên bản hòa tan 127H-t2-cl18long, mà được dựa trên HA của A/Brisbane/59/2007 cúm. Các polypeptit tương tự được thiết kế dựa trên ví dụ như HA của virus cúm A/California/07/09, ví dụ như polypeptit được ký hiệu là mH1 Cali3964-127H1-t2-cl18 (còn được đề cập đến dưới

dạng 5369) và smH1 Cali3964-127H1-t2-cl18long. Các polypeptit thân này có chứa không kể những cái khác sự làm khuyết của vùng đầu có chứa axit amin bắt đầu từ vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306, trong đó miền HA1 thu được được liên kết thông qua cầu nối có 4-axit amin (GGGG); trình tự có nguồn gốc từ GCN4 RMKQIEDKIEEIESK (SEQ ID NO: 18) được đưa vào trong miền HA2 tại vị trí 405-419; và đột biến của axit amin tại vị trí 329 thành Q để tạo ra polypeptit kháng với sự phân cắt proteaza. Các polypeptit này còn chứa đột biến của axit amin tại vị trí 397 thành C và đột biến của axit amin tại vị trí 405 thành C (tức là axit amin thứ nhất của trình tự GCN4), do đó tạo thành cầu xystein liên monome giữa xystein tại vị trí 397 của monome thứ nhất và axit amin tại vị trí 405 của monome thứ hai.

Trong nghiên cứu mà dẫn đến sáng chế này, polypeptit thân đã được mô tả trước đây được tối ưu hóa. Trình tự axit amin của HA kiểu đại có nguồn gốc từ A/Brisbane/59/2007 và hoặc A/California/07/09 là các trình tự lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 1 và 2. Các polypeptit UFV5367 (SEQ ID NO: 16) và UFV5369 (SEQ ID NO: 17) được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng "các chủng/cấu trúc ban đầu" (được thể hiện bằng sơ đồ lần lượt trên Hình 2 và Hình 3).

Các polypeptit thân HA mới, bao gồm ví dụ như UFV150558 (SEQ ID NO: 30) và UFV150850 (SEQ ID NO: 53) do đó được thiết kế, mà có chứa sự cải biến thêm khi so với các polypeptit thân đã được mô tả trước đây UFV5367 (SEQ ID NO: 16) và UFV5369 (SEQ ID NO: 17). Cụ thể là, các polypeptit UFV150558 và UFV150850 có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 392 trong vòng B thành P hoặc R, kết hợp với đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q, hoặc đột biến của axit amin tại vị trí 392 trong vòng B thành P hoặc R, kết hợp với đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q và đột biến tại vị trí 442 thành A.

Ngoài ra, các polypeptit thân khác được thiết kế trong đó không có cầu nối nhân tạo được sử dụng để thay thế vùng đầu đã được làm khuyết. Các polypeptit thân UFV160655 (SEQ ID NO: 103), UFV160656 (SEQ ID NO: 104), UFV160664 (SEQ ID NO: 109) và UFV160665 (SEQ ID NO: 110) có chứa sự làm khuyết của vùng đầu từ axit amin tại vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306, do đó để lại phần thứ nhất của miền HA1 có chứa axit amin đến và bao gồm axit amin 46, và phần thứ hai của miền HA1 có chứa axit amin bắt đầu từ axit amin tại vị trí 307 lên đến axit amin đầu C

của miền HA1 (tức là axit amin tại vị trí 329). Phần HA1 thứ nhất được liên kết trực tiếp với phần HA1 thứ hai sau khi làm khuyết đầu, tức là axit amin còn lại tại vị trí 46 (axit amin đầu C của phần thứ nhất của miền HA1) được nối trực tiếp với axit amin còn lại tại vị trí 307 (axit amin đầu N của phần thứ hai của miền HA1). Không có cầu nối nhân tạo được đưa vào (xem Hình 1A, cấu trúc phía dưới). Peptit còn chứa đột biến khác nữa của axit amin tại vị trí 392 trong vòng B thành P hoặc R, kết hợp với đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q, hoặc kết hợp với đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q và đột biến tại vị trí 442 thành A (như được thể hiện bằng sơ đồ trên Hình 4).

Ví dụ 2: Sự biểu hiện của polypeptit theo sáng chế

Sự biểu hiện protein trong tế bào động vật có vú

Các mảnh ADN mã hóa cho polypeptit theo sáng chế UFV150558, UFV150850, UFV160655, UFV160656, UFV160664 và UFV160665) được tổng hợp (Genscript) và được tách dòng trong plasmit pcDNA2004 (vector pcDNA3 được cải biến nội bộ với vùng khởi động CMV được tăng cường). Polypeptit được sản xuất trong tế bào HEK293F được nuôi cấy trong môi trường Freestyle™ bằng sự chuyển nạp tạm thời bằng cách sử dụng chất phản ứng chuyển nạp 293fectin™ (Invitrogen) của plasmit biểu hiện đã được điều chế. Polypeptit được sản xuất trong tế bào Expi-CHO nuôi cấy trong môi trường biểu hiện ExpiCHO™ bằng sự chuyển nạp tạm thời bằng cách sử dụng chất phản ứng chuyển nạp ExpiFectamine™ (Gibco, ThermoFisher Scientific). Để nuôi cấy tế bào Expi-CHO chất tăng cường ExpiFectamine CHO và thức ăn ExpiCHO (Gibco, ThermoFisher Scientific) được bổ sung 1 ngày sau chuyển nạp. Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy chứa polypeptit đã được tiết ra được thu hoạch giữa ngày 7-11 (đối với tế bào ExpiCHO) bằng ly tâm, sau đó là lọc qua bộ lọc trên chai 0,2 μ m (Corning).

Phân tích dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy

Mức độ của polypeptit được biểu hiện trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch được đánh giá thông qua phương pháp Giao Thoa Lớp Sinh Học bằng cách sử dụng nền tảng OCTET. Nói ngắn gọn, mAb CR9114 đã được biotinyl hóa được giữ cố định trên cảm biến sinh học Streptavidin (SA) (Pall FortéBio) sau đó đường cong tiêu chuẩn được thiết lập bằng cách đánh giá độ dịch chuyển liên kết của dãy pha loãng của polypeptit tương đồng được tinh chế hoàn toàn xác định. Tiếp đó, độ dịch chuyển

liên kết của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch đã được pha loãng từ trước chứa polypeptit theo sáng chế (5-15 $\mu\text{g/ml}$ được pha loãng trong chất đệm động học) được đo và nồng độ của polypeptit được tính bằng cách sử dụng đường cong tiêu chuẩn đã thiết lập.

Hàm lượng trime của polypeptit trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được đánh giá trong AlphaLISA bằng sự liên kết đồng thời của 1,5 nM CR9114 và 1,5nM kháng thể đơn miền được gắn đuôi Streptactin (SD15016) có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 13. Sự phát quang hóa học ở 615 nm được đo sau khi ủ 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng của polypeptit với kháng thể và kháng thể đơn miền trong sự có mặt của hạt Nhận kháng-IgG-người và Cho Streptactin (Perkin Elmer). Chỉ các phân tử dạng trime mà thể hiện hơn một epitop cuộn gấp đúng được liên kết bởi cả hai kháng thể một cách đồng thời và do đó cung cấp tín hiệu trong thử nghiệm này (trái ngược với monome và khối kết tụ tiềm năng). Polypeptit được chuẩn độ dựa trên nồng độ protein, như được đánh giá bằng OCTET.

Kết quả và kết luận

Mức độ biểu hiện polypeptit và hàm lượng trime được xác định đối với ba lần chuyển nạp 70ml ExpiCHO độc lập vào ngày 9 sau chuyển nạp. Kết quả được thể hiện trên Hình 5. So với cấu trúc đã được mô tả trước đây 5367 (SEQ ID NO: 16) (mà có chứa sự làm khuyết trong miền HA1 của axit amin bắt đầu từ vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306, và có chứa cầu nối 4G thay thế phần đã được làm khuyết trong miền HA1), còn được đề cập đến dưới dạng thiết kế/cấu trúc ban đầu, polypeptit dựa trên H1N1 A/Brisbane/07/59 UFV160655 (mà có chứa sự làm khuyết trong miền HA1 của axit amin bắt đầu từ vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306, và không chứa cầu nối 4G thay thế phần đã được làm khuyết trong miền HA1, và bao gồm các đột biến điểm Y392P, R404Q, E434Q, và S442A) (SEQ ID NO: 103), thể hiện rõ ràng mức độ biểu hiện tăng (lên đến 40 lần), đạt đến $\sim 500\text{mg/l}$ dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy (Hình 5A).

Polypeptit ban đầu có nguồn gốc từ H1N1 A/California/07/09 UFV5369 (SEQ ID NO: 17) được biểu hiện ở mức $\sim 350\text{ mg/l}$ dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy. Polypeptit UFV150558, tương tự về thiết kế với polypeptit UFV5369, và còn bao gồm các đột biến điểm Y392P, R404Q, E434Q, và S442A (SEQ ID NO: 30) được biểu hiện

ở mức ~427 mg/l. Polypeptit UFV160656 (SEQ ID NO: 104) (có chứa sự làm khuyết có chứa axit amin từ vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306 và không chứa cầu nối 4G thay thế phần đã được làm khuyết trong miền HA1, và có chứa các đột biến điểm Y392P, R404Q, E434Q, và S442A), UFV160664 (có chứa cùng sự làm khuyết nhưng chỉ chứa các đột biến điểm Y392R và E434Q) (SEQ ID NO: 109) và UFV160665 (có chứa cùng sự làm khuyết và có chứa các đột biến điểm Y392P và E434Q) (SEQ ID NO: 110) được biểu hiện ở mức cao hơn so với 5369, lên đến ~800 mg/l dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy (Hình 5A).

Đối với hàm lượng trime, tất cả polypeptit có chứa một hoặc nhiều đột biến mới bổ sung, độc lập của cả hai khung chủng của chúng, kích thước của sự làm khuyết của đầu và sự có mặt hoặc không có mặt của cầu nối 4G thay thế phần đã được làm khuyết của miền HA1, đạt mức trên 90% mà cao hơn đáng kể so với mức thu được đối với thiết kế ban đầu mà đối với nó chỉ ~25% protein được biểu hiện tạo thành trime thành công (Hình 5B).

Các polypeptit khác có chứa đột biến của axit amin tại vị trí 392 thành Y, P hoặc R kết hợp với đột biến của axit amin tại vị trí 434 thành Q được tạo ra, bao gồm UFV160302 (SEQ ID NO: 60) và UFV160303 (SEQ ID NO: 61). Polypeptit UFV160304 (SEQ ID NO: 62) mà có chứa thiết kế tương tự như polypeptit UFV160302 nhưng không chứa đột biến điểm Y392R thể hiện hàm lượng trime thấp hơn (~1,7 lần) (Hình 5C).

Cùng với nhau polypeptit theo sáng chế được mô tả trong Ví dụ này, có chứa Y, P hoặc R tại vị trí 392, kết hợp với Q tại vị trí 434, thể hiện mức độ tăng lên đáng kể của sự biểu hiện protein và hàm lượng trime (tỉ lệ phần trăm của trime được tạo thành thành công) so với thiết kế ban đầu. Sự có mặt của các axit amin này tại các vị trí 392 và 434 dẫn đến sự cải thiện đáng kể ở sự biểu hiện, sự trime hóa và độ ổn định.

Ví dụ 3: Tinh chế polypeptit dạng trime theo sáng chế

Tinh chế

Polypeptit được tinh chế bằng quy trình hai bước. Trước hết, dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch và đã được phân loại được tải lên cột HiScale 16/20 (GE Healthcare) được lên với nhựa ái lực (Capture Select) mà gồm có kháng thể đơn

miền đặc hiệu HA, được giữ cố định trên hạt Poros (thu được từ ThermoFisher Scientific). Nhựa này đặc hiệu cao đối với protein hemagglutinin có nguồn gốc từ chủng H1. Cột được làm quá tải có chủ đích bằng ~15% để làm cải thiện sự tách của trime. Sau khi liên kết và sự cân bằng trong 50 mM Tris, 0,5 M NaCl, độ pH 7,4 polypeptit được rửa giải bằng cách áp dụng gradien bậc đến 0,1 M Tris, 2 M MgCl₂, propylen glycol 40%, độ pH 7,4. Dựa trên tín hiệu UV (A280) các phân đoạn rửa giải được gộp lại và được lọc thông qua màng lọc Millex-GV 0,22 µm (Merck Millipore). Tiếp đó, đỉnh rửa giải đã được thu gom được cho vào cột Superdex 200 pg 26/60 (GE Healthcare) được làm cân bằng trong chất đệm chạy (20 mM Tris, 150 mM NaCl, độ pH 7,8) nhằm mục đích đánh bóng, tức là loại bỏ lượng tối thiểu của protein dạng multime và monome. Các phân đoạn trime được gộp lại và độ tinh khiết được đánh giá bằng SEC-MALS phân tích trong thiết lập dây Sắc Ký Lỏng Hiệu Năng Cao (HPLC) Infinity 1260 (Agilent). Trong mỗi polypeptit đã được tinh chế 40 µg được chạy (1 ml/phút) qua cột TSK gel G3000SWxl (Sigma-Aldrich) và khối lượng mol của nguyên liệu đã rửa giải được đo bằng bộ phát hiện Tán Sắc Ánh Sáng Đa Góc miniDAWN Treos và bộ đo khúc xạ vi sai Optilab T-rex (Wyatt Technology). Dữ liệu được phân tích bằng gói phần mềm Astra 6 và phép tính khối lượng phân tử được tạo ra từ tín hiệu chỉ số khúc xạ.

Kết quả và kết luận

Biên dạng rửa giải của bước tinh chế thứ hai (Sắc Ký Loại Trừ Kích Thước) chỉ ra rằng lượng lớn của polypeptit không phải dạng trime (khối kết tụ và monome) 5367 có mặt trong các phân đoạn rửa giải đã được gộp lại của cột ái lực. Ngược lại, biểu đồ sắc ký của UFV160656 thể hiện chỉ lượng nhỏ của khối kết tụ trong khi đó các loại chính có mặt là polypeptit dạng trime (Hình 6A và B).

Hiệu suất của các cấu trúc ban đầu UFV5367 và UFV5369 lần lượt là 5 và 70 mg/l, trong khi đó hiệu suất đối với polypeptit theo sáng chế thay đổi trong khoảng 120-240 mg/l. Tỷ lệ phần trăm thu hồi, được tính bằng cách so sánh lượng của protein có mặt trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy và sản phẩm cuối dạng trime, là khoảng 40-60%. Phân tích của phân đoạn trime đã gom lại bằng SEC-MALS phân tích cho thấy rằng nguyên liệu đã được tinh chế là tinh khiết; không có đỉnh khác ở tín hiệu UV được quan sát thấy (Hình 6B). Ngoài ra, khối lượng phân tử tính được, ~96-106 kDa, tương

ứng với khối lượng phân tử kỳ vọng của polypeptit dạng trime được glycosyl hóa (Hình 6C).

Dữ liệu nêu trên chỉ ra rằng sự tinh chế của polypeptit đạt được bằng quy trình 2 bước dễ làm dẫn đến protein dạng trime rất tinh khiết với hiệu quả và hiệu suất cao trên 100 mg/l dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy.

Ví dụ 4: Sự xác định đặc điểm của sự trime hóa của polypeptit theo sáng chế bằng sắc ký loại trừ kích thước trong sự có mặt của mảnh Fab liên kết

Xác định đặc điểm

Độ ổn định cuộn gập và nhiệt độ của polypeptit đã được tinh chế được đánh giá bằng (i) phân tích SEC-MALS trong sự có mặt của mảnh Fab, (ii) bằng Thử Nghiệm Hấp Thụ Miễn Dịch Liên Kết Enzym (ELISA), và (iii) bằng Phép Đo Huỳnh Quang Quét Vi Sai (DSF).

Sự liên kết trong-dung dịch của mảnh Fab với polypeptit theo sáng chế (còn được đề cập đến dưới dạng "protein mini-HA") được theo dõi bằng Sắc Ký Loại Trừ Kích Thước (SEC) và phân tích tán sắc ánh sáng đa góc (MALS) bằng cách sử dụng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (Agilent) và thiết bị miniDAWN TREOS ghép nối với bộ phát hiện Chỉ Số Khúc Xạ Optilab T-rEX (Wyatt Technology). Tổng cộng, 40 μ g của polypeptit hoặc mảnh Fab của các mAb CR6261, CR9114 và kháng thể đối chứng âm được cho vào cột TSK-Gel G3000SWxl (Sigma Aldrich) được làm cân bằng trong chất đệm chạy (150 mM NaPi, 50 mM NaCl, độ pH 7,0). Sự tạo thành phức hợp được xác nhận bằng phân tích của polypeptit được ủ trong sự có mặt của lượng dư mol 1,2 lần của mảnh Fab. Dữ liệu được phân tích bằng gói phần mềm Astra 6 và phép tính khối lượng phân tử được tạo ra từ tín hiệu chỉ số khúc xạ.

Ái lực của sự liên kết CR6261 và CR9114 với polypeptit được đánh giá bằng phép đo cản trở lớp sinh học bằng cách sử dụng Octet RED384 (ForteBio). Kháng thể đã được biotinyl hóa được giữ cố định trên cảm biến sinh học Nhúng và Đọc Streptavidin (SA) đối với động học (ForteBio). Đường cong liên kết thời gian thực được đo bằng cách áp dụng cảm biến trong dãy pha loãng hai lần của polypeptit trong PBS được pha loãng 10x chất đệm động học cô đặc (ForteBio). Nồng độ bắt đầu của polypeptit nằm

trong khoảng 0,15-10 nM. Hằng số phân ly (KD) được xác định sử dụng phân tích trạng thái ổn định, giả thiết mô hình liên kết 1:1 đối với bnAb với polypeptit.

Ngoài ra, sự liên kết của kháng thể và kháng thể đơn miền (SD) với polypeptit thân theo sáng chế được đánh giá bằng ELISA. 50 μ g đầu tiên cho mỗi giếng protein được phủ vào bề mặt của đĩa liên kết cao OptiPlate-96 (Perkin Elmer) trong Nước Muối Đệm Photphat (PBS). Sau khi ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C, rửa (ba lần bằng PBS + 0,05% Tween-20), phong bế (1,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng với PBS + 0,05% Tween-20 + 1% Albumin Huyết Thanh Bò), và rửa (ba lần bằng PBS + 0,05% Tween-20), các đĩa được ủ trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng với mAb và SD trong dãy pha loãng ba lần với nồng độ bắt đầu lần lượt bằng 70 nM hoặc 100 nM. Sau một lần rửa nữa (ba lần bằng PBS + 0,05% Tween-20) Peroxidaza Củ Cải Ngựa được liên hợp với kháng-IgG người ở chuột nhất (Jackson) được bổ sung ở độ pha loãng 1:1000 trong chất đệm phong bế (PBS + 0,05% Tween-20 + 1% Albumin Huyết Thanh Bò). Sau khi ủ 1 giờ nữa ở nhiệt độ trong phòng và lần rửa tiếp theo (ba lần bằng PBS + 0,05% Tween-20), Cơ Chất ELISA Phát Quang Hóa Học BM (Roche) được bổ sung và sau khi ủ 15 phút tín hiệu phát quang được đo bằng cách sử dụng máy đọc đĩa Synergy Neo (Perkin Elmer). Các giá trị nồng độ hữu hiệu nửa tối đa (EC₅₀) được tính bằng bộ Spotfire (Tibco Software Inc.). EC₅₀ tương quan thuận với độ mạnh liên kết của kháng thể tương ứng và bằng cách đó số đo đối với lượng kháng nguyên, tức là sự cuộn gập và độ ổn định phù hợp của nó.

Độ ổn định nhiệt độ của protein được xác định bằng DSF thông qua việc theo dõi sự phát huỳnh quang của dung dịch polypeptit (6 μ g) trong sự có mặt của 5x Thuốc Nhuộm Màu Cam Sypro (ThermoFisher Scientific). Khi tăng từ từ nhiệt độ, từ 25°C lên 95°C (60°C trong mỗi giờ), polypeptit không cuộn gập và thuốc nhuộm huỳnh quang liên kết với các gốc kỵ nước lộ ra. Đường cong nóng chảy được đo bằng cách sử dụng máy PCR thời gian thực ViiA7 (Applied BioSystems) và các giá trị T_{m50} được tính bằng bộ Spotfire (Tibco Software Inc.). Các giá trị T_{m50} thể hiện nhiệt độ mà tại đó 50% protein không được cuộn gập và do đó là số đo đối với nhiệt độ độ ổn định của polypeptit. Ngoài ra, sự biến tính do nhiệt gây ra cũng được xác định bằng DSC trong đó điểm giữa chuyển tiếp nhiệt (T_m) được xác định bằng cách theo dõi sự khác biệt về đầu vào năng lượng giữa mẫu và tế bào tham chiếu sử dụng hệ thống MacriCal DSC

(Malvern). Ở nồng độ bằng 1 mg/ml mẫu được gia nhiệt từ từ, từ 20°C lên 90°C (100°C mỗi giờ), và các lần chạy được phân tích bằng phần mềm Origin (Malvern). Dựa trên đồ thị nhiệt độ (°C) so với nhiệt dung (kcal/mol/°C) các giá trị T_m được tính.

Kết quả và kết luận

Khối lượng phân tử lý thuyết của polypeptit dạng trime dựa trên axit amin chỉ là ~90 kDa, tuy nhiên, vì mỗi protein chứa 5 mô típ glycosyl hóa được liên kết N (NxT/S) khối lượng phân tử sẽ cao hơn khi được sản xuất trong hệ thống biểu hiện động vật có vú. Khối lượng phân tử như xác định bằng phân tích SEC-MALS được tính là nằm trong khoảng 96-106 kDa chỉ ra rằng protein, như mong đợi, được glycosyl hóa đáng kể (Bảng 1).

Bảng 1. Khối lượng phân tử của polypeptit theo sáng chế (cột thứ hai) và của polypeptit trong phức hợp với mảnh Fab của bnAb CR6261 và CR9114 (cột thứ ba và thứ tư) như xác định bằng SEC-MALS bằng cách sử dụng tín hiệu đối với chỉ số khúc xạ. Khối lượng phân tử (MW) của Fab6261 và Fab9114 được xác định ở ~44 kDa.

ID polypeptit	MW polypeptit (kDa)	MW polypeptit + Fab6261 (kDa)	MW polypeptit + Fab9114 (kDa)
UFV5367	98	204	228
UFV160655	96	204	225
UFV5369	97	212	225
UFV160656	103	217	235
UFV160664	98	211	226
UFV160665	106	235	254

Sự liên kết kháng thể với polypeptit chỉ ra sự cuộn gập đúng của polypeptit, và sự có mặt của epitop cuộn gập đúng của kháng thể trung hòa rộng (bnAb). Sự liên kết trung dung dịch của mảnh Fab CR9114, CR6261 và Fab không liên kết (đối chứng âm) được đánh giá bằng phân tích SEC-MALS, như được mô tả ở trên. Khi sự liên kết của mảnh Fab với polypeptit khối lượng phân tử tăng lên sẽ dẫn đến sự dịch chuyển đỉnh nhìn thấy (thời gian lưu ngắn lại) trong SEC. Ngoài ra, việc theo dõi tín hiệu MALS

giúp tính khối lượng phân tử của phức hợp tạo thành. Như dự kiến, mảnh Fab dùng làm đối chứng âm không liên kết; tức là không có sự dịch chuyển đỉnh của polypeptit được quan sát thấy khi bổ sung mảnh Fab (Hình 7A). Ngược lại, sự dịch chuyển đỉnh rõ ràng đến thời gian lưu ngắn hơn được quan sát thấy khi ủ với hai mảnh Fab khác (Hình 7B và C). Ngoài ra, sự xác định khối lượng phân tử của phức hợp chỉ ra rằng polypeptit liên kết 3 mảnh Fab (Bảng 1), xác nhận rằng tất cả ba monome ở trong polypeptit dạng trime được cuộn gập thích hợp và có thể tiếp cận được đối với các kháng thể.

Để đánh giá thêm chất lượng và sự cuộn gập của polypeptit hằng số phân ly (K_D) của sự liên kết bnAb CR6261 và CR9114 được xác định bằng phép đo cản trở lớp sinh học (Bảng 2). Đối với tất cả các polypeptit, ái lực liên kết thấp hơn 1nM chỉ ra rằng polypeptit dạng trime thể hiện bề mặt thân HA tự nhiên.

Bảng 2. Sự liên kết của CR6261 và CR9114 với polypeptit thân theo sáng chế. Các giá trị K_D của sự liên kết CR6261 và CR9114 như xác định bằng phép đo cản trở lớp sinh học và phân tích trạng thái ổn định. HA H1N1 A/Brisbane/59/07 chiều dài đầy đủ được mang đi so sánh.

ID polypeptit	K_D (nM)	
	CR6261	CR9114
HA Brisbane	1,1	0,71
UFV5367	0,48	0,45
UFV160655	0,55	0,49
UFV5369	0,97	0,56
UFV160656	0,60	0,54
UFV160664	0,57	0,46
UFV160665	0,56	0,39

Ngoài ra, sự liên kết của kháng thể được đánh giá bằng ELISA. Dựa trên các đường cong S các giá trị EC_{50} được tính mà xác nhận sự cuộn gập phù hợp của polypeptit. Cả hai kháng thể liên kết rất mạnh với các giá trị EC_{50} thấp hơn 1nM (Bảng 3).

Bảng 3. Độ mạnh liên kết của kháng thể với polypeptit đã được tinh chế như xác định bằng ELISA (các giá trị EC50 trung bình theo nM của đường cong S của 3 thử nghiệm độc lập).

ID polypeptit	CR6261	CR9114
UFV5367	0,417	0,410
UFV160655	0,396	0,400
UFV5369	0,391	0,389
UFV160656	0,432	0,410
UFV160664	0,395	0,379
UFV160665	0,425	0,409

Độ ổn định nhiệt là số đo về độ dai của polypeptit khi tiếp xúc với sự căng thẳng, và do đó là số đo về độ ổn định của polypeptit. Polypeptit theo sáng chế được gia nhiệt từ từ trong sự có mặt của thuốc nhuộm huỳnh quang mà, trong khoảng thời gian thí nghiệm, liên kết với protein không cuộn gập và sự thay đổi thu được ở cường độ huỳnh quang được sử dụng để tính các giá trị T_{m50} (Bảng 4). Trong khi các thiết kế ban đầu (UFV5367 và UFV5369) thể hiện giá trị T_{m50} lần lượt bằng ~ 52 và ~ 57 °C, đáng chú ý là, polypeptit theo sáng chế thể hiện giá trị cao hơn đáng kể (lên đến ~ 7 °C), chỉ ra độ ổn định được cải thiện đáng kể. Sự khác biệt tương tự giữa thiết kế ban đầu và polypeptit theo sáng chế được quan sát thấy đối với các giá trị T_m như xác định bằng DSC. Nhìn chung các giá trị T_m (DSC) cao hơn ~ 2 °C so với các giá trị T_{m50} (DSF) do sự khác biệt trong cách xác định các giá trị này; đối với DSC, nhiệt độ ở đỉnh lớn nhất được xác định, trong khi đó đối với DSF nhiệt độ được xác định ở $\frac{1}{2}$ chiều cao đỉnh.

Bảng 4. Tổng quan về các giá trị T_{m50} của polypeptit đã được tinh chế như xác định bằng DSF và DSC.

ID polypeptit	Tm ₅₀ (°C)	
	DSF	DSC
UFV5367	51,8 ± 0,09	-
UFV160655	58,5 ± 0,21	-
UFV5369	57,2 ± 0,08	59,1 ± 0,01
UFV160656	64,1 ± 0,14	66,2 ± 0,07
UFV160664	63,3 ± -0,12	65,3 ± 0,01
UFV160665	62,5 ± 0,16	65,2 ± 0,16

Khối lượng phân tử của polypeptit, sự liên kết mạnh Fab quan sát được trong dung dịch và sự liên kết mạnh của Ab chỉ ra rằng thiết kế ban đầu và polypeptit theo sáng chế ở dạng trime và được cuộn gấp tốt. Ngoài ra, như chỉ ra bởi các giá trị Tm₅₀/Tm tính được, polypeptit theo sáng chế kháng với căng thẳng nhiều nhiều hơn đáng kể so với thiết kế ban đầu. Cùng với nhau dữ liệu liên kết và dữ liệu độ ổn định nhiệt chỉ ra rằng polypeptit theo sáng chế ở dạng trime trong dung dịch, được cuộn gấp thích hợp (3 epitop) và thể hiện độ ổn định nhiệt được cải thiện đáng kể so với các thiết kế ban đầu của chúng.

Ví dụ 5: Sự làm khuyết, cầu nối và trình tự miền đầu khác theo sáng chế

Thiết kế

Polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm theo sáng chế được mô tả ở trên được tạo ra từ HA chiều dài đầy đủ bằng cách làm khuyết một phần của miền HA1 có chứa axit amin từ vị trí 47 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306. Không có trình tự kết nối được đưa vào. Trong các thiết kế ban đầu sự làm khuyết có chứa các axit amin 46-306 và hai đầu HA1 sau khi làm khuyết được nối bằng "GGGG-cầu nối" nhân tạo (Hình 8).

Trong Ví dụ này, các vị trí cắt khác nữa của đầu và các cầu nối tương đồng khác được khảo sát. Bảng 5 thể hiện các vị trí cắt khác để loại bỏ miền đầu HA1. Các đầu HA1 trong thiết kế ban đầu được chỉ ra bằng màu xám. Cấu trúc UFV160360 (SEQ ID

NO: 63) có chứa sự làm khuyết từ axit amin tại vị trí 46 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 306 và cầu nối 4G thay thế phần đã được làm khuyết trong miền HA1, và còn chứa các đột biến điểm Y392P, R404Q, E434Q, và S442A. Các cấu trúc mới được tạo ra trong đó lên đến 7 gốc axit amin nữa của miền HA1 (HA1 đi lên), miền HA1 thứ nhất (đầu N), và lên đến 4 gốc axit amin nữa của sợi HA1 đi xuống (miền HA1 thứ hai, hoặc đầu C) được bao gồm, hoặc lên đến 2 gốc axit amin được làm khuyết, do đó làm thay đổi kích thước của sự làm khuyết đầu. Các cấu trúc này cũng đều có chứa các đột biến điểm Y392P, R404Q, E434Q, và S442A.

Bảng 5: Sự làm khuyết miền đầu khác, cũng xem Hình 5). * chỉ đột biến của xystein tự do (C) thành G. Số lượng của các vị trí axit amin chỉ ra vị trí axit amin theo quy ước đánh số H3.

	UVF#	HA1 đi lên					Sự làm khuyết miền đầu															HA1 đi xuống			
A/Brisbane/ 59/07		N	L	L	E	N	S	H	N	G	K				...	I	G	K	C	P		K	Y	V	K
A/California /07/09		N	L	L	E	D	K	H	N	G	K	L	C	K	...	I	G	E	C	P		K	Y	V	R
UFV160360		N	L	L	E	D	G	G	G	G												K	Y	V	C
Vị trí AA #		41	42	43	44	45	46	47	48	48	50	51	52	53		30	30	30	30	30		30	30		
																2	3	4	5	6		7	8		
UFV160361		N	L	L	E	D																K	Y	V	C
UFV160362		N	L	L	E	D	K															K	Y	V	C
UFV160363		N	L	L	E	D	K	H														K	Y	V	C
UFV160364		N	L	L	E	D	K	H	N													K	Y	V	C
UFV160365		N	L	L	E	D	K	H	N	G												K	Y	V	C
UFV160366		N	L	L	E	D	K	H	N	G	K											K	Y	V	C
UFV160367		N	L	L	E	D	K	H	N	G	K	L										K	Y	V	C
UFV160368		N	L	L	E	D	K	H	N	G	K	L	G	*								K	Y	V	C

UFV160369	N	L	L	E	D	K	H	N	G	K	L	G						P	K	Y	V	C
UFV160370	N	L	L	E	D	K	H										G	P	K	Y	V	C
UFV160371	N	L	L	E	D										G	E	G	P	K	Y	V	C
UFV160372	N	L	L	E	D																V	C
UFV160373	N	L	L	E	D	K															V	C
UFV160374	N	L	L	E	D	K	H														V	C
UFV160375	N	L	L	E	D	K	H	N													V	C
UFV160376	N	L	L	E	D	K	H	N	G												V	C
UFV160377	N	L	L	E	D	K	H	N	G	K											V	C
UFV160378	N	L	L	E	D	K	H	N	G	K	L										V	C
UFV160379	N	L	L	E	D	K	H	N	G	K	L	G									V	C

Bảng 6 dưới đây thể hiện các cầu nối tương đồng khác. Các đầu HA1 trong thiết kế ban đầu được chỉ ra bằng màu xám đậm. Cầu nối tương đồng dài lên đến 5 gốc, tức là bắt nguồn từ miền HA1 được đưa vào để nối các đầu HA1. Một lần nữa, các cấu trúc khác cũng đều có chứa các đột biến điểm Y392P, R404Q, E434Q, và S442A.

Bảng 6: Các cầu nối khác có nguồn gốc từ miền đầu tương đồng được làm khuyết. Các vị trí axit amin chỉ vị trí axit amin theo quy ước đánh số H3.

	#	HA1 đi lên					Cầu nối được đưa vào															HA1 đi xuống			
A/Brisbane/ 59/07		N	L	L	E	N	S	H	N	G	K					...	I	G	K	C	P	K	Y	V	K
A/California /07/09		N	L	L	E	D	K	H	N	G	K	L	C	K	...	I	G	E	C	P	K	Y	V	R	
Vị trí AA #		41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53					30	30	30	30	30		310

UFV160360		N	L	L	E	D	G	G	G	G											K	Y	V	C
	UFV160380	N	L	L	E	D	A	G	S	G											K	Y	V	C
	UFV160381	N	L	L	E	D	A	G	S												K	Y	V	C
	UFV160382	N	L	L	E	D	A	G	S	G	I										K	Y	V	C
	UFV160383	N	L	L	E	D	A	G	S	G	I												V	C
	UFV160384	N	L	L	E	D	G	S	G	I											K	Y	V	C
	UFV160385	N	L	L	E	D	G	S	G												K	Y	V	C
	UFV160386	N	L	L	E	D	H	A	G	A											K	Y	V	C
	UFV160387	N	L	L	E	D	D	Q	E	G											K	Y	V	C
	UFV160388	N	L	L	E	D	D	T	P	V											K	Y	V	C
	UFV160389	N	L	L	E	D	F	P	K	T											K	Y	V	C
	UFV160390	N	L	L	E	D	E	P	G	D											K	Y	V	C
	UFV160391	N	L	L	E	D	E	P	G												K	Y	V	C
	UFV160392	N	L	L	E	D	T	G	N	L											K	Y	V	C
	UFV160393	N	L	L	E	D	T	P	S	S											K	Y	V	C
	UFV160394	N	L	L	E	D	T	P	S												K	Y	V	C
	UFV160395	N	L	L	E	D	A	T	G	N											K	Y	V	C
	UFV160396	N	L	L	E	D	Y	P	G	D											K	Y	V	C
	UFV160397	N	L	L	E	D	Y	P	G	D													V	C

Xác định đặc điểm

Các mảnh ADN mã hóa cho polypeptit liệt kê trong Bảng 5 và 6 được tổng hợp (Genscript) và được tách dòng trong plasmit pcDNA2004 (vector pcDNA3 được cải biến nội bộ với vùng khởi động CMV được tăng cường). Polypeptit, bao gồm FLAG-cầu nối-đuôi His đầu C nhằm mục đích sàng lọc, được sản xuất ở tế bào Expi293F dòng tế bào nhân chuẩn ở quy mô nhỏ (200 µl). Nói ngắn gọn, tế bào được cấy trong định dạng vi đĩa 96 giếng (Greiner) ở mật độ tế bào bằng $2,5E+06$ tế bào sống (vc)/ml trong Opti-MEM (Gibco). Các tế bào được chuyển nạp tạm thời bằng cách sử dụng bộ kit chuyển

nap ExpiFectamine 293 (Gibco) và ủ trong 3 ngày ở nhiệt độ 37°C, 250 vòng/phút, CO₂ 8% và độ ẩm 75%. Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được thu hoạch bằng ly tâm (10 phút ở 400xg) bằng cách sử dụng đĩa Filter 96 giếng màu trắng (màng PVDF 0,22 µm) để loại bỏ khối kết tụ và mảnh vỡ tế bào.

Lượng polypeptit có mặt trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy, sự cuộn gập protein và hàm lượng trime đều được đánh giá bằng Thử Nghiệm Đồng Nhất Được Khuếch Đại (AlphaLISA). Các dịch pha loãng polypeptit thích hợp trong khoảng tuyến tính của đường cong được sử dụng để phân tích và tất cả dữ liệu được chuẩn hóa đối với cấu trúc UFV160360 (SEQ ID NO: 63) mà được đặt là 100%.

Lượng polypeptit tương đối trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch được xác định bằng sử dụng hạt Cho Niken (Perkin Elmer) và hạt Nhận Kháng-Flag (Perkin Elmer). Các dịch pha loãng thích hợp của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy trong khoảng tuyến tính của đường cong được sử dụng để tránh hiệu ứng móc câu.

Trương tự, sự cuộn gập của polypeptit được biểu hiện được xác nhận bằng cách đánh giá sự liên kết của kháng thể CR9114 (2 nM) và SD15004 đơn miền (2 nM). Để phát hiện của sự liên kết kháng thể hạt Nhận kháng-IgG người (Perkin Elmer) và hạt Cho Niken (Perkin Elmer) được sử dụng, để phát hiện sự liên kết của hạt Nhận kháng-His đơn miền được gắn đuôi Streptactin (Perkin Elmer) và hạt Cho Streptactin (Perkin Elmer) được sử dụng.

Hàm lượng multime được đo bằng sự liên kết đồng thời của CR9114 (2 nM) và SD15016 được gắn đuôi Streptactin (2 nM) bằng cách sử dụng quy trình tương tự với quy trình được mô tả trong Ví dụ 2. Polypeptit được chuẩn độ dựa trên nồng độ protein, như xác định bằng OCTET. Chỉ các phân tử dạng trime mang lại cả hai kháng thể để liên kết tạo ra tín hiệu trong thử nghiệm này (trái ngược với monome, dimer và khối kết tụ tiềm năng).

Kết quả và kết luận

Nhìn chung polypeptit được biểu hiện ở mức độ tương tự với protein tham chiếu (UFV160360) và không có sự khác biệt đáng kể được quan sát thấy giữa các thiết kế với các vị trí cắt khác (tức là sự làm khuyết miền đầu khác) và các thiết kế trong đó các đầu

HA1 được nối với cầu nối bắt nguồn từ miền đầu (Hình 9A). Tương tự, không có sự khác biệt đáng kể được quan sát thấy đối với sự liên kết của bnAb CR9114 (Hình 9B).

Ngược lại, sự khác biệt nào đó ở hàm lượng trime tương đối được quan sát thấy (Hình 9C); các thiết kế ít có xu hướng tạo thành mini-HA dạng trime. Trung bình, sự giảm ~2 lần được quan sát thấy đối với các thiết kế trong đó chỗ cắt khác được đưa vào trong khi đó sự giảm ~3 lần được quan sát thấy ở các thiết kế trong đó "GGGG-cầu nối" được thay thế bằng trình tự từ miền đầu.

Các kết quả này cho thấy rằng mặc dù hàm lượng trime bị giảm đi một chút, polypeptit thân biểu hiện tốt và ổn định thu được mà được cuộn gấp đúng để trình diện epitop của kháng thể trung hòa rộng CR9114.

Ví dụ 6: Sự thay đổi vị trí phân cắt HA1/HA2: vị trí phân cắt bị bất hoạt, đơn bazơ và đa bazơ

Sự phân cắt của protein HA0 cúm (trong HA1 và HA2) cần thiết cho hoạt tính của nó, làm thuận lợi cho sự đi vào của hệ gen virus vào trong tế bào đích bằng cách gây ra sự dung hợp của màng vật chủ với màng virus. Polypeptit theo sáng chế được mô tả ở trên đều được biểu hiện với đột biến bất hoạt vị trí phân cắt R329Q để ngăn chặn sự phân cắt giả định của phân tử trong quá trình sản xuất *in vitro* và/hoặc *in vivo*.

Trong Ví dụ này, một vài polypeptit thân được biểu hiện với vị trí phân cắt đơn bazơ tự nhiên hoặc bao gồm vị trí phân cắt đa bazơ, ví dụ như vị trí phân cắt Furin (Bảng 7). Polypeptit còn chứa các đột biến tại vị trí 392 và 434.

Bảng 7. Biến thể vị trí phân cắt.

ID polypeptit	Vị trí phân cắt	Trình tự
UFV150850	Bị bất hoạt	R329Q
UFV160302	Đơn bazơ	R329 (kiểu đại)
UFV160301	Đa bazơ	RRRKK
UFV160503	Đa bazơ	RKRR

Phân tích dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy

Các mảnh ADN mã hóa cho polypeptit liệt kê trong Bảng 7 được tổng hợp như được mô tả trong Ví dụ 5.

Mức độ của polypeptit được biểu hiện trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch được đánh giá thông qua phương pháp Giao Thoa Lớp Sinh Học bằng cách sử dụng nền tảng OCTET. Nói ngắn gọn, mAb CR9114 đã được biotinyl hóa được giữ cố định trên cảm biến sinh học Streptavidin (SA) (Pall FortéBio) sau đó đường cong tiêu chuẩn được thiết lập bằng cách đánh giá độ dịch chuyển liên kết của dãy pha loãng của polypeptit tương đồng được tinh chế hoàn toàn xác định. Tiếp đó độ dịch chuyển liên kết của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch đã được pha loãng từ trước chứa polypeptit (5-15 $\mu\text{g/ml}$ được pha loãng trong chất đệm động học) được đo và nồng độ được tính bằng cách sử dụng đường cong tham chiếu đã thiết lập.

Kết quả và kết luận

Không có tác dụng trên mức độ biểu hiện được quan sát thấy đối với polypeptit trong đó vị trí phân cắt đơn bazơ (R)- hoặc đa bazơ (RRRKK) được cài xen, tức là lần lượt là UFV160302 và UFV160301 (Hình 10). Cả hai polypeptit được biểu hiện ở mức độ tương tự và thể hiện mức tương tự của hàm lượng trime so với polypeptit tham chiếu UFV150850, mà kháng với sự phân cắt proteaza thông qua đột biến của axit amin tại vị trí 329 thành Q.

Đối với vị trí phân cắt đa bazơ được đưa vào được đưa vào thứ hai (RKRR) sự giảm đi ~ 2 lần ở mức độ biểu hiện và hàm lượng trime được quan sát thấy (UFV160503).

Ví dụ 7: Các trình tự ví dụ của GCN4 hoặc các miền trime hóa đoạn lặp heptad khác

Thiết kế

Trong các polypeptit theo sáng chế như mô tả ở trên, đầu N của xoắn C (phần trên của phân tử, xem Hình 1C), cụ thể là trình tự axit amin bắt đầu từ axit amin tại vị trí 405 đến và bao gồm axit amin tại vị trí 419 của miền HA2, được thay thế bằng miền trime hóa GCN4 nêu trong SEQ ID NO: 113 để cải thiện xu hướng trime hóa của phân tử. Trong Ví dụ này, sự tối ưu hóa của mặt phân cách cuộn đã được cuộn xoắn được khảo sát thành công bằng cách tối ưu hóa trình tự đoạn lặp heptad của xoắn C. Bảng 8 thể hiện trình tự trime hóa khác trong polypeptit UFV160090 (SEQ ID NO: 56). Các

đột biến trong vùng đầu N của xoắn C được làm nổi bật bằng màu xám nhạt. Trình tự trime hóa của UFV160097 (SEQ ID NO: 58) giống với polypeptit như được mô tả trong Ví dụ 1. Sự khác biệt của trình tự đoạn lặp heptad trong phần đầu N của xoắn C với HA kiểu đại được làm nổi bật bằng màu xám.

Bảng 8: Trình tự của GCN4 hoặc các miền trime hóa đoạn lặp hepta khác (đối với polypeptit A/California/07/09 có nguồn gốc từ HA). Các số ở bên trên chỉ vị trí axit amin theo quy ước đánh số H3.

Miền trime hóa xoắn C	UFV#	Xoắn C (vị trí axit amin của vùng đầu N)														
		40	40	40	40	40	41	41	41	41	41	41	41	41	41	419
		5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
A/California/07/09 kiểu đại	kiểu đại	R	I	E	N	L	N	K	K	V	D	D	G	F	L	D
GCN4	160097	C	M	K	Q	I	E	D	K	I	E	E	I	E	S	K
đoạn lặp heptad khác	160090	C	I	E	A	K	E	K	K	V	D	D	I	E	K	K

Phân tích dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy

Các mảnh ADN mã hóa cho polypeptit liệt kê trong Bảng 8 được tổng hợp như được mô tả ở trên trong Ví dụ 5.

Tất cả các đánh giá tên dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch được thực hiện bằng AlphaLISA tương tự như được mô tả ví dụ như 5. Dữ liệu liên kết CR9114 được chuẩn hóa trên mức độ biểu hiện.

Kết quả và kết luận

Sự đánh giá AlphaLISA của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch trên mức độ biểu hiện polypeptit, hàm lượng trime và sự liên kết CR9114 chỉ ra rằng sự tối ưu hóa khác của mặt phân cách trime xoắn C (tức là không phải là đoạn lặp giống GCN4, như có mặt trong polypeptit được mô tả ở trên) được dung chịu. Mức độ biểu hiện protein được cải thiện được quan sát thấy (~2 lần), mặc dù sự giảm đi của hàm lượng trime được quan sát thấy (~2 lần). Sự liên kết của CR9114 không bị ảnh hưởng (Hình 11).

Ví dụ 8: Sự cắt cụt khác tại đầu C của polypeptit thân theo sáng chế

Thiết kế

Hemagglutinin là protein màng mà nằm trên bề mặt của hạt virus với phần đầu C của protein được gài trong màng virus. Đối với các phiên bản hòa tan của polypeptit theo sáng chế miền xuyên màng được làm khuyết bằng sự cắt cụt tại vị trí bắt đầu của miền xuyên màng (TM). Ngoài ra, các vị trí cắt cụt khác cũng được đánh giá (Bảng 9 và Bảng 10).

Bảng 9. Sự cắt cụt khác của đầu C của miền HA2 (đối với polypeptit A/Brisbane/59/07 có nguồn gốc từ HA). Các số ở bên trên chỉ vị trí axit amin theo quy ước đánh số H3.

UVF#	Vị trí axit amin và trình tự của đầu C của các thiết kế mini-HA hòa tan so với kiểu đại																				Miền TM			
	49 6	49 7	49 8	49 9	50 0	50 1	50 2	50 3	50 4	50 5	50 6	50 7	50 8	50 9	51 0	51 1	51 2	51 3	51 4	51 5	51 6	51 7	51 8	51 9
A/Brisbane/59/07	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L	E	S	M	G	V	Y	Q	I	L	A	I	Y
UFV5367	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L	E	S	M	G	V	Y	Q	I				
UFV150565	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L	E	S	M	G	V	Y	Q	I	L	A	I	Y
UFV150566	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L	E	S	M	G	V	Y	Q	I	L	A		
UFV150567	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L	E	S	M	G	V	Y						
UFV150568	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L	E	S	M	G								
UFV150569	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L	E	S										
UFV150570	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V	K	L												
UFV150571	K	L	N	R	E	K	I	D	G	V														
UFV150572	K	L	N	R	E	K	I	D																
UFV150573	K	L	N	R	E	K																		
UFV150574	K	L	N	R																				

Bảng 10. Sự cắt cụt của đầu C của miền HA2 (đối với polypeptit A/Califnia/07/09 có nguồn gốc từ HA). Các số ở bên trên chỉ vị trí axit amin theo quy ước đánh số H3.

UVF#	Vị trí axit amin và trình tự của đầu C của các thiết kế mini-HA hòa tan so với kiểu đại																				Miền TM			
	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A/Californi a/07/09	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L	E	S	T	R	I	Y	Q	I	L	A	I	Y
UFV5369	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L	E	S	T	R	I	Y	Q	I				
UFV150575	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L	E	S	T	R	I	Y	Q	I	L	A	I	Y
UFV150576	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L	E	S	T	R	I	Y	Q	I	L	A		
UFV150577	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L	E	S	T	R	I	Y						
UFV150578	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L	E	S	T	R								
UFV150579	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L	E	S										
UFV150580	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V	K	L												
UFV150581	K	L	N	R	E	E	I	D	G	V														
UFV150582	K	L	N	R	E	E	I	D																
UFV150583	K	L	N	R	E	E																		
UFV150584	K	L	N	R																				

Phân tích dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy

Các mảnh ADN mã hóa cho polypeptit liệt kê trong Bảng 9 và Bảng 10 được tổng hợp như được mô tả trong Ví dụ 5.

Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch được phân tích về sự có mặt của polypeptit được biểu hiện bằng thẩm tách Western. Mẫu được chạy trên gel SDS-PAGE, 4-12% Bis-Tris (ThermoFisher Scientific) trong điều kiện không khử và được chuyển vào màng PVDF bằng cách sử dụng hệ thống iBlot id 2.0 (ThermoFisher Scientific). Để trực quan hóa các băng tương ứng với polypeptit màng được phong bế bằng chất phong bế 0,2% (Bột sữa – BioRad) trong TBST trước khi ủ với dịch pha loãng đủ của protein Hemagglutinin có nguồn gốc đặc hiệu từ chủng H1 và kháng thể đơn miên đã được biotinyl hóa (Cúm 6) trong chất đệm phong bế. Sau khi rửa (TBST) màng được ủ với Streptavidin đã được gắn nhãn HRP (dịch pha loãng 1:250 Becton Dickinson trong chất đệm phong bế). Tiếp đó, sau một bước rửa nữa (TBST) các băng protein được trực quan hóa bằng cách ủ với cơ chất Trueblue peroxidaza (KPL).

Sự liên kết của kháng thể đơn dòng trung hòa rộng CR9114 với polypeptit được biểu hiện theo sáng chế được đánh giá trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch thông qua phương pháp Giao Thoa Lớp Sinh Học bằng cách sử dụng nền tảng OCTET. Nói ngắn gọn, dịch nổi bề mặt đã được pha loãng hai lần trong chất đệm động học (Pall FortéBio) được đánh giá bằng cảm biến sinh học Streptavidin (SA) (Pall FortéBio) đã tải với CR9114 đã được biotinyl hóa. Sự làm khớp đường cong trong 20 giây đầu của bước kết hợp được thực hiện để tính các giá trị $K_{bắt}$; nồng độ của polypeptit trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được đặt là 50mM và các đường cong được làm khớp trong mô hình 1:1. Mẫu GIẢ được bao gồm làm đối chứng âm.

Kết quả và kết luận

Tác dụng tối thiểu của sự cắt cụt đầu C khác được quan sát trên mức độ biểu hiện của polypeptit. Tất cả các biến thể, ngoại trừ UFV150565 và UFV150574, thể hiện bằng rõ ràng ở chiều cao trime trong phân tích thẩm tách Western của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch (Hình 12A).

Phân tích Octet chỉ ra rằng hầu hết các thiết kế (ngoại trừ UFV150575) liên kết với CR9114 đã được giữ cố định (Hình 12B), mặc dù nhìn chung các giá trị $K_{bắt}$ thấp hơn được quan sát thấy đối với các biến thể đầu C so với các thiết kế tham chiếu 5367 và 5369. Điều này có thể một phần là do quy trình làm khớp đường cong cơ bản giả thiết nồng độ protein giống nhau đối với tất cả các thiết kế; tuy nhiên, sự liên kết của polypeptit với kháng thể là rõ ràng.

Kết quả thể hiện rõ ràng rằng sự cắt đứt đến vị trí 502 là có thể có.

Ví dụ 9: Cầu disulfua liên protome; các vị trí khác

Thiết kế

Polypeptit theo sáng chế được tinh chế từ dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy dưới dạng protein dạng trime cộng hóa trị. Trong polypeptit như được mô tả trên đây sự kết nối cộng hóa trị đã được thiết lập bằng sự đưa vào của hai gốc xystein, trong vòng B (vị trí 397) và xoắn C (vị trí 405), mà tạo thành cầu disulfua bằng cách ghép cặp với gốc xystein trong monome liền kề (cầu disulfua liên monome). Trong Ví dụ này, hai vị trí khác cho các cầu disulfua liên protome này được khảo sát (Bảng 11).

Bảng 11. Các vị trí khác cho các gốc xystein mà tạo thành cầu disulfua liên protome. * Mô típ glycan được liên kết N bị bất hoạt (NxS) tại vị trí 400.

ID polypeptit	Sự đưa xystein vào tại vị trí axit amin	Chủng virus cúm ban đầu
UFV160090	397 + 405	H1N1 A/California/07/09
UFV160093	398 + 405	H1N1 A/California/07/09
UFV160088*	396 + 408	H1N1 A/Brisbane/59/07

Phân tích dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy

Các mảnh ADN mã hóa cho polypeptit được tổng hợp như được mô tả ở trên.

Tất cả các đánh giá trên dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch được thực hiện bằng AlphaLISA như được mô tả trong Ví dụ 7.

Kết quả và kết luận

Sự đánh giá AlphaLISA của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch trên mức độ biểu hiện polypeptit, hàm lượng trime và sự liên kết CR9114 chỉ ra rằng các cầu disulfua liên protome khác thể hiện tương tự hoặc tốt hơn so với polypeptit tham chiếu UFV160090 (Hình 13). Các dữ liệu này chỉ ra rằng sự đưa vào của các gốc xystein tại các vị trí 398 và 405 (UFV160093) và 396 và 408 (UFV160088) tạo ra sự thay thế đối với cầu disulfua liên protome được tạo thành bởi các xystein đã được đưa vào tại các vị trí 397 và 405 (UFV160090).

Ví dụ 10: Sự bảo vệ chống lại thử thách gây chết bằng H1N1 A/Brisbane/59/07 sau khi gây miễn dịch chuột nhắt nguyên bản bằng polypeptit theo sáng chế

Trong ví dụ này, hiệu quả bảo vệ (dựa trên tỉ lệ sống sót khi kết thúc khoảng thời gian theo dõi) của khoảng liều lượng của UFV160664 được bổ trợ AlOH_3 so với động vật được gây miễn dịch bằng giả được (PBS) và với liều lượng cố định của UFV4900 (thăm dò) được đánh giá.

Các nhóm của 8-11 chuột nhắt BALB/c cái (6-8 tuần tuổi) được gây miễn dịch trong cơ 2 lần ở khoảng cách 3-tuần với khoảng liều lượng của UFV160664 dạng trime hòa tan được bổ trợ với 50 μg AlOH_3 (tạo chế phẩm dưới dạng Alyhydrogel 2%). Khoảng liều lượng gồm có 4 dịch pha loãng 10 lần bắt đầu ở 30 μg đến 0,03 μg . Để làm đối chứng dương cho mô hình thử thách chuột nhắt được gây miễn dịch hai lần bằng 30 μg UFV4900 dạng trime hòa tan ($n=10$), trong khi 2 lần gây miễn dịch bằng PBS làm đối chứng âm ($n=11$). Bốn tuần sau lần gây miễn dịch cuối cùng chuột nhắt được lấy máu để phân tích đáp ứng miễn dịch (ELISA HA chiều dài đầy đủ (FL) H1N1 A/Brisbane/59/07), và một ngày sau chuột nhắt được thử thách bằng 25xLD50 virut thử thách H1N1 A/Brisbane/59/07 đã thích ứng chuột nhắt và được theo dõi (sự sống sót, khối lượng, điểm lâm sàng) trong 3 tuần. Tỉ lệ sống sót khi kết thúc theo dõi là thông số kết quả cơ bản.

Kết quả

Đã chứng minh được rằng UFV160664 đã được bổ trợ với AlOH_3 gây miễn dịch như độ chuẩn H1N1 A/Brisbane/59/07 FL HA ELISA được tăng lên đáng kể ($P<0,001$; kiểm định Mann-Whitney-U theo từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất và sự điều chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh) so với nhóm PBS đối với tất cả các liều lượng được thử nghiệm. Các độ chuẩn của các con vật được gây miễn dịch bằng liều lượng UFV160664 30 μg có thể so sánh được với nhóm 30 μg UFV4900 (Hình 15).

Ngoài ra, UFV160664 đã được bổ trợ với AlOH_3 mang lại sự bảo vệ đáng kể ($P\leq 0.003$; kiểm định chính xác Fisher, sự hiệu chỉnh Bonferroni trên các cấu trúc, và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) đối với tất cả các liều lượng, ngoại trừ 0,03 μg , so với nhóm PBS. Tỉ lệ sống sót của nhóm 30 μg UFV160664 (87,5%) có thể so sánh được với nhóm 30 μg UFV4900 (90%) (Hình 16; ô trên). Sự giảm khối

lượng cơ thể (được xác định bằng diện tích dưới đường cong) được giảm đi đáng kể ($P \leq 0,012$; ANOVA, sự hiệu chỉnh Bonferroni 2 lần trên các cấu trúc, và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) đối với tất cả các liều lượng, ngoại trừ 0,03 μg , so với nhóm PBS. Sự giảm khối lượng cơ thể của nhóm 30 μg UFV160664 có thể so sánh được với nhóm 30 μg UFV4900 (Hình 16; ô dưới).

Kết luận

Theo sáng chế, đã chứng minh được rằng UFV160664 đã được bổ trợ với AlOH_3 gây miễn dịch và tạo ra sự bảo vệ trong mô hình thử thách chuột nhắt H1N1 A/Brisbane/59/07 gây chết. Khả năng gây miễn dịch và hiệu quả bảo vệ có thể so sánh được với UFV4900 đã được bổ trợ với AlOH_3 .

Ví dụ 11: Sự bảo vệ chống lại thử thách gây chết bằng H1N1 A/Puerto Rico/8/34 sau khi gây miễn dịch chuột nhắt nguyên bản bằng polypeptit theo sáng chế

Trong Ví dụ này, hiệu quả bảo vệ (dựa trên tỉ lệ sống sót khi kết thúc khoảng thời gian theo dõi) của khoảng liều lượng của UFV160664 được bổ trợ Adjuplex 2% so với động vật được gây miễn dịch bằng giả dược (PBS) và với liều lượng cố định của UFV4900 (thăm dò) được đánh giá.

Một lần nữa, các nhóm của 8-11 chuột nhắt BALB/c cái (6-8 tuần tuổi) được gây miễn dịch trong cơ 2 lần ở khoảng cách 3-tuần với khoảng liều lượng của UFV160664 dạng trime hòa tan được bổ trợ với Adjuplex 2% (thể tích/thể tích). Khoảng liều lượng gồm có 4 dịch pha loãng 10 lần bắt đầu ở 30 mcg đến 0,03 μg . Để làm đối chứng dương cho mô hình thử thách chuột nhắt được gây miễn dịch hai lần bằng 30 μg UFV4900 dạng trime hòa tan ($n=10$), trong khi 2 lần gây miễn dịch bằng PBS làm đối chứng âm ($n=11$). Bốn tuần sau lần gây miễn dịch cuối cùng các con chuột bị thử thách bằng 12,5xLD50 virus thử thách H1N1 A/Puerto Rico/8/34 đã thích ứng chuột nhắt và được theo dõi (sự sống sót, khối lượng, điểm lâm sàng) trong thời gian 3 tuần. Tỉ lệ sống sót khi kết thúc theo dõi là thông số kết quả cơ bản.

Kết quả

Đã chứng minh được rằng UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 2% mang lại sự bảo vệ đáng kể ($P \leq 0.003$; kiểm định chính xác Fisher, sự hiệu chỉnh Bonferroni trên các cấu trúc, và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) đối với tất cả các liều

lượng, ngoại trừ 0,03 μg , so với nhóm PBS. Tỷ lệ sống sót của nhóm 30 μg UFV160664 (100%) giống với nhóm 30 μg UFV4900 (100%) (Hình 17; ô trên).

Sự giảm khối lượng cơ thể (được xác định bằng diện tích dưới đường cong) được giảm đi đáng kể ($P \leq 0,026$; ANOVA, sự hiệu chỉnh Bonferroni 2 lần trên các cấu trúc, và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) đối với tất cả các liều lượng, so với nhóm PBS. Sự giảm khối lượng cơ thể của nhóm 30 mcg UFV160664 có thể so sánh được với nhóm 30 mg UFV4900 (Hình 17, ô dưới).

Kết luận

Theo sáng chế, đã chứng minh được rằng UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 2% tạo ra sự bảo vệ trong mô hình thử thách chuột nhắt H1N1 A/Puerto Rico/8/34 gây chết. Hiệu quả bảo vệ có thể so sánh được với UFV4900 đã được bổ trợ với Adjuplex 2%.

Ví dụ 12: Polypeptit theo sáng chế gây miễn dịch và thể hiện hiệu quả có thể so sánh được tương quan với vắc xin tiêu chuẩn chăm sóc trong mô hình thử thách chồn sương nguyên bản H1N1 A/Netherlands/602/09

Trong Ví dụ này, khả năng gây miễn dịch và hiệu quả bảo vệ *in vivo* (dựa trên tải lượng virus phổi khi kết thúc theo dõi) của hai liều lượng của UFV160664 so với các con vật được gây miễn dịch chỉ bằng tá dược và so với vắc xin cúm mùa tiêu chuẩn chăm sóc trong mô hình thử thách chồn sương nguyên bản H1N1 A/Netherlands/602/09 được đánh giá.

Các nhóm ($n=6$) của chồn sương cái nguyên bản được gây miễn dịch trong cơ ba lần, cách nhau 3 tuần, bằng 50 hoặc 5 μg UFV160664 được bổ trợ với Adjuplex 5%. Nhóm đối chứng âm được gây miễn dịch chỉ bằng tá dược. Nhóm tham chiếu thể hiện tiêu chuẩn chăm sóc được gây miễn dịch bằng vắc xin cúm mùa tiêu chuẩn chăm sóc (SoC) có trên thị trường. Bốn tuần sau lần gây miễn dịch cuối cùng các con vật được thử thách trong khí quản bằng 10^6 TCID₅₀ H1N1 A/Netherlands/602/09 vào ngày 0. Trong khoảng thời gian theo dõi 4 ngày một vài thông số virus học và lâm sàng được ghi nhận.

Kết quả

Đã chứng minh được rằng cả hai liều lượng của UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 5% gây ra độ chuẩn kháng thể đặc hiệu HA H1 A/California/07/09 cao hơn đáng kể so với các độ chuẩn nhóm chỉ dùng tá dược ($P < 0,001$; ANOVA bị thiếu, với kiểm định t hậu kiểm. Sự hiệu chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất), trong khi SoC thì không (Hình 18). Cả hai liều lượng của UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 5% gây ra độ chuẩn kháng thể đặc hiệu HA H1 A/California/07/09 cao hơn đáng kể so với các độ chuẩn nhóm chỉ dùng tá dược ($P < 0,001$; ANOVA bị thiếu, với kiểm định t hậu kiểm, sự hiệu chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất), trong khi SoC thì không (Hình 18).

Ngoài ra, cả hai liều lượng của UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 5% gây ra các độ chuẩn kháng thể đặc hiệu thân HA H1 A/California/07/09 cao hơn đáng kể (đo được bằng thử nghiệm cạnh tranh CR9114) so với các độ chuẩn nhóm chỉ dùng tá dược ($P < 0,001$; ANOVA bị thiếu, với kiểm định t hậu kiểm, sự hiệu chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất), trong khi SoC thì không (Hình 19).

Liều lượng 50 μ g UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 5% và SoC làm giảm đáng kể tải lượng virus phổi so với các độ chuẩn nhóm chỉ dùng tá dược (50 μ g UFV160664: $P < 0,001$, SoC: $P < 0,05$; ANOVA bị thiếu, với kiểm định t hậu kiểm, sự hiệu chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) (Hình 20).

Kết luận

Theo sáng chế đã chứng minh được rằng cả hai liều lượng của UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 5% gây miễn dịch và liều lượng 50 μ g mang lại sự bảo vệ có thể so sánh được với nhóm tham chiếu vắc xin SoC.

Ví dụ 13: Polypeptit theo sáng chế thể hiện hiệu quả có thể so sánh được tương quan với đối chứng dương trong mô hình thử thách chôn sương nguyên bản H5N1 A/Indonesia/05/05

Trong Ví dụ này, khả năng gây miễn dịch và hiệu quả bảo vệ *in vivo* (dựa trên tải lượng virus phổi khi kết thúc theo dõi) của hai liều lượng của UFV160664 được đánh

giá so với các con vật được gây miễn dịch chỉ bằng tá được và với nhóm đối chứng dương, được gây miễn dịch bằng H5 FL HA tương đồng với chủng thử thách (thăm dò) trong mô hình thử thách chồn sương nguyên bản H5N1 A/Indonesia/05/05 thuộc kiểu phụ khác loại.

Các nhóm (n=6) của chồn sương cái nguyên bản được gây miễn dịch trong cơ ba lần, cách nhau 3 tuần, bằng 50 hoặc 5 μ g UFV160664 được bổ trợ với Adjuvlex 5%. Nhóm đối chứng âm được gây miễn dịch chỉ bằng tá được. Nhóm đối chứng dương được gây miễn dịch HA H5 A/Indonesia/05/05 đã được bổ trợ với Adjuvlex 5%, tương đồng với chủng thử thách. Bốn tuần sau lần gây miễn dịch cuối cùng các con vật được thử thách trong khí quản bằng 10^5 TCID₅₀ H5N1 A/Indonesia/05/05 vào ngày 0. Trong khoảng thời gian theo dõi 5 ngày một vài thông số virus học và lâm sàng được ghi nhận.

Kết quả

Đã chứng minh được rằng các con vật được gây miễn dịch bằng cả hai liều lượng của UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuvlex 5% và nhóm đối chứng dương sống sót sau khoảng thời gian theo dõi, trong khi tỉ lệ sống sót của nhóm chỉ có tá được là 25% (Hình 21). Sự giảm khối lượng cơ thể tích lũy trong quá trình theo dõi được giảm đi đối với bốn trong số 6 con vật được gây miễn dịch bằng 50 μ g UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuvlex 5% so với nhóm chỉ dùng tá được. Nhóm đối chứng dương có sự giảm có thể so sánh được của sự giảm khối lượng cơ thể đối với bốn con vật của nhóm 50 μ g UFV160664, và sự giảm đi của sự giảm khối lượng cơ thể nhỏ hơn đáng kể so với nhóm chỉ dùng tá được ($P < 0,001$; ANOVA, với kiểm định t hậu kiểm, sự hiệu chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) (Hình 22).

Cả 50 mcg UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuvlex 5% và nhóm đối chứng dương làm giảm đáng kể tải lượng virus phổi so với nhóm chỉ dùng tá được (50 μ g UFV160664: $P < 0,01$, đối chứng dương: $P < 0,05$; ANOVA bị thiếu, với kiểm định t hậu kiểm, sự hiệu chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) (Hình 23).

Cả 50 μ g UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuvlex 5% và nhóm đối chứng dương làm giảm đáng kể tải lượng virus họng tích lũy (dịch phết hàng ngày) so với nhóm chỉ

dùng tá dược (50 mcg UFV160664: $P < 0,05$, đối chứng dương: $P < 0,001$; ANOVA, với kiểm định t hậu kiểm, sự hiệu chỉnh Bonferroni đối với nhiều phép so sánh và thử nghiệm từng bước, bắt đầu ở liều lượng cao nhất) (Hình 24).

Kết luận

Theo sáng chế, đã chứng minh được rằng cả hai liều lượng UFV160664 5 μg và 50 μg đều ngăn chặn sự tử vong. Ngoài ra, liều lượng UFV160664 50 μg làm giảm sự giảm khối lượng cơ thể và làm giảm đáng kể tải lượng virus phổi và hòng, có thể so sánh được với nhóm đối chứng dương.

Ví dụ 14: Khả năng gây miễn dịch thể dịch và tế bào sau khi gây miễn dịch chuột nhắt nguyên bản bằng vector adenovirus biểu hiện polypeptit theo sáng chế

Trong Ví dụ này, khả năng gây miễn dịch thể dịch và tế bào của khoảng liều lượng của vector adeno 26 (Ad26) chứa axit nucleic biểu hiện polypeptit theo sáng chế (cụ thể là polypeptit UFV 171590), được đánh giá. Để so sánh, chuột nhắt đối chứng được gây miễn dịch bằng vector adeno rỗng, liều lượng cố định của protein UFV160664 đã được bổ trợ với Adjuplex 2%, hoặc chế độ gây miễn dịch dị loại của liều mỗi UFV171590, liều tăng cường UFV160664 đã được bổ trợ, được đánh giá.

Các nhóm của chuột nhắt BALB/c cái tiếp nhận hai lần gây miễn dịch trong cơ, cách nhau bốn tuần. Ba nhóm của tám chuột nhắt được gây miễn dịch bằng 10^8 , 10^9 hoặc 10^{10} hạt virus (vp) của UFV171590. Để làm đối chứng âm, bốn chuột nhắt tiếp nhận hai lần gây miễn dịch bằng 10^{10} vp của vector adeno rỗng (Ad26_empty). Nhóm gồm năm chuột nhắt tiếp nhận hai protein lần gây miễn dịch bằng 30 μg UFV160664 dạng trime hòa tan được bổ trợ với Adjuplex 2%. Nhóm gồm năm chuột nhắt tiếp nhận sự gây miễn dịch mỗi bằng 10^{10} vp UFV171590, sau đó là sự gây miễn dịch tăng cường bằng 30 μg UFV160664 được bổ trợ với Adjuplex 2%. Ba tuần sau sự gây miễn dịch tăng cường chuột nhắt bị giết chết và mẫu máu và lách được phân lập lần lượt để phân tích đáp ứng miễn dịch thể dịch đối với H1 A/California/07/09 (ELISA chiều dài đầy đủ (FL) và ELISA cạnh tranh thân) và đáp ứng miễn dịch tế bào đối với peptit UFV160664 (ELISpot tế bào T).

Kết quả

Đã chứng minh được rằng tất cả các liều lượng của vector adeno chứa axit nucleic biểu hiện polypeptit theo sáng chế này gây ra các độ chuẩn liên kết H1 A/California FL HA ELISA đáng kể so với sự gây miễn dịch bằng vector rỗng (10^8 vp, 10^9 vp và 10^{10} vp: $p < 0,001$, mô hình hồi quy Tobit dựa trên thử nghiệm tỉ lệ khả năng xảy ra). (Hình 25). Ngoài ra, các độ chuẩn kháng thể đặc hiệu thân HA đáng kể (đo được bằng thử nghiệm cạnh tranh CR9114) được gây cảm ứng bằng 10^9 và 10^{10} vp của UFV171590 so với vector rỗng ($p < 0,001$; mô hình hồi quy Tobit dựa trên thử nghiệm tỉ lệ khả năng xảy ra) (Hình 26). Cả lần môi-tăng cường bằng UFV160664 đã được bổ trợ cũng như là lần môi UFV171590, lần tăng cường UFV160664 đã được bổ trợ, gây ra các độ chuẩn liên kết H1 A/California/07/09 FL HA đáng kể (Hình 25) và các độ chuẩn kháng thể đặc hiệu thân HA ($p < 0,001$ mô hình hồi quy Tobit dựa trên thử nghiệm tỉ lệ khả năng xảy ra) (Hình 26).

Ngoài đáp ứng thể dịch đáng kể, UFV171590 gây ra đáp ứng tế bào T IFN- γ đáng kể so với vector rỗng như đo được sau khi kích thích bằng peptit UFV160664 bằng ELISpot tế bào T (Hình 27). Tất cả các liều lượng của UFV171590 gây ra đáp ứng tế bào T đáng kể ($p < 0,001$; mô hình hồi quy Tobit dựa trên thử nghiệm tỉ lệ khả năng xảy ra), cũng như là nhóm của chuột nhất mà tiếp nhận sự gây miễn dịch môi UFV171590 sau đó là sự gây miễn dịch tăng cường UFV160664 ($p < 0,001$). Hai lần gây miễn dịch bằng UFV160664 đã được bổ trợ không gây ra đáp ứng tế bào T IFN- γ có thể phát hiện được (Hình 27).

Kết luận

Đã chứng minh được rằng vector adeno 26 biểu hiện polypeptit theo sáng chế (UFV171590) gây ra các đáp ứng thể dịch và tế bào đáng kể đối với H1 A/California/07/09 FL HA trong mô hình chuột nhất, trong chế độ gây miễn dịch tương đồng hoặc kết hợp với lần tăng cường UFV160664 đã được bổ trợ. UFV160664 đã được bổ trợ cũng gây ra đáp ứng miễn dịch thể dịch đáng kể nhưng không gây ra đáp ứng tế bào T có thể phát hiện được khi không có sự môi bằng UFV171590.

Ví dụ 15: Sự truyền đột biến từ polypeptit 160664 đến các khung nhóm 1 khác nhau

Sự biểu hiện protein trong tế bào động vật có vú

Các mảnh ADN mã hóa cho các polypeptit khác theo sáng chế (tức là dựa trên các khung HA khác nhau, xem Hình 28A) được tổng hợp (Genscript) và được tách dòng trong plasmit pcDNA2004 (vector pcDNA3 được cải biến nội bộ với vùng khởi động CMV được tăng cường). Polypeptit được sản xuất trong tế bào Expi-CHO nuôi cấy trong Môi trường biểu hiện ExpiCHOTM bằng sự chuyển nạp tạm thời bằng cách sử dụng ExpiFectamineTM (Gibco, ThermoFisher Scientific). Bổ sung vào môi trường nuôi cấy tế bào Expi-CHO chất tăng cường ExpiFectamine CHO và thức ăn ExpiCHO (Gibco, ThermoFisher Scientific) 1 ngày sau chuyển nạp. Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy chứa polypeptit đã được tiết ra được thu hoạch vào ngày 7 bằng ly tâm sau đó là lọc 0,2 μm .

Phân tích dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy

Mức độ của polypeptit được biểu hiện trong dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch được đánh giá thông qua phương pháp Giao Thoa Lớp Sinh Học bằng cách sử dụng nền tảng OCTET. Nói ngắn gọn, mAb CR9114 đã được biotinyl hóa được giữ cố định trên cảm biến sinh học Streptavidin (SA) (Pall FortéBio) sau đó đường cong tiêu chuẩn được thiết lập bằng cách đánh giá độ dịch chuyển liên kết của dãy pha loãng của polypeptit tương đồng được tinh chế hoàn toàn xác định. Tiếp đó độ dịch chuyển liên kết của dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy đã được thu hoạch đã được pha loãng từ trước chứa polypeptit ($\sim 5\text{-}15\text{ }\mu\text{g/ml}$ được pha loãng trong chất đệm động học) được đo và nồng độ được tính bằng cách sử dụng đường cong định cỡ đã thiết lập.

Thứ hai, hàm lượng của polypeptit theo sáng chế trong sản phẩm thu hoạch môi trường nuôi cấy Expi-CHO được đánh giá bằng SEC phân tích trong thiết lập dây Sắc Ký Lỏng Hiệu Năng Cao (HPLC) Infinity 1260 (Agilent). Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy chứa dịch tiêm protei polypeptit $\sim 3\mu\text{g}$ n, ngoại trừ đối với UFV180500 ($0,8\mu\text{g}$), được chạy (1ml/phút) qua cột TSK gel G3000SWxl (Sigma-Aldrich) và dịch rửa giải được theo dõi bằng sự phát hiện UV (OD280, mAU). Biên dạng SEC được phân tích bằng gói phần mềm Astra 6 (Wyatt Technology). Sự cuộn gập của polypeptit được đánh giá bằng Thử Nghiệm Đồng Nhất Được Khuếch Đại (AlphaLISA). Thử nghiệm cân bằng trong-dung dịch và trong-liên kết được dựa trên sự liên kết thành công của cả hạt cho và hạt nhận với polypeptit. Khi ở khoảng cách gần, sự chiếu laze của hạt cho ở 680nm tạo ra dòng oxy mức đơn, kích hoạt các sự kiện hóa học ở hạt nhận ở gần, dẫn

đến sự phát quang hóa học ở 615nm. Thử nghiệm AlphaLISA được thực hiện bằng sự bổ sung đồng thời của hạt cho Niken (10 µg/ml) và hạt nhận kháng-IgG người (10 µg/ml, đều của PerkinElmer) vào dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy trong sự có mặt của CR9114 (2nM) hoặc MD3606 (2nM). Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy chứa polypeptit được chuẩn độ trong khoảng pha loãng 3 lần bắt đầu ở 1667 ng/ml. Việc đọc kết quả được thực hiện sau khi 2 giờ ủ (nhiệt độ trong phòng) bằng cách sử dụng máy đọc đĩa nhiều chế độ EnSight™ (PerkinElmer).

Kết quả và kết luận

Phân tích của 35ml thể biến nạp ExpiCHO cho thấy polypeptit được gắn đuôi His được biểu hiện (Hình 28A). Mức độ biểu hiện thay đổi trong khoảng 42mg/l (khung H5 A/Vietnam/1203/04) lên đến 375mg/l (khung H1 A/California/07/09) và chỉ ra rằng tất cả các polypeptit biểu hiện tốt. Ngoài ra, biên dạng SEC (Hình 28B) cho thấy rằng đối với mỗi polypeptit được biểu hiện phân đoạn trime (T) và monome (M) đáng kể có thể phát hiện được. Sự khác biệt ở hàm lượng trime và monome tương đối được quan sát thấy tùy thuộc vào chủng khung được sử dụng. Để đánh giá thêm sự cuộn gấp đúng của polypeptit, sự liên kết của kháng thể liên quan (CR9114) và đa miền (MD3606) được đánh giá bằng AlphaLISA. Đối với tất cả các polypeptit tín hiệu liên kết đối với cả CR9114 và MD3606 được quan sát thấy (Hình 28C). Sự biểu hiện, biên dạng SEC và dữ liệu liên kết chỉ ra rằng các đột biến theo sáng chế (ví dụ như các đột biến của UFV160664, mà được dựa trên chủng A/California/07/09) có thể chuyển được đến các khung Nhóm 1 khác. Do đó, các polypeptit UFV180496, UFV180497, UFV190498, UFV180499, UFV180500 và UFV180501, đều được cuộn gấp đúng và có dạng trime và được tiết vào dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy.

Bảng 12. Axit amin chuẩn, các chữ viết tắt và đặc tính

Axit Amin	3-Chữ cái	1-Chữ cái	Tính phân cực của chuỗi bên	Điện tích của chuỗi bên (pH 7,4)
alanin	Ala	A	không phân cực	Trung tính
arginin	Arg	R	phân cực	Điện tích dương
asparagin	Asn	N	phân cực	Trung tính
axit aspartic	Asp	D	phân cực	Điện tích âm

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bommakanti et al. (2010), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107(31): 13701-13706.

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

Ciani et al. (2010), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107(46):19850-19855.

Ekiert et al. (2009), Science 324:246.

Ekiert et al. (2011), Science 333: 844.

Das et al. (1985), Prog Nucleic Acid Res Mol Biol 32: 217-236.

Gill et al. (2001), Gene Therapy 8: 1539-1546.

Kaufmann (2000), Mol Biotechnol 16: 151-160.

Letarov et al. (1993), Biochemistry Moscow 64: 817-823.

Lorieau et al. (2010), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107: 11341.

Lu et al. (2014), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 111: 125-130.

Mallajosyula et al. (2014), PNAS, published online June 9, 2014: E2514-E2523.

S-Guthe et al. (2004), J. Mol. Biol. 337: 905-915.

Steel et al. (2010), mBio 1(1): 1-9.

Throsby et al. (2008), Plos One 12(3): 1-15.

Winter et al. (1981) Nature 292: 72-75.

CÁC TRÌNH TỰ

SEQ ID NO 1: H1 chiều dài đầy đủ (A/Brisbane/59/2007)

MKVKLLVLLC TFTATYADTI CIGYHANNST DTVDTVLEKN VTVTHSVNLL 50
 ENSHNGKLCL LKGIAPLQLG NCSVAGWILG NPECELLISK ESWSYIVEKP 100
 NPENGTCYPG HFADYEELRE QLSSVSSFER FEIFPKESSW PNHTVTGVSA 150
 SCSHNGESSF YRNLLWLTGK NGLYPNLSKS YANNKEKEVL VLWGVHHPPN 200
 IGDQKALYHT ENAYVSVVSS HYSRKFTPEI AKRPKVRDQE GRINYYWTLL 250
 EPGDTIIFEA NGNLIAPRYA FALSARGFGSG IINSNAPMDK CDAKCQTPQG 300
 AINSSLPFQN VHPVTIGECP KYVRS AKLRM VTGLRNIPSI QSRGLFGAIA 350
 GFIEGGWTGM VDGWYGYHHQ NEQSGGYAAD QKSTQNAING ITNKVNSVIE 400
 KMNTQFTAVG KEFNKLERRM ENLNKKVDDG FIDIWTYNAE LLVLLENERT 450
 LDFHDSNVKN LYEKVKSQK NNAKEIGNGC FEFYHKCNDE CMESVKNGTY 500
 DYPKYSEESK LNREKIDGVK LESMGVYQIL AIYSTVASSL VLLVSLGAIS 550
 FWMCSNGSLQ CRICI 565

SEQ ID NO 2: H1 chiều dài đầy đủ (A/California/07/2009)

MKAILVLLLYTFATANADTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKL
 CKLRGVAPLHLGKCNIAGWILGNPECESLSTASSWSYIVETPSSDNGTCYPGDFIDYE
 ELREQLSSVSSFERFEIFPKTSSWPNHDSNKGVTAAACPHAGAKSFYKNLIWLKKGNS
 YPKLSKSYINDKGKEVLVLWGIHHPSTSADQQSLYQNADAYVFGSSRYSKKFKPEIA
 IRPKVRDQEGRMNYYWTLVEPGDKITFEATGNLVVPRYAFAMERNAGSGIIISDTPVH
 DCNTTCQTPKGAINSTLPPFQNIHPITIGKCPKYVKSTKLRLATGLRNIPSIQSRGLFG
 AIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQ
 FTAVGKEFNHLEKRIENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLLENERTLDYHDSNVKNLYE
 KVRSQLKNNAKEIGNGC FEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDGVKL
 ESTRIYQILAIYSTVASSLVLVSLGAISFWMCSNGSLQCRICI

SEQ ID NO 3: A/Texas/UR06-0526/2007 (H1N1)

MKVKLLVLLCTFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKL
CLLKGTAPLQLGNCSVAGWILGNPECELLISKESWSYIVETPNPENGTCPGYFADYE
ELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHVTGTGVSASCSHNGKSSFYRNLLWLTGKNGLY
PNLSKSYANNKEKEVLVLWGVHHPNIGDQRALYHTENAYVSVVSSHYSRRFTPEIAK
RPKVRDQEGRINYWTLLLEPGDTIIFEANGNLIAPRFAFALS RGFSGGIITSNAPMGE
CDAKCQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRS AKLRMVTGLRNIPSIQSRGLFGA
IAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQF
TAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLV LLENERTLDFHDSNVKNLYEK
VKNQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLE
SMGVYQILAIYSTVASSLVLLISLGAISFWMC SNGSLQCRICI

SEQ ID NO 4: A/NewYork/629/1995 (H1N1)

MKVKLLVLLCAFTATYADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKL
CRLKGTAPLQLGNCSVAGWILGNPECESLFSKESWSYIAETPNPENGTCPGYFADYE
ELREQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHVTKGVTASCSHNGKSSFYKNLLWLTEKNGL
YPNLSKSYVNNKEKEVLVLWGVHHP SNIGDQRAIYHTENAYVSVVSSHYSRRFTPEIA
KRPKVRDQEGRINYWTLLLEPGDTIIFEANGNLIAPWYAFALS RGFSGGIITSNASMS
ECDAKCQTPQGAINSSLPFQNVHPVTIGECPKYVRSTKLRMVTGLRNIPSIQSRGLFG
AIAGFIEGGWTGMIDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAIDGITNKVNSVIEKMNTQ
FTAVGKEFNKLERRMENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLV LLENERTLDFHDSNVKNLYE
KVKNQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNNECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKL
ESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFWMC SNGSLQCRICI

SEQ ID NO 5: A/AA_Marton/1943 (H1N1)

MKARLLVLLCALAATDADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKL
CRLKGIAPLQLGKCNIAGWILGNPECESLLSERSWSYIVETPNSENGTCYPGDFIDYE
ELREQLSSVSSFERFEIFSKESSWPKHNTTRGVTAACSHAGKSSFYRNLLWLTEKDGS
YPNLNNSYVNKKGKEVLVLWGVHHP SNIKDQQTLYQKENAYVSVVSSSNYNRRFTPEIA
ERPKVRGQAGRMNYYWTLLKPGDTIMFEANGNLIAPWYAFALS RGFSGGIITSNASMH

ECDTKCQTPQGAINSSLFPQNIHPVTIGECPKYVRSTKLRMVTGLRNIPSIQSRGLFG
 AIAGFIEGGWTGMIDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIEKMNTQ
 FTAVGKEFNNLEKRMENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLLLENERTLDFHDSNVKNLYE
 KVKNQLRNNAKEIGNGCFEFYHKCNNECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKL
 ESMGVYQILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFWMCSNGSLQCRICI

SEQ ID NO 6: A/Adachi/2/57 (H2N2)

MAIIYLILLFTAVRGDQICIGYHANNSTEKVDITLERNVTVTTHAKDILEKTHNGKLCK
 LNGIPPLELGDCSIAGWLLGNPECDRLLSVPEWSYIMEKENPRNGLCYPGSFNDYEEL
 KHLSSSVKHFEKVKILPKDRWTQHTTTGGSQACAVSGNPSFFRNMVWLTKKGS DYPVA
 KGSYNNTSGEQMLIIWGVHHPIDETEQR TLYQNVGTYSVGTSTLNKRSTPEIATRPK
 VNGLGSRMEFSWTLLDMWDTINFESTGNLIAPEYGFKISKRGSSGIMKTEGTLENCET
 KCQTPLGAINTTLPFHNHPLTIGECPKYVKSEKLVLATGLRNVPQIESRGLFGAIAAG
 FIEGGWQGMVDGWYGYHHSNDQSGSYAADKESTQKAFDGITNKVNSVIEKMNTQFEAV
 GKEFGNLERRLENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRM
 QLRDNVKELGNGCFEFYHKCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMG
 VYQILAIYATVAGSLSLAIMMAGISFWMCSNGSLQCRICI

SEQ ID NO 7: A/Singapore/1/57 (H2N2)

MAIIYLILLFTAVRGDQICIGYHANNSTEKVDITLERNVTVTTHAKDILEKTHNGKLCK
 LNGIPPLELGDCSIAGWLLGNPECDRLLSVPEWSYIMEKENPRDGLCYPGSFNDYEEL
 KHLSSSVKHFEKVKILPKDRWTQHTTTGGSRACAVSGNPSFFRNMVWLTEKGSNYPVA
 KGSYNNTSGEQMLIIWGVHHPNDEKEQR TLYQNVGTYSVGTSTLNKRSTPDIATRPK
 VNGLGSRMEFSWTLLDMWDTINFESTGNLIAPEYGFKISKRGSSGIMKTEGTLENCET
 KCQTPLGAINTTLPFHNHPLTIGECPKYVKSEKLVLATGLRNVPQIESRGLFGAIAAG
 FIEGGWQGMIDGWYGYHHSNDQSGSYAADKESTQKAFDGITNKVNSVIEKMNTQFEAV
 GKEFSNLERRLENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRM
 QLRDNVKELGNGCFEFYHKCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMG
 VYQILAIYATVAGSLSLAIMMAGISFWMCSNGSLQCRICI

SEQ ID NO 8: A/Viet Nam/1203/2004 H5N1)

MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDILEKKHNGKLC
DLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINPEWSYIVEKANPVNDLCYPGDFNDYEE
LKHLLSRINHFEEKIQIIPKSSWSSHEASLGVSSACPYQGKSSFFRNVVWLIKKNSTYP
TIKRSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLNQRLVPRIATR
SKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKGDSTIMKSELEYGNC
NTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRLVLATGLRNSPQRERRRKKRGL
FGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGGYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMN
TQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNL
YDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGV
KLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCSNGSLQCRICI

PROTEIN VH >CR9114 (SEQ ID NO: 9)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGST
AYAQKFQGRVTISADIFSN TAYMELNSLTSED TAVYFCARHGNYYYYS GMDVWGQGT
TVTVSS

PROTEIN VL >CR9114 (SEQ ID NO: 10)

SYVLTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWYQQFPGTAPKLLIYSNDQRPSV
VPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLKGAVFGGGTQLTVL

PROTEIN VH >CR6261 (SEQ ID NO: 11)

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F
R S Y A I S W V R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T
K Y A P K F Q G R V T I T A D D F A G T V Y M E L S S L R
S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W G K G T T
V T V S S

PROTEIN VL >CR6261 (SEQ ID NO: 12)

Q S V L T Q P P S V S A A P G Q K V T I S C S G S S S N I
G N D Y V S W Y Q Q L P G T A P K L L I Y D N N K R P S G

I P D R F S G S K S G T S A T L G I T G L Q T G D E A N Y
Y C A T W D R R P T A Y V V F G G G T K L T V L G

SEQ ID NO 13: SD15016

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGMFFGIAAMGWYRQAPGKQRELVANITSDFSTN
YADSVKDRFTISRDN AENTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAADSLGTGWRHYYYWGQGTQV
TVSSAAAWSH PQFEKGAAW SH PQFEKGAAW SH PQFEK

SEQ ID NO: 14: SD15004

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSISIFDIYAMDWYRQAPGKQ RDLVATSF RDGSTN
YADSVKGRFTISRDN AKNTLY LQMNSLKPEDTAVYLCHVSLYRDPLGVAGGMGVYWGK
GALVTVSSAAAWSH PQFEKGAAW SH PQFEKGAAW SH PQFEK

SEQ ID NO: 15 haemagglutinin CAA24269.1 (Virut cúm A
(A/Aichi/2/1968(H3N2) (không bao gồm trình tự tín hiệu)

QDLPGNDNST ATLCLGHHAV PNGTLVKTIT DDQIEVTNAT ELVQSSSTGK 50
ICNNPHRILD GIDCTLIDAL LGDPHCDVFQ NETWDLFVER SKAFSNCYPY 100
DVPDYASLRS LVASSGTLEF ITEGFTWTGV TQNGGSNACK RGP GSGFFSR 150
LNWLTKSGST YPVLNVTMPN NDNFDKLYIW GIHPSTNQE QTSLYVQASG 200
RVTVSTRRSQ QTIIPNIGSR PWVRGLSSRI SIYWTIVKPG DVLVINSNGN 250
LIAPRGYFKM RTGKSSIMRS DAPIIDTCISE CITPNGSIPN DKPFQNVNKI 300
TYGACPKYVK QNTLKLATGM RNVPEKQTRG LFGAIAGFIE NGWEGMIDGW 350
YGFRHQNSEG TGQAADLKST QAAIDQINGK LNRVIEKTNE KFHQIEKEFS 400
EVEGRIQDLE KYVEDTKIDL WSYNAELLVA LENQHTIDLT DSEMKNLF EK 450
TRRQLRENAE EMGN GCFKIY HKCDNACIES IRNGTYDHDV YRDEALNNRF 500
QIKGVELKSG YKDWILWISF AISCFLLCVV LLGFIMWACQ RGNIRCNICI 550

SEQ ID NO 16: UFV5367

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVN LLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQ LKNNAKEIGNGC FEFYHKCNDECMESVKN GTYDYPKYSEESKLN R
EKIDGVKLESMGVYQI

SEQ ID NO 17: UFV5369

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 135: UFV150553

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLENGGGGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEFKNSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNR
EKIDGVKLESMGVYQI

SEQ ID NO 30: UFV150558

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 31: UFV150559

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEFKNSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 32: UFV150565

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLENGGGGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDFHD

SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILAIY

SEQ ID NO 33: UFV150566

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLENG GGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVYQILA

SEQ ID NO 34: UFV150567

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLENG GGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMGVY

SEQ ID NO 35: UFV150568

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLENG GGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLESMG

SEQ ID NO 36: UFV150569

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLENG GGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKIDGVKLES

SEQ ID NO 37: UFV150570

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLENG GGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADQKSTQNAINGITNKVNS

VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN
EKIDGVKL

SEQ ID NO 38: UFV150571

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN
EKIDGV

SEQ ID NO 39: UFV150572

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN
EKID

SEQ ID NO 40: UFV150573

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN
EK

SEQ ID NO 41: UFV150574

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN

SEQ ID NO 42: UFV150575

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSYAADLKSTQNAIDEITNKVNS

VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLNERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQILAIY

SEQ ID NO 43: UFV150576

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLNERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQILA

SEQ ID NO 44: UFV150577

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLNERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIY

SEQ ID NO 45: UFV150578

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLNERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTR

SEQ ID NO 46: UFV150579

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLNERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLES

SEQ ID NO 47: UFV150580

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKL

SEQ ID NO 48: UFV150581

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGV

SEQ ID NO 49: UFV150582

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEID

SEQ ID NO 50: UFV150583

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EE

SEQ ID NO 51: UFV150584

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENERTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR

SEQ ID NO 52: UFV150849

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLEFHD
SNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN
EKIDGVKLESMGVYQI

SEQ ID NO 53: UFV150850

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLEYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLN
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 54: UFV150552

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLD
FHD
ANVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN
EKIDGVKLESMGVYQI

SEQ ID NO 55: UFV160088

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLENGGGGKYVCSAKLRMVTGLRNKPS
KQSRGLFGAIAGFIEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNS
VIEKMNTQRTAICKEYPKSEQRMECLEKKVDDIEKKIWCYNAELLVLLLENQRTLEFHD
INVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFFEFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLN
EKIDGVKLESMGVYQI

SEQ ID NO 56: UFV160090

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCIEALEKKVDDIEKKIWCYNAELLVLLLENQRTLEYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLN
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 57: UFV160093

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGKECNKSERCIEALEKKVDDIEKKIWCYNAELLVLLLENQRTLEYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 58: UFV160097

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCМКQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLEYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 59: UFV160301

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQRRRKGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNK
VNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCМКQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLE
YHDSNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAK
LNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 60: UFV160302

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSRGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCМКQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLEYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 61: UFV160303

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSRGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCМКQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD

SNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 62: UFV160304

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSRGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQYTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLEYHD
SNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO: 63: UFV160360

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 64: UFV160361

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKKYVCSTKLRLATGLRNKPSKQSQ
GLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEK
MNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDANVK
NLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEID
GVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 65: UFV160362

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKKYVCSTKLRLATGLRNKPSKQS
QGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIE
KMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDANV
KNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEI
DGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 66: UFV160363

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHKYVCSTKLRLATGLRNKPSKQ
SQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVI

EKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHDAN
VKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREE
IDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 67: UFV160364

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNKYVCSTKLRLATGLRNKPSK
QSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSV
IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHDA
NVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNRE
EIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 68: UFV160365

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 69: UFV160366

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKKYVCSTKLRLATGLRNKP
SKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVN
SVIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYH
DANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLN
REEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 70: UFV160367

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKHNGKLKYVCSTKLRLATGLRNK
PSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKV
NSVIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDY
HDANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKL
NREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 71: UFV160368

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDKHNGKLGKYVCSTKLRLATGLRN
KPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNK
VNSVIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLD
YHDANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAK
LNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 72: UFV160369

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDKHNGKLGPKYVCSTKLRLATGLR
NKPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITN
KVNSVIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTL
DYHDANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEA
KLNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO: 73: UFV160370

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDKHGPKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 74: UFV160371

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDGEGPKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 75: UFV160372

DTLCIGYHANNSTDVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDVCSTKLRLATGLRNKPSKQSQGL
FGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKM
NTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDANVKNL
YEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDGV
KLESTRIYQI

SEQ ID NO 76: UFV160373

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDKVCSTKLRLATGLRNKPSKQSQG
LFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEKM
NTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDANVKN
LYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEIDG
VKLESTRIYQI

SEQ ID NO 77: UFV160374

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDKHVCSTKLRLATGLRNKPSKQSQ
GLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIEK
MNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDANVK
NLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEID
GVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 78: UFV160375

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDKHNVCSSTKLRLATGLRNKPSKQS
QGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIE
KMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDANV
KNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEI
DGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 79: UFV160376

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDKHNGVCSTKLRLATGLRNKPSKQ
SQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVI
EKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDAN
VKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREE
IDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 80: UFV160377

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDKHNGKVCSTKLRLATGLRNKPSK
QSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSV
IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDA
NVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNRE
EIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 81: UFV160378

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDKHNGKLV CSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTL DYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 82: UFV160379

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDKHNGKLGVCSTKLRLATGLRNKP
SKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVN
SVIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTL DYH
DANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLN
REEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 83: UFV160380

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDAGSGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTL DYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 84: UFV160381

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDAGSKYVCSTKLRLATGLRNKPSK
QSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSV
IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTL DYHDA
NVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNRE
EIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 85: UFV160382

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDAGSGIKYVCSTKLRLATGLRNKP
SKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKSTQNAIDEITNKVN
SVIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTL DYH

DANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNNGTYDYPKYSEEAKLN
REEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 86: UFV160383

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDAGSGIVCSTKLRLATGLRNKPSK
QSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSV
IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHDA
NVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNNGTYDYPKYSEEAKLNRE
EIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 87: UFV160384

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDGSGIKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 88: UFV160385

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDGSGKYVCSTKLRLATGLRNKPSK
QSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSV
IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHDA
NVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNNGTYDYPKYSEEAKLNRE
EIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 89: UFV160386

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDHAGAKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 90: UFV160387

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLEDDQEGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS

VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 91: UFV160388

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDDTPVKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 92: UFV160389

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDFPKTKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 93: UFV160390

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDEPGDKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 94: UFV160391

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDEPGKYVCSTKLRLATGLRNKPSK
QSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSV
IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDA
NVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNRE
EIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 95: UFV160392

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDTG NLKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO: 96: UFV160393

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDTPSSKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 97: UFV160394

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDTPSKYVCSTKLRLATGLRNKPSK
QSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSV
IEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLDYHDA
NVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNRE
EIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 98: UFV160395

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDATGNKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 99: UFV160396

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTTHSVNLLLEDYPGDKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLDYHD
ANVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNR
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 100: UFV160397

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDYPGDVCSTKLRLATGLRNKPSKQ
SQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVI
EKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHDAN
VKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREE
IDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 101: UFV160503

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSRKRRGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNK
VNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLE
YHDSNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAK
LNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 102: UFV160504

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPKQ
RERRRKKRGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITN
KVNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTL
EYHDSNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEA
KLNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 103: UFV160655

DTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLENSKYVCSAKLRMVTGLRNKPSKQS
QGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKSTQNAINGITNKVNSVIE
KMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDANV
KNLYEKVKSQKNNAKEIGNGCFFYHKCNDECMESVKNGTYDYPKYSEESKLNREKI
DGVKLESMGVYQI

SEQ ID NO 104: UFV160656

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLEDKKYVCSTKLRLATGLRNKPSKQS
QGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIE
KMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDDYHDANV
KNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEI
DGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 105: UFV160657

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLGKYVCSTKLRLATGLRN
KPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNK
VNSVIEKMNTQPTAIGCEYNKSEQCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLD
YHDANVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAK
LNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 106: UFV160658

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKKYVCSTKLRLATGLRNKPSKQS
QGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIE
KMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLEYHDSNV
KNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEI
DGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 107: UFV160659

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLGKYVCSTKLRLATGLRN
KPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNK
VNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLE
YHDSNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAK
LNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO: 108: UFV160663

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDGGGGKYVCSTKLRLATGLRNKPS
KQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNS
VIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHD
SNVKNLYEKVRSQKNNAKEIGNGCFFFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLN
EEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 109: UFV160664

DTLCIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKKYVCSTKLRLATGLRNKPSKQS
QGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIE
KMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLVLLLENQRTLDYHDSNV

KNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEI
DGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 110: UFV160665

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKKYVCSTKLRLATGLRNKPSKQS
QGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADLKSTQNAIDEITNKVNSVIE
KMNTQPTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLDYHDSNV
KNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAKLNREEI
DGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 11: UFV160666

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLGKYVCSTKLRLATGLRN
KPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADLKSTQNAIDEITNK
VNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLD
YHDSNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAK
LNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 112: UFV160667

DTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKHNGKLGKYVCSTKLRLATGLRN
KPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGS GYAADLKSTQNAIDEITNK
VNSVIEKMNTQPTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAELLV LLENQRTLD
YHDSNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGNGCFEFYHKCDNTCMESVKNGTYDYPKYSEEAK
LNREEIDGVKLESTRIYQI

SEQ ID NO 138: UFV160655

ATGAAAGTCAA ACTGCTGGTCCTGCTGTGCACCTTCACCGCCACTTACGCCGACACCA
TCTGTATTGGGTACCACGCTAACA ACTCCACCGACACAGTGGATAACCGTGCTGGAGAA
GAACGTGACCGTGACACACTCTGTGAACCTGCTGGAGAATTCCAAGTACGTCTGCAGC
GCCAAGCTGAGGATGGTGACAGGCCTGAGAAATAAGCCCAGCAAGCAGTCCCAGGGCC
TGTTTCGGAGCAATCGCAGGCTTTACCGAGGGAGGATGGACAGGAATGGTGGACGGATG
GTACGGCTATCACCACCAGAACGAGCAGGGCTCCGGCTATGCCGCCGATCAGAAGTCT
ACCCAGAACGCCATCAATGGCATCACAACAAGGTCAATAGCGTGATCGAGAAGATGA
ACACCCAGCCTACAGCCATCGGCTGCGAGTACAATAAGTCCGAGCAGTGCATGAAGCA
GATCGAGGACAAGATCGAGGAGATCGAGTCTAAGATCTGGTGCTATAACGCCGAGCTG

CTGGTGCTGCTCGAGAATCAGAGGACCCTGGACTTCCACGATGCCAACGTGAAGAATC
TGTACGAGAAGGTGAAGTCCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATCGGCAACGGCTG
TTTCGAGTTTTTACCACAAGTGCAACGACGAGTGTATGGAGTCCGTGAAGAATGGCACA
TACGATTATCCTAAGTATTCTGAGGAGAGCAAACCTGAATCGGGAAAAAATCGATGGCG
TGAAACTGGAATCAATGGGGGTGTATCAGATCTAATAA

SEQ ID NO 139: UFV160656

ATGAAGGCCATCCTGGTGGTGCTGCTGTACACCTTCGCCACAGCCAACGCCGACACCC
TGTGCATCGGGTACCACGCCAACAATTCCACCGACACAGTGGATACAGTGTGGAGAA
GAATGTGACCGTGACACACTCCGTGAACCTGCTGGAGGATAAGAAGTACGTCTGCAGC
ACCAAGCTGAGGCTGGCCACAGGCCTGAGAAACAAGCCAAGCAAGCAGTCCCAGGGCC
TGTTTCGGAGCCATCGCCGGCTTTACCGAGGGAGGATGGACAGGAATGGTGGACGGATG
GTACGGCTATCACCACCAGAACGAGCAGGGCAGCGGATACGCCGCCGACCTGAAGTCC
ACCCAGAATGCCATCGACGAGATTACCAACAAGGTCAATAGCGTGATTGAGAAGATGA
ACACCCAGCCCACAGCCATCGGCTGCGAGTACAATAAGAGCGAGCAGTGTATGAAGCA
GATTGAGGATAAGATTGAGGAGATTGAGTCCAAGATTTGGTGCTATAACGCCGAGCTG
CTGGTGCTGCTCGAGAATCAGAGGACCCTGGACTACCACGATGCCAACGTGAAGAATC
TGTATGAGAAGGTGAGGAGCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATTGGCAACGGCTG
TTTCGAGTTTTTACCACAAGTGCGACAACACCTGTATGGAGTCTGTGAAGAATGGCACA
TACGATTATCCCAAGTATAGCGAGGAGGCCAAGCTGAATCGGGAGGAAATCGATGGCG
TGAAGCTGGAGAGCACCCGCATCTACCAGATCTAATAA

SEQ ID NO 140: UFV160664

ATGAAGGCCATCCTGGTCGTCCTGCTGTACACTTTCGCCACCGCCAACGCTGATACCC
TGTGCATCGGGTACCACGCTAACAACCTCTACCGACACAGTGGATACCGTGCTGGAGAA
GAACGTGACCGTGACACACTCTGTGAATCTGCTGGAGGATAAGAAGTACGTCTGCAGC
ACCAAGCTGAGGCTGGCCACAGGCCTGAGAAACAAGCCCAGCAAGCAGAGCCAGGGCC
TGTTTGGAGCAATTGCAGGCTTTACCGAGGGCGGCTGGACAGGCATGGTGGATGGCTG
GTACGGCTATCACCACCAGAATGAGCAGGGATCTGGATATGCTGCTGACCTGAAGTCT
ACCCAGAATGCCATTGATGAGATCACAACAAGGTCAATAGCGTGATCGAGAAGATGA
ACACCCAGCGGACAGCCATCGGCTGCGAGTACAATAAGTCCGAGAGGTGCATGAAGCA
GATCGAGGACAAGATCGAGGAGATCGAGTCTAAGATCTGGTGCTATAACGCCGAGCTG
CTGGTGCTGCTCGAGAATCAGCGGACCCTGGACTACCACGACAGCAACGTGAAGAATC

TGTATGAGAAGGTGCGCTCCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATCGGCAACGGCTG
TTTCGAGTTTTTACCACAAGTGCGACAACACCTGTATGGAGTCTGTGAAGAATGGCACA
TACGATTATCCCAAGTATAGCGAGGAGGCCAAGCTGAATAGGGAGGAAATCGATGGCG
TGAAGCTGGAGTCTACAAGAATCTACCAGATCTAATAA

SEQ ID NO 141: UFV160665

ATGAAGGCCATCCTGGTCGTCCTGCTGTACACTTTCGCCACCGCCAACGCTGATACCC
TGTGCATCGGGTACCACGCTAACAACCTCTACCGACACAGTGGATAACCGTGCTGGAGAA
GAACGTGACCGTGACACACTCTGTGAATCTGCTGGAGGATAAGAAGTACGTCTGCAGC
ACCAAGCTGAGGCTGGCCACAGGCCTGAGAAACAAGCCCAGCAAGCAGAGCCAGGGCC
TGTTTGGAGCAATTGCAGGCTTTACCGAGGGCGGCTGGACAGGCATGGTGGATGGCTG
GTACGGCTATCACCACCAGAATGAGCAGGGATCTGGATATGCTGCTGACCTGAAGTCT
ACCCAGAATGCCATTGATGAGATCACAAACAAGGTCAATAGCGTGATCGAGAAGATGA
ACACCCAGCCTACAGCCATCGGCTGCGAGTACAATAAGTCCGAGAGGTGCATGAAGCA
GATCGAGGACAAGATCGAGGAGATCGAGTCTAAGATCTGGTGCTATAACGCCGAGCTG
CTGGTGCTGCTCGAGAATCAGCGGACCCTGGACTACCACGACAGCAACGTGAAGAATC
TGTATGAGAAGGTGCGCTCCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATCGGCAACGGCTG
TTTCGAGTTTTTACCACAAGTGCGACAACACCTGTATGGAGTCTGTGAAGAATGGCACA
TACGATTATCCCAAGTATAGCGAGGAGGCCAAGCTGAATAGGGAGGAAATCGATGGCG
TGAAGCTGGAGTCTACAAGAATCTACCAGATCTAATAA

SEQ ID NO 142: UFV171588 (UFV160655+TM)

ATGAAGGTCAAACCTGCTGGTCCTGCTGTGCACTTTTACTGCCACCTACGCTGACACTA
TCTGTATCGGGTACCACGCAAACAACCTCAACCGACACAGTGGATAACCGTGCTGGAGAA
GAACGTGACCGTGACACACTCCGTGAACCTGCTGGAGAATAGCAAGTACGTCTGCAGC
GCCAAGCTGCGGATGGTGACAGGCCTGAGAAATAAGCCCTCTAAGCAGAGCCAGGGAC
TGTTTCGGAGCAATCGCAGGCTTTACCGAGGGAGGATGGACAGGAATGGTGGACGGATG
GTACGGCTATCACCACCAGAACGAGCAGGGCAGCGGCTATGCCGCCGATCAGAAGTCC
ACCCAGAACGCCATCAATGGCATCACAAACAAGGTGAACAGCGTGATCGAGAAGATGA
ACACCCAGCCTACAGCCATCGGCTGCGAGTATAATAAGAGCGAGCAGTGTATGAAGCA
GATCGAGGACAAGATCGAGGAGATCGAGTCCAAGATCTGGTGCTACAACGCCGAGCTG
CTGGTGCTGCTGGAGAATCAGCGCACCCCTGGACTTCCACGATGCCAACGTGAAGAATC
TGTATGAGAAGGTGAAGAGCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATCGGCAACGGCTG

TTTCGAGTTTTACCACAAGTGCAACGACGAGTGTATGGAGAGCGTGAAGAATGGCACC
TACGATTATCCTAAGTATTCCGAGGAGTCTAAGCTGAATCGGGAGAAAATCGATGGCG
TGAAGCTGGAGTCCATGGGCGTGTACCAGATCCTGGCCATCTATTCTACAGTGGCCAG
CTCCCTGGTGCTGCTGGTGAGCCTGGGGGCTATTTTCATTCTGGATGTGCTCTAACGGC
TCTCTCCAGTGTGCGCATTTGTATCTGATAA

SEQ ID NO 143: UFV171589 (UFV160656+TM)

ATGAAGGCCATTCTGGTCGTGCTGCTGTACACTTTCGCCACCGCTAACGCTGACACCC
TGTGCATCGGGTACCACGCCAATAACTCCACCGACACAGTGGATAACCGTGCTGGAGAA
GAACGTGACCGTGACACACTCTGTGAATCTGCTGGAGGACAAGAAGTACGTCTGCAGC
ACCAAGCTGAGGCTGGCCACAGGCCTGAGAAACAAGCCCTCTAAGCAGAGCCAGGGCC
TGTTTCGGAGCAATCGCAGGCTTTACCGAGGGAGGATGGACAGGCATGGTGGATGGCTG
GTACGGCTATCACCACCAGAACGAGCAGGGATCCGGATATGCCGCCGACCTGAAGTCT
ACCCAGAATGCCATCGACGAGATCACAAACAAGGTCAATTCTGTGATCGAGAAGATGA
ACACCCAGCCTACAGCCATCGGCTGCGAGTACAATAAGAGCGAGCAGTGTATGAAGCA
GATCGAGGACAAGATCGAGGAGATCGAGTCCAAGATCTGGTGCTATAACGCCGAGCTG
CTGGTGCTGCTGGAGAATCAGAGGACCCTGGACTACCACGATGCCAACGTGAAGAATC
TGTATGAGAAGGTGCGGTCCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATCGGCAACGGCTG
TTTCGAGTTTTACCACAAGTGCGACAACACCTGTATGGAGTCCGTGAAGAATGGCACA
TACGATTATCCCAAGTATTCTGAGGAGGCCAAGCTGAATCGGGAGGAAATCGATGGCG
TGAAGCTGGAGTCTACCCGCATCTACCAGATCCTGGCCATCTATAGCACAGTGGCCAG
CTCCCTGGTGCTGGTGGTGTCCCTGGGGGCTATCTCTTTCTGGATGTGCTCAAATGGG
TCCCTCCAGTGTGCGCATCTGTATCTGATAA

SEQ ID NO 144: UFV171590 (UFV160664+TM)

ATGAAGGCCATTCTGGTCGTGCTGCTGTACACTTTCGCCACCGCTAACGCTGACACCC
TGTGCATCGGGTACCACGCCAATAACTCCACCGACACAGTGGATAACCGTGCTGGAGAA
GAACGTGACCGTGACACACTCTGTGAATCTGCTGGAGGACAAGAAGTACGTCTGCAGC
ACCAAGCTGAGGCTGGCCACAGGCCTGAGAAACAAGCCCTCTAAGCAGAGCCAGGGCC
TGTTTCGGAGCAATCGCAGGCTTTACCGAGGGAGGATGGACAGGCATGGTGGATGGCTG
GTACGGCTATCACCACCAGAACGAGCAGGGATCCGGATATGCCGCCGACCTGAAGTCT
ACCCAGAATGCCATCGACGAGATCACAAACAAGGTCAATTCTGTGATCGAGAAGATGA
ACACCCAGAGGACAGCCATCGGCTGCGAGTACAATAAGAGCGAGAGGTGTATGAAGCA

GATCGAGGACAAGATCGAGGAGATCGAGTCCAAGATCTGGTGCTATAACGCCGAGCTG
CTGGTGCTGCTGGAGAATCAGAGGACCCTGGACTACCACGATAGCAACGTGAAGAATC
TGTATGAGAAGGTGCGGTCCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATCGGCAACGGCTG
TTTCGAGTTTTACCACAAGTGCGACAACACCTGTATGGAGTCCGTGAAGAATGGCACA
TACGATTATCCCAAGTATTCTGAGGAGGCCAAGCTGAATCGGGAGGAAATCGATGGCG
TGAAGCTGGAGTCTACCCGCATCTACCAGATCCTGGCCATCTATAGCACAGTGGCCAG
CTCCCTGGTGCTGGTGGTGTCCCTGGGGGCTATCTCTTTCTGGATGTGCTCAAATGGG
TCCCTCCAGTGTGCGCATCTGTATCTGATAA

SEQ ID NO 145: UFV171591 (UFV160665+TM)

ATGAAGGCCATTCTGGTCGTGCTGTACACTTTCGCCACCGCTAACGCTGACACCC
TGTGCATCGGGTACCACGCCAATAACTCCACCGACACAGTGGATACCGTGCTGGAGAA
GAACGTGACCGTGACACACTCTGTGAATCTGCTGGAGGACAAGAAGTACGTCTGCAGC
ACCAAGCTGAGGCTGGCCACAGGCCTGAGAAACAAGCCCTCTAAGCAGAGCCAGGGCC
TGTTTCGGAGCAATCGCAGGCTTTACCGAGGGAGGATGGACAGGCATGGTGGATGGCTG
GTACGGCTATCACCACCAGAACGAGCAGGGATCCGGATATGCCGCCGACCTGAAGTCT
ACCCAGAATGCCATCGACGAGATCACAAACAAGGTCAATTCTGTGATCGAGAAGATGA
ACACCCAGCCTACAGCCATCGGCTGCGAGTACAATAAGAGCGAGAGGTGTATGAAGCA
GATCGAGGACAAGATCGAGGAGATCGAGTCCAAGATCTGGTGCTATAACGCCGAGCTG
CTGGTGCTGCTGGAGAATCAGAGGACCCTGGACTACCACGATAGCAACGTGAAGAATC
TGTATGAGAAGGTGCGGTCCCAGCTGAAGAACAATGCCAAGGAGATCGGCAACGGCTG
TTTCGAGTTTTACCACAAGTGCGACAACACCTGTATGGAGTCCGTGAAGAATGGCACA
TACGATTATCCCAAGTATTCTGAGGAGGCCAAGCTGAATCGGGAGGAAATCGATGGCG
TGAAGCTGGAGTCTACCCGCATCTACCAGATCCTGGCCATCTATAGCACAGTGGCCAG
CTCCCTGGTGCTGGTGGTGTCCCTGGGGGCTATCTCTTTCTGGATGTGCTCAAATGGG
TCCCTCCAGTGTGCGCATCTGTATCTGATAA

SEQ ID NO: 146: PROTEIN MD3606

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSISIFDIYAMDWYRQAPGKQRDLVATSFRDGSTN
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKPEDTAVYLCVSLYRDPLGVAGGMGVYWGK
GALVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLKLSCAASGRITYAMGWFRQAPGK
EREFVAHINALGTRTYYSDSVKGRFTISRDNKNTLEYLEMNNLKPEDTAVYYCTAQGQ
WRAAPVAVAAEYEFWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA

ATGFTLENKAIGWFRQTPGSEREGVLCISKSGSWTYTDSMRGRFTISRDN AENTVYL
QMDSLKPEDTAVYYCATTTAGGGLCWDGTTFSRLASSWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTSWMYWLRQAPGKGLEWVSVINTDGGTY
YADSVKDRFTISRDN AKDTLYLQMSLKSEDTAVYYCAKDWGGPEPTRGQGTQVTVSS
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 147: UFV180496 H1 A/California/07/09

MKAILVLLLYTFATANADTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKKYVCS
TKLRLATGLRNKPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKS
TQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAEL
LVLLENQRTLDYHDSNVKNLYEKVRSQLKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGT
YDYPKYSEEAKLNREEIDGVKLESTRIYQIH HHHHHH

SEQ ID NO: 148: UFV180497 H1 A/Michigan/45/2015

MKAILVLLLYTFTTANADTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLEDKKYVCS
TKLRLATGLRNKPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQGSGYAADLKS
TQNAIDKITNKVNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSEKCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAEL
LVLLENQRTLDYHDSNVKNLYEKVRNQLKNNAKEIGNGCFFYHKCDNTCMESVKNGT
YDYPKYSEEAKLNREKIDGVKLESTRIYQIH HHHHHH

SEQ ID NO: 149: UFV180498 H1 A/Puerto Rico/8/1934

MKANLLVLLCALAAADADTICIGYHANNSTD TVDTVLEKNVTVTHSVNLLED SKYVCS
AKLRMVTGLRNKPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMIDGWYGYHHQNEQGSGYAADQKS
TQNAINGITNKVNSVIEKMNIQRTAIGCEYNKSEKCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAEL
LVLLENQRTLDFHDSNVKNLYEKVKSQLKNNAKEIGNGCFFYHKCDNECMESVRNGT
YDYPKYSEESKLNREKVDGVKLESMGIYQIH HHHHHH

SEQ ID NO: 150: UFV180499 H5 A/Hong Kong/156/97

MEKTVLLLATVSLVKS DQICIGYHANNSTEQVD TIMEKNVTVTHAQDILERTKYVCSN
RLVLATGLRNKPQKESQGLFGAIAGFTEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSGYAADKEST
QKAIDGV TNKVNSIINKMNTQRE AIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKVWCYNAELL

VL MENQRTLD FHD SNVKNLYDKVRLQLRDN AKELGN GCFEFYHKCDNE CMESVKN GTY
DYPQYSEEARLNREEISGVKLESMGT YQIHHHHHH

SEQ ID NO: 151: UFV180500 H5 A/Vietnam/1203/04

MEKIVLLFAIVSLVKS DQICIGYHANNSTE QVDTIMEKNVT VTHAQDILEKKKYVCSN
RLVLATGLRNKPQKESQGLFGAIAGFTEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGYAADKEST
QKAIDGVTNKVNSIIDKMNTQREAI GCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKVWCYNAELL
VL MENQRTLD FHD SNVKNLYDKVRLQLRDN AKELGN GCFEFYHKCDNE CMESVRN GTY
DYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGIYQIHHHHHH

SEQ ID NO: 152: UFV180501 H2 A/Singapore/1/57

MAIIYLILLFTAVRGDQICIGYHANNSTEKVDTILERNVT VTHAKDILEKTKYVCSEK
LVLATGLRNKPQKESQGLFGAIAGFTEGGWQGMVDGWYGYHHSNDQSGYAADKESTQ
KA FDGITNKVNSVIEKMNTQREAI GCEYSKSERCMKQIEDKIEEIESKVWCYNAELLV
LMENQRTLD FHD SNVKNLYDKV RMQLRDN VKELGN GCFEFYHKCDDECMNSVKN GTYD
YPKYEEESKLN RNEIKGVKLSSMGVYQIHHHHHH

SEQ ID NO: 153: UFV171590 (UFV160664+TM)

MKAILVLLLYTFATANADTLCIGYHANNSTD TVDTVLEKNVT VTHSVNLLEDKKYVCS
TKLRLATGLRNKPSKQSQGLFGAIAGFTEGGWTGMVDGWYGYHHQNEQSGYAADLKS
TQNAIDEITNKVNSVIEKMNTQRTAIGCEYNKSERCMKQIEDKIEEIESKIWCYNAEL
LV LLENQRTLDYHDSNVKNLYEKVRSQ LKNNAKEIGN GCFEFYHKCDNTCMESVKN GT
YDYPKYSEEA KLNREEIDGVKLESTRIYQILAIYSTVASSLVLV VSLGAISFWMC SNG
SLQCRICI

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit thân hemagglutinin (HA) cúm A nhóm 1, bao gồm miền HA1 và HA2, polypeptit thân HA này bao gồm trình tự amino axit mà bao gồm:

- (i) sự làm khuyết của vùng đầu trong miền HA1;
- (ii) sự cải biến của vùng trime hóa trong miền HA2;
- (iii) ít nhất 2 gốc xystein tạo thành cầu disulphua nội monome;
- (iv) ít nhất 2 gốc xystein tạo thành cầu disulphua liên monome;

trong đó amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 392 là P, R hoặc Y, và amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 434 là Q, và trong đó số lượng của các vị trí amino axit được dựa trên việc đánh số H3 như được sử dụng trong SEQ ID NO: 15.

2. Polypeptit theo điểm 1, trong đó polypeptit thân này bao gồm trình tự amino axit mà bao gồm:

- (i) sự làm khuyết của vùng đầu trong miền HA1, sự làm khuyết này bao gồm ít nhất trình tự amino axit từ amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 53 đến và gồm amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 302;
- (ii) sự cải biến của vùng trime hóa trong xoắn C, vùng trime hóa này bao gồm trình tự amino axit từ amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 405 đến và gồm amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 419;
- (iii) xystein ở vị trí amino axit tương ứng với vị trí 310 và xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 422;
- (iv) xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 397 trong sự kết hợp với xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 405; hoặc xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 396 trong sự kết hợp với xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 408; hoặc xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 399 trong sự kết hợp với xystein ở vị trí 405;

trong đó amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 392 là P, R hoặc Y, và trong đó amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 434 là Q.

3. Polypeptit theo điểm 1, trong đó sự làm khuyết trong miền HA1 bao gồm ít nhất trình tự amino axit từ amino axit ở vị trí 47 đến và gồm amino axit ở vị trí 306.

4. Polypeptit theo điểm 1, trong đó sự cải biến của miền trime hóa bao gồm việc đưa vào miền trime hóa khác loại trong xoắn C.
5. Polypeptit theo điểm 4, trong đó miền trime hóa khác loại là trình tự GCN4.
6. Polypeptit theo điểm 1, trong đó sự cải biến của miền trime hóa bao gồm sự tối ưu hóa của trình tự lặp heptad trong Xoắn C.
7. Polypeptit theo điểm 1, trong đó amino axit tương ứng với amino axit 392 là Y, P hoặc R và amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 434 là Q và amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 442 là A.
8. Polypeptit theo điểm 1, bao gồm xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 397 trong sự kết hợp với xystein ở vị trí tương ứng với vị trí 405.
9. Polypeptit theo điểm 1, trong đó:
 - amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 395 là I;
 - amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 399 là Y hoặc C;
 - amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 400 là P;
 - amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 401 là K;
 - amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 402 là S; và/hoặc
 - amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 404 là R hoặc Q.
10. Polypeptit theo điểm 1, trong đó amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 323 là K và/hoặc amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 326 là K.
11. Polypeptit theo điểm 1, trong đó amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 339 là T.
12. Polypeptit theo điểm 1, trong đó polypeptit không bao gồm vị trí phân cắt proteaza.
13. Polypeptit theo điểm 12, trong đó amino axit ở vị trí 329 không là arginin (R).
14. Polypeptit theo điểm 1, trong đó polypeptit bao gồm vị trí phân cắt tự nhiên hoặc vị trí phân cắt đa bazơ.

15. Polypeptit theo điểm 1, trong đó polypeptit bao gồm (một phần) của trình tự tín hiệu.
16. Polypeptit theo điểm 1, bao gồm miền HA2 bị cắt.
17. Polypeptit theo điểm 16, trong đó polypeptit không bao gồm miền xuyên màng và tế bào chất.
18. Polypeptit theo điểm 1, trong đó ít nhất phần đầu C của miền HA2 bắt đầu với amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 516 bị xóa.
19. Polypeptit theo điểm 1, trong đó sự làm khuyết trong miền HA1 được thay thế bởi trình tự liên kết của 1-10 amino axit.
20. Axit nucleic mã hóa polypeptit theo điểm 1.
21. Vector bao gồm phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit thân HA nhóm 1 theo điểm 1.
22. Vector theo điểm 21, trong đó vector là vector adenovirut tái tổ hợp.
23. Dược phẩm bao gồm polypeptit theo điểm 1 và chất mang dược dụng.
24. Vắc xin bao gồm polypeptit theo điểm 1.
25. Peptit theo điểm 1, trong đó, amino axit tương ứng với amino axit ở vị trí 392 là P hoặc R.
26. Peptit theo điểm 9, trong đó, amino axit ở vị trí tương ứng với vị trí 399 là Y.
27. Peptit theo điểm 13, trong đó, amino axit ở vị trí 329 là glutamin (Q).
28. Dược phẩm bao gồm axit nucleic theo điểm 20 và chất mang dược dụng.
29. Dược phẩm bao gồm vector theo điểm 21 và chất mang dược dụng.
30. Vắc xin bao gồm axit nucleic theo điểm 20.
31. Vắc xin bao gồm vector theo điểm 21.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Janssen Vaccines & Prevention B.V.
 <120> POLYPEPTIT THÂN HEMAGGLUTININ (HA) CÚM A VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY
 <130> 0309 WO 00 ORD
 <160> 154
 <170> PatentIn phiên bản 3.5
 <210> 1
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> H1 chiều dài đầy đủ (A/Brisbane/59/2007)
 <400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu Ser Ser Trp Pro Asn His Thr
 130 135 140
 Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Glu Ser Ser Phe
 145 150 155 160
 Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn
 165 170 175
 Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190
 Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Lys Ala Leu Tyr
 195 200 205
 His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg
 210 215 220
 Lys Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu
 225 230 235 240
 Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255
 Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Tyr Ala Phe Ala
 260 265 270
 Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Asn Ser Asn Ala Pro Met
 275 280 285
 Asp Lys Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 2
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> H1 chiều dài đầy đủ (A/California/07/2009)

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Thr Ser Ser Trp Pro Asn His Asp
 130 135 140
 Ser Asn Lys Gly Val Thr Ala Ala Cys Pro His Ala Gly Ala Lys Ser
 145 150 155 160
 Phe Tyr Lys Asn Leu Ile Trp Leu Val Lys Lys Gly Asn Ser Tyr Pro
 165 170 175
 Lys Leu Ser Lys Ser Tyr Ile Asn Asp Lys Gly Lys Glu Val Leu Val
 180 185 190
 Leu Trp Gly Ile His His Pro Ser Thr Ser Ala Asp Gln Gln Ser Leu
 195 200 205
 Tyr Gln Asn Ala Asp Ala Tyr Val Phe Val Gly Ser Ser Arg Tyr Ser
 210 215 220
 Lys Lys Phe Lys Pro Glu Ile Ala Ile Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln
 225 230 235 240
 Glu Gly Arg Met Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Val Glu Pro Gly Asp Lys
 245 250 255
 Ile Thr Phe Glu Ala Thr Gly Asn Leu Val Val Pro Arg Tyr Ala Phe
 260 265 270
 Ala Met Glu Arg Asn Ala Gly Ser Gly Ile Ile Ile Ser Asp Thr Pro
 275 280 285
 Val His Asp Cys Asn Thr Thr Cys Gln Thr Pro Lys Gly Ala Ile Asn
 290 295 300
 Thr Ser Leu Pro Phe Gln Asn Ile His Pro Ile Thr Ile Gly Lys Cys
 305 310 315 320
 Pro Lys Tyr Val Lys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg
 325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 3
 <211> 565
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> A/Texas/UR06-0526/2007 (H1N1)

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Gly Val Ser Ala Ser Cys Ser His Asn Gly Lys Ser Ser Phe
 145 150 155 160
 Tyr Arg Asn Leu Leu Trp Leu Thr Gly Lys Asn Gly Leu Tyr Pro Asn
 165 170 175
 Leu Ser Lys Ser Tyr Ala Asn Asn Lys Glu Lys Glu Val Leu Val Leu
 180 185 190
 Trp Gly Val His His Pro Pro Asn Ile Gly Asp Gln Arg Ala Leu Tyr
 195 200 205
 His Thr Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser His Tyr Ser Arg
 210 215 220
 Arg Phe Thr Pro Glu Ile Ala Lys Arg Pro Lys Val Arg Asp Gln Glu
 225 230 235 240
 Gly Arg Ile Asn Tyr Tyr Trp Thr Leu Leu Glu Pro Gly Asp Thr Ile
 245 250 255
 Ile Phe Glu Ala Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Phe Ala Phe Ala
 260 265 270
 Leu Ser Arg Gly Phe Gly Ser Gly Ile Ile Thr Ser Asn Ala Pro Met
 275 280 285
 Gly Glu Cys Asp Ala Lys Cys Gln Thr Pro Gln Gly Ala Ile Asn Ser
 290 295 300
 Ser Leu Pro Phe Gln Asn Val His Pro Val Thr Ile Gly Glu Cys Pro
 305 310 315 320
 Lys Tyr Val Arg Ser Ala Lys Leu Arg Met Val Thr Gly Leu Arg Asn
 325 330 335
 Ile Pro Ser Ile Gln Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 4
<211> 566
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> A/NewYork/629/1995 (H1N1)

<400> 4

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ala	Ser	Cys	Ser	His	Asn	Gly	Lys	Ser	Ser
145					150					155					160
Phe	Tyr	Lys	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Glu	Lys	Asn	Gly	Leu	Tyr	Pro
				165					170					175	
Asn	Leu	Ser	Lys	Ser	Tyr	Val	Asn	Asn	Lys	Glu	Lys	Glu	Val	Leu	Val
			180					185					190		
Leu	Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Ser	Asn	Ile	Gly	Asp	Gln	Arg	Ala	Ile
		195					200					205			
Tyr	His	Thr	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Ser	Ser	His	Tyr	Ser
	210					215					220				
Arg	Arg	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Lys	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln
225					230					235					240
Glu	Gly	Arg	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Glu	Pro	Gly	Asp	Thr
				245					250					255	
Ile	Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Trp	Tyr	Ala	Phe
			260					265					270		
Ala	Leu	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Asn	Ala	Ser
		275					280					285			
Met	Ser	Glu	Cys	Asp	Ala	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Gln	Gly	Ala	Ile	Asn
	290					295					300				
Ser	Ser	Leu	Pro	Phe	Gln	Asn	Val	His	Pro	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys
305					310					315					320
Pro	Lys	Tyr	Val	Arg	Ser	Thr	Lys	Leu	Arg	Met	Val	Thr	Gly	Leu	Arg
				325					330					335	
Asn	Ile	Pro	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly
			340					345					350		

Phe Ile Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 355 360 365
 His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Gln Lys Ser
 370 375 380
 Thr Gln Asn Ala Ile Asp Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile
 385 390 395 400
 Glu Lys Met Asn Thr Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys
 405 410 415
 Leu Glu Arg Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe
 420 425 430
 Leu Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 435 440 445
 Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 450 455 460
 Lys Val Lys Asn Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly
 465 470 475 480
 Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asn Glu Cys Met Glu Ser Val
 485 490 495
 Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu
 500 505 510
 Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Val Tyr
 515 520 525
 Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu
 530 535 540
 Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu
 545 550 555 560

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 5
<211> 566
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> A/AA_Marton/1943 (H1N1)

<400> 5

Met Lys Ala Arg Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Thr Asp
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Gln Lys Glu Asn Ala Tyr Val Ser Val Val Ser Ser Asn Tyr Asn
 210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 6
 <211> 562
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> A/Adachi/2/57 (H2N2)

<400> 6

Met Ala Ile Ile Tyr Leu Ile Leu Leu Phe Thr Ala Val Arg Gly Asp
 1 5 10 15

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

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

Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Lys Leu Asn Gly Ile Pro Pro
 50 55 60

Leu Glu Leu Gly Asp Cys Ser Ile Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro
 65 70 75 80

Glu Cys Asp Arg Leu Leu Ser Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Met Glu
 85 90 95

Lys Glu Asn Pro Arg Asn Gly Leu Cys Tyr Pro Gly Ser Phe Asn Asp
 100 105 110

Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Ser Val Lys His Phe Glu Lys
 115 120 125

Val Lys Ile Leu Pro Lys Asp Arg Trp Thr Gln His Thr Thr Thr Gly
 130 135 140

Gly Ser Gln Ala Cys Ala Val Ser Gly Asn Pro Ser Phe Phe Arg Asn
 145 150 155 160

Met Val Trp Leu Thr Lys Lys Gly Ser Asp Tyr Pro Val Ala Lys Gly
 165 170 175

Ser Tyr Asn Asn Thr Ser Gly Glu Gln Met Leu Ile Ile Trp Gly Val
 180 185 190

His His Pro Ile Asp Glu Thr Glu Gln Arg Thr Leu Tyr Gln Asn Val
 195 200 205

Gly Thr Tyr Val Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Lys Arg Ser Thr
 210 215 220

Pro Glu Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Leu Gly Ser Arg Met
 225 230 235 240

Glu Phe Ser Trp Thr Leu Leu Asp Met Trp Asp Thr Ile Asn Phe Glu
 245 250 255

Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Glu Tyr Gly Phe Lys Ile Ser Lys
 260 265 270

Arg Gly Ser Ser Gly Ile Met Lys Thr Glu Gly Thr Leu Glu Asn Cys
 275 280 285

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

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

Lys Ser Glu Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Val Pro Gln
 325 330 335

Ile Glu Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly
 340 345 350

Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn
 355 360 365

Asp Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala
 370 375 380
 Phe Asp Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn
 385 390 395 400
 Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Lys Glu Phe Gly Asn Leu Glu Arg Arg
 405 410 415
 Leu Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp
 420 425 430
 Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu
 435 440 445
 Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Met
 450 455 460
 Gln Leu Arg Asp Asn Val Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe
 465 470 475 480
 Tyr His Lys Cys Asp Asp Glu Cys Met Asn Ser Val Lys Asn Gly Thr
 485 490 495
 Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Glu Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Asn Glu
 500 505 510
 Ile Lys Gly Val Lys Leu Ser Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala
 515 520 525
 Ile Tyr Ala Thr Val Ala Gly Ser Leu Ser Leu Ala Ile Met Met Ala
 530 535 540
 Gly Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile
 545 550 555 560
 Cys Ile

<210> 7
 <211> 562
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> A/Singapore/1/57 (H2N2)

<400> 7

Met Ala Ile Ile Tyr Leu Ile Leu Leu Phe Thr Ala Val Arg Gly Asp
 1 5 10 15

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

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

Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Lys Leu Asn Gly Ile Pro Pro
 50 55 60

Leu Glu Leu Gly Asp Cys Ser Ile Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro
 65 70 75 80

Glu Cys Asp Arg Leu Leu Ser Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Met Glu
 85 90 95

Lys Glu Asn Pro Arg Asp Gly Leu Cys Tyr Pro Gly Ser Phe Asn Asp
 100 105 110

Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Ser Val Lys His Phe Glu Lys
 115 120 125

Val Lys Ile Leu Pro Lys Asp Arg Trp Thr Gln His Thr Thr Thr Gly
 130 135 140

Gly Ser Arg Ala Cys Ala Val Ser Gly Asn Pro Ser Phe Phe Arg Asn
 145 150 155 160

Met Val Trp Leu Thr Glu Lys Gly Ser Asn Tyr Pro Val Ala Lys Gly
 165 170 175

Ser Tyr Asn Asn Thr Ser Gly Glu Gln Met Leu Ile Ile Trp Gly Val
 180 185 190

His His Pro Asn Asp Glu Lys Glu Gln Arg Thr Leu Tyr Gln Asn Val
 195 200 205

Gly Thr Tyr Val Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Lys Arg Ser Thr
 210 215 220

Pro Asp Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Leu Gly Ser Arg Met
 225 230 235 240

Glu Phe Ser Trp Thr Leu Leu Asp Met Trp Asp Thr Ile Asn Phe Glu
 245 250 255

Ser Thr Gly Asn Leu Ile Ala Pro Glu Tyr Gly Phe Lys Ile Ser Lys
 260 265 270

Arg Gly Ser Ser Gly Ile Met Lys Thr Glu Gly Thr Leu Glu Asn Cys
 275 280 285

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

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

Lys Ser Glu Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Val Pro Gln
 325 330 335

Ile Glu Ser Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly
 340 345 350

Gly Trp Gln Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn
 355 360 365

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

Phe Asp Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn
385 390 395 400

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

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

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu
435 440 445

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

Gln Leu Arg Asp Asn Val Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe
465 470 475 480

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

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

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

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

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

Cys Ile

<210> 8
<211> 568

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> A/Viet Nam/1203/2004 H5N1)

<400> 8

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Phe Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
 1 5 10 15

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

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
 35 40 45

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

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

Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
 85 90 95

Glu Lys Ala Asn Pro Val Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn
 100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
 115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Ser His Glu Ala Ser
 130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe
 145 150 155 160

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

Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
 180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Lys Leu Tyr Gln
 195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
 210 215 220

Leu Val Pro Arg Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
 225 230 235 240

Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn
 245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile
 260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
 275 280 285

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

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

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

Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
 340 345 350

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

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

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

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

Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

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

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

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

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

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

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

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

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 9

<211> 121

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> PROTEIN VH CR9114

<400> 9

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

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10

<211> 110

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> PROTEIN VL CR9114

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> PROTEIN VH CR6261

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 12

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> PROTEIN VL CR6261

<400> 12

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

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

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

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

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

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

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

<210> 13
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> SD15016

<400> 13

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

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

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45

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

Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80

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

Ala Asp Ser Leu Gly Thr Gly Trp Arg His Tyr Tyr Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Trp Ser His Pro Gln
 115 120 125

Phe Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ala
 130 135 140

Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
 145 150

<210> 14
 <211> 157

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> SD15004

<400> 14

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

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

Ala Met Asp Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
 35 40 45

Ala Thr Ser Phe Arg Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Leu Cys His
 85 90 95

Val Ser Leu Tyr Arg Asp Pro Leu Gly Val Ala Gly Gly Met Gly Val
 100 105 110

Tyr Trp Gly Lys Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Trp
 115 120 125

Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe
 130 135 140

Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
 145 150 155

<210> 15
 <211> 550
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Haemagglutinin CAA24269.1 (Virus cúm A
A/Aichi/2/1968(H3N2) (không bao gồm trình tự tín hiệu)

<400> 15

Gln Asp Leu Pro Gly Asn Asp Asn Ser Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly
1 5 10 15

His His Ala Val Pro Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Thr Asp Asp
20 25 30

Gln Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ser Ser Thr
35 40 45

Gly Lys Ile Cys Asn Asn Pro His Arg Ile Leu Asp Gly Ile Asp Cys
50 55 60

Thr Leu Ile Asp Ala Leu Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Val Phe Gln
65 70 75 80

Asn Glu Thr Trp Asp Leu Phe Val Glu Arg Ser Lys Ala Phe Ser Asn
85 90 95

Cys Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Leu Val
100 105 110

Ala Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Ile Thr Glu Gly Phe Thr Trp Thr
115 120 125

Gly Val Thr Gln Asn Gly Gly Ser Asn Ala Cys Lys Arg Gly Pro Gly
130 135 140

Ser Gly Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Thr
145 150 155 160

Tyr Pro Val Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Asp Asn Phe Asp Lys
165 170 175

Leu Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Thr Asn Gln Glu Gln Thr

31

<400> 16

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

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

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

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile
 245

<210> 17
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV5369

<400> 17

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Tyr Thr Ala Ile

115 120 125
 Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp
 130 135 140
 Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
 195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 18
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 18

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

<210> 19
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 19

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

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 20

Arg	Met	Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Ile	Glu	Lys	Lys
1				5					10					15

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 21

Arg	Ile	Glu	Ala	Leu	Glu	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Ile	Glu	Lys	Lys
1				5					10					15

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 22

Arg	Met	Glu	Asn	Leu	Glu	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Ile	Glu	Glu	Lys
1				5					10					15

<210> 23
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 23

Arg	Ile	Glu	Asn	Leu	Glu	Lys	Lys	Val	Asp	Asp	Ile	Glu	Glu	Lys
1				5					10					15

<210> 24
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 24

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

<210> 25
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 25

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

<210> 26
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 26

Cys Met Glu Ala Leu Glu Lys Lys Val Asp Asp Ile Glu Lys Lys
 1 5 10 15

<210> 27
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 27

Cys Ile Glu Ala Leu Glu Lys Lys Val Asp Asp Ile Glu Lys Lys
 1 5 10 15

<210> 28
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 28

Arg Met Glu Cys Leu Glu Lys Lys Val Asp Asp Ile Glu Lys Lys
 1 5 10 15

<210> 29
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> trình tự trime hóa khác loại

<400> 29

Arg Ile Glu Cys Leu Glu Lys Lys Val Asp Asp Ile Glu Lys Lys
 1 5 10 15

<210> 30
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV150558

<400> 30

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 31
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150559

<400> 31

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn

```

                100                105                110

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
      245

<210> 32
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV150565

<400> 32

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

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr
 245 250

<210> 33
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150566

<400> 33

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp

130 135 140
 Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205
 Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile Leu Ala
 245 250

 <210> 34
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

 <220>
 <223> UFV150567

 <400> 34
 Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Met Gly Val Tyr
 245

<210> 35
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Ufv150568

<400> 35

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn

165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205
 Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ser Met Gly

<210> 36
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150569

<400> 36

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser

<210> 37
<211> 240
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV150570

<400> 37

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp

```

195                                200                                205

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

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

<210> 38
<211> 238
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV150571

<400> 38

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

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

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

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

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

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

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

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

```

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

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

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

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

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

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

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

<210> 39
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150572

<400> 39

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

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

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

Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu

50		55		60											
Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	Thr	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Val
65					70					75					80
Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr
				85					90					95	
Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asn	Gly	Ile	Thr	Asn
			100					105					110		
Lys	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Tyr	Thr	Ala	Ile
		115					120					125			
Gly	Cys	Glu	Tyr	Asn	Lys	Ser	Glu	Arg	Cys	Met	Lys	Gln	Ile	Glu	Asp
	130					135					140				
Lys	Ile	Glu	Glu	Ile	Glu	Ser	Lys	Ile	Trp	Cys	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu
145					150					155					160
Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Glu	Arg	Thr	Leu	Asp	Phe	His	Asp	Ser	Asn
				165					170					175	
Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Lys	Ser	Gln	Leu	Lys	Asn	Asn	Ala
			180					185					190		
Lys	Glu	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys	Cys	Asn	Asp
		195					200					205			
Glu	Cys	Met	Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Lys	Tyr
	210					215					220				
Ser	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Asn	Arg	Glu	Lys	Ile	Asp				
225					230					235					

<210> 40
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV150573

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys
 225 230

<210> 41
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150574

<400> 41

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

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

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

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

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

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

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

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Tyr Thr Ala Ile

115 120 125
 Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp
 130 135 140
 Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205
 Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg
 225 230

 <210> 42
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

 <220>
 <223> UFV150575

 <400> 42
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr
245 250

<210> 43
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150576

<400> 43

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn

165

170

175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Ala
 245 250

<210> 44
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150577

<400> 44

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr
245

<210> 45
<211> 244
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV150578

<400> 45

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn

195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg

 <210> 46
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

 <220>
 <223> UFV150579

 <400> 46
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60
 Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95
 Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser

<210> 47
 <211> 240
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150580

<400> 47

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

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu

63

225

230

235

240

<210> 48
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV150581

<400> 48

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 49
<211> 236
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV150582

<400> 49

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr

85

90

95

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp
 225 230 235

<210> 50

<211> 234

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV150583

<400> 50

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu
225 230

<210> 51
<211> 232
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Ufv150584

<400> 51

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

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

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu

145 150 155 160

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

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

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

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

Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg
225 230

<210> 52
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV150849

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile
245

<210> 53

<211> 248

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV150850

<400> 53

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn

195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245
 <210> 54
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV150552
 <400> 54
 Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45
 Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60
 Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95
 Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile
 245

<210> 55
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160088

<400> 55

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

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu

74

225 230 235 240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile
245

<210> 56
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160090

<400> 56

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Ile Glu Ala Leu Glu Lys
130 135 140

Lys Val Asp Asp Ile Glu Lys Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
145 150 155 160

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

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 57
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160093

<400> 57

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu

50 55 60
 Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95
 Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110
 Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Arg Thr Ala Ile
 115 120 125
 Gly Lys Glu Cys Asn Lys Ser Glu Arg Cys Ile Glu Ala Leu Glu Lys
 130 135 140
 Lys Val Asp Asp Ile Glu Lys Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Glu Tyr His Asp Ser Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
 195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 58

<211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFW160097

<400> 58

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 59
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160301

<400> 59

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Arg Arg Arg Lys
50 55 60

Lys Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr
65 70 75 80

Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly

85

90

95

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

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

Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln
 130 135 140

Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn
 145 150 155 160

Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Glu Tyr His
 165 170 175

Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys
 180 185 190

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

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

Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly
 225 230 235 240

Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245 250

<210> 60
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160302

<400> 60

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 61
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160303

<400> 61

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Arg Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Arg Thr Ala Ile

115 120 125
 Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp
 130 135 140
 Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
 195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245
 <210> 62
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160304
 <400> 62
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Arg Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 63
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160360

<400> 63

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

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

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu

86

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

Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Leu
85 90 95

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

Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr
115 120 125

Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu
130 135 140

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

Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys Asn Leu
165 170 175

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

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

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

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

Ile Tyr Gln Ile

<210> 65
<211> 245
<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFW160362

<400> 65

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

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

Leu Glu Asp Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr
35 40 45

Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala
50 55 60

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

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

Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val Asn
100 105 110

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

Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu
130 135 140

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

Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys Asn
165 170 175

Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile

89

Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val
 100 105 110

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

Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile
 130 135 140

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

Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys
 165 170 175

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

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

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

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

Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 67
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160364

<400> 67

Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val

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

210

215

220

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

Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 68
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160365

<400> 68

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

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

Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 69
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160366

<400> 69

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

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

Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu

35	40	45
Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly		
50	55	60
Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met		
65	70	75
Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly		
	85	90
Tyr Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr		
	100	105
Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala		
	115	120
Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu		
130	135	140
Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu		
145	150	155
Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala		
	165	170
Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn		
	180	185
Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp		
195	200	205
Asn Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys		
210	215	220
Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys		
225	230	235
Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile		

245

<210> 70
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160367

<400> 70

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

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

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

Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln
 50 55 60

Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly
 65 70 75 80

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

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

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

Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile
 130 135 140

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

Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp
165 170 175

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

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

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

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

Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245 250

<210> 71
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160368

<400> 71

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

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

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

Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser
50 55 60

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

65					70					75					80
Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly
				85					90					95	
Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asp	Glu
			100					105					110		
Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Pro
		115					120					125			
Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Tyr	Asn	Lys	Ser	Glu	Gln	Cys	Met	Lys	Gln
	130					135					140				
Ile	Glu	Asp	Lys	Ile	Glu	Glu	Ile	Glu	Ser	Lys	Ile	Trp	Cys	Tyr	Asn
145					150					155					160
Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Gln	Arg	Thr	Leu	Asp	Tyr	His
				165					170					175	
Asp	Ala	Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Arg	Ser	Gln	Leu	Lys
			180					185					190		
Asn	Asn	Ala	Lys	Glu	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys
		195					200					205			
Cys	Asp	Asn	Thr	Cys	Met	Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr
	210					215					220				
Pro	Lys	Tyr	Ser	Glu	Glu	Ala	Lys	Leu	Asn	Arg	Glu	Glu	Ile	Asp	Gly
225					230					235					240
Val	Lys	Leu	Glu	Ser	Thr	Arg	Ile	Tyr	Gln	Ile					
				245					250						

<210> 72
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Ufv160369

<400> 72

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

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

Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Lys Leu Gly Pro Lys Tyr Val Cys Ser
 35 40 45

Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln
 50 55 60

Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp
 65 70 75 80

Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln
 85 90 95

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

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

Pro Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys
 130 135 140

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr
 145 150 155 160

Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr
 165 170 175

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

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

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

Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp
 225 230 235 240

Gly Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245 250

<210> 73
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160370

<400> 73

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

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

Leu Glu Asp Lys His Gly Pro Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn

100 105 110
 Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile
 115 120 125
 Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp
 130 135 140
 Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
 195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245
 <210> 74
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160371
 <400> 74
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

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

Leu Glu Asp Gly Glu Gly Pro Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 75
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160372

<400> 75

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

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

Leu Glu Asp Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg
 35 40 45

Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 50 55 60

Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr
 65 70 75 80

His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Leu Lys Ser
 85 90 95

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

Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys
 115 120 125

Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu

130 135 140
 Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn
 145 150 155 160
 Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu
 165 170 175
 Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly
 180 185 190
 Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys Met Glu Ser Val
 195 200 205
 Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu
 210 215 220
 Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr
 225 230 235 240

Gln Ile

<210> 76
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160373

<400> 76

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

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

Leu Glu Asp Lys Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu
 35 40 45

Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala
 50 55 60

Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly
 65 70 75 80

Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Leu Lys
 85 90 95

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

Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn
 115 120 125

Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile
 130 135 140

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

Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys Asn Leu Tyr
 165 170 175

Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn
 180 185 190

Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys Met Glu Ser
 195 200 205

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

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

Tyr Gln Ile

<210> 77
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160374

<400> 77

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

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

Leu Glu Asp Lys His Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly
 35 40 45

Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile
 50 55 60

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

Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Leu
 85 90 95

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

Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr
 115 120 125

Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu
 130 135 140

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

Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys Asn Leu

165 170 175
 Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly
 180 185 190
 Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys Met Glu
 195 200 205
 Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala
 210 215 220
 Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg
 225 230 235 240
 Ile Tyr Gln Ile
 <210> 78
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160375
 <400> 78
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Lys His Asn Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr
 35 40 45
 Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala
 50 55 60
 Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp
 65 70 75 80

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

Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val Asn
100 105 110

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

Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu
130 135 140

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

Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys Asn
165 170 175

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

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

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

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

Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 79
<211> 246
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160376

<400> 79

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

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

Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala
 35 40 45

Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly
 50 55 60

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

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

Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val
 100 105 110

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

Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile
 130 135 140

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

Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys
 165 170 175

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

Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys

195 200 205
 Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu
 210 215 220

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

 Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

 <210> 80
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

 <220>
 <223> UFV160377

 <400> 80

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

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

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

 Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe
 50 55 60

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

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

 Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys
 100 105 110

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

Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
130 135 140

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

Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val
165 170 175

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

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

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

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

Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 81
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFFV160378

<400> 81

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

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu

111

225

230

235

240

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 82

<211> 249

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV160379

<400> 82

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

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

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

Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly
50 55 60

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

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

Tyr Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr
100 105 110

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

Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu
130 135 140

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

Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala
165 170 175

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

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

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

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

Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 83
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160380

<400> 83

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu

50		55		60
Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val				
65		70	75	80
Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr				
	85	90		95
Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn				
	100	105		110
Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile				
	115	120		125
Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp				
	130	135		140
Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu				
145		150	155	160
Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn				
	165	170		175
Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala				
	180	185		190
Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn				
	195	200		205
Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr				
	210	215		220
Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu				
225		230	235	240
Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile				
	245			

<210> 84

<211> 247
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160381

<400> 84

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

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

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

Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe
 50 55 60

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

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

Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys
 100 105 110

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

Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

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

Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val
 165 170 175

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

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

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

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

Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 85
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160382

<400> 85

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

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

Leu Glu Asp Ala Gly Ser Gly Ile Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu
35 40 45

Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly
50 55 60

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

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly

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

<210> 86
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160383

<400> 86

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

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

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

Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 87
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160384

<400> 87

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

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

Leu Glu Asp Gly Ser Gly Ile Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile

115 120 125
 Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp
 130 135 140
 Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
 195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 88
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160385

<400> 88

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

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

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

Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe
 50 55 60

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

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

Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys
 100 105 110

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

Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

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

Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val
 165 170 175

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

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

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

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

Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 89
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160386

<400> 89

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

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

Leu Glu Asp His Ala Gly Ala Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

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

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu

145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 90
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160387

<400> 90

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

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

Leu Glu Asp Asp Gln Glu Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 91
<211> 248
<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV160388

<400> 91

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

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

Leu Glu Asp Asp Thr Pro Val Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala

180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
 195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245
 <210> 92
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160389
 <400> 92
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Phe Pro Lys Thr Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60
 Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 93
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160390

<400> 93

Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val

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

210

215

220

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 94
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160391

<400> 94

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

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

Leu Glu Asp Glu Pro Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu
 35 40 45

Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe
 50 55 60

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

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

Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys
 100 105 110

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

Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys
 130 135 140

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

Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val
 165 170 175

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

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

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

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

Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 95
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160392

<400> 95

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

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

Leu Glu Asp Thr Gly Asn Leu Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg

131

245

<210> 96
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160393

<400> 96

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

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

Leu Glu Asp Thr Pro Ser Ser Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 97
<211> 247
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160394

<400> 97

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

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

Leu Glu Asp Thr Pro Ser Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu
35 40 45

Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe
50 55 60

Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp

65					70						75				80
Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala
				85					90					95	
Ala	Asp	Leu	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asp	Glu	Ile	Thr	Asn	Lys
			100					105					110		
Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Pro	Thr	Ala	Ile	Gly
		115					120					125			
Cys	Glu	Tyr	Asn	Lys	Ser	Glu	Gln	Cys	Met	Lys	Gln	Ile	Glu	Asp	Lys
	130					135					140				
Ile	Glu	Glu	Ile	Glu	Ser	Lys	Ile	Trp	Cys	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu
145					150					155					160
Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Gln	Arg	Thr	Leu	Asp	Tyr	His	Asp	Ala	Asn	Val
				165					170					175	
Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Arg	Ser	Gln	Leu	Lys	Asn	Asn	Ala	Lys
			180					185					190		
Glu	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys	Cys	Asp	Asn	Thr
		195					200					205			
Cys	Met	Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Lys	Tyr	Ser
	210					215					220				
Glu	Glu	Ala	Lys	Leu	Asn	Arg	Glu	Glu	Ile	Asp	Gly	Val	Lys	Leu	Glu
225					230					235					240
Ser	Thr	Arg	Ile	Tyr	Gln	Ile									
				245											

<210> 98
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV160395

<400> 98

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn
 100 105 110

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

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

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

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175

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

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

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

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

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 99
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160396

<400> 99

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

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

Leu Glu Asp Tyr Pro Gly Asp Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

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

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

Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn

100 105 110
 Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile
 115 120 125
 Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp
 130 135 140
 Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn
 165 170 175
 Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190
 Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
 195 200 205
 Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220
 Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245
 <210> 100
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160397
 <400> 100
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

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

Leu Glu Asp Tyr Pro Gly Asp Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala
 35 40 45

Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly
 50 55 60

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

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

Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val
 100 105 110

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

Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile
 130 135 140

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

Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys
 165 170 175

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

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

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

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

Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 101
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160503

<400> 101

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

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

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

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Arg Lys Arg
 50 55 60

Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr
 65 70 75 80

Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly
 85 90 95

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

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

Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln

130 135 140
 Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn
 145 150 155 160
 Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Glu Tyr His
 165 170 175
 Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys
 180 185 190
 Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys
 195 200 205
 Cys Asp Asn Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr
 210 215 220
 Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly
 225 230 235 240
 Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245 250
 <210> 102
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160504
 <400> 102
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg
 35 40 45

Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys
50 55 60

Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp
65 70 75 80

Thr Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln
85 90 95

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

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

Arg Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys
130 135 140

Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr
145 150 155 160

Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Glu Tyr
165 170 175

His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu
180 185 190

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

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

Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp
225 230 235 240

Gly Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245 250

<210> 103
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFFV160655

<400> 103

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

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

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

Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala
 50 55 60

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

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

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

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

Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu
 130 135 140

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

Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ala Asn Val Lys Asn

165 170 175
 Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile
 180 185 190
 Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp Glu Cys Met
 195 200 205
 Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu
 210 215 220
 Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met
 225 230 235 240
 Gly Val Tyr Gln Ile
 245
 <210> 104
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160656
 <400> 104
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr
 35 40 45
 Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala
 50 55 60
 Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp
 65 70 75 80

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

Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val Asn
100 105 110

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

Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu
130 135 140

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

Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ala Asn Val Lys Asn
165 170 175

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

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

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

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

Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 105

<211> 251

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV160657

<400> 105

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

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Lys Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr
 35 40 45

Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser
 50 55 60

Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr
 65 70 75 80

Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly
 85 90 95

Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu
 100 105 110

Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro
 115 120 125

Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln
 130 135 140

Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn
 145 150 155 160

Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His
 165 170 175

Asp Ala Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys
 180 185 190

Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys

195 200 205
 Cys Asp Asn Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr
 210 215 220
 Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly
 225 230 235 240
 Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245 250
 <210> 106
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV160658
 <400> 106
 Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr
 35 40 45
 Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala
 50 55 60
 Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp
 65 70 75 80
 Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp
 85 90 95
 Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val Asn
 100 105 110

Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Arg Thr Ala Ile Gly Cys Glu
115 120 125

Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu
130 135 140

Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu
145 150 155 160

Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Glu Tyr His Asp Ser Asn Val Lys Asn
165 170 175

Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile
180 185 190

Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys Met
195 200 205

Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu
210 215 220

Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Thr
225 230 235 240

Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 107

<211> 251

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV160659

<400> 107

Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu

148

149

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn
165 170 175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
195 200 205

Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
210 215 220

Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
245

<210> 109
<211> 245
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160664

<400> 109

Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
20 25 30

Leu Glu Asp Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr
35 40 45

Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala

50		55		60											
Ile	Ala	Gly	Phe	Thr	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp
65					70					75					80
Tyr	Gly	Tyr	His	His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp
			85						90					95	
Leu	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asp	Glu	Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn
			100					105					110		
Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Arg	Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu
		115					120					125			
Tyr	Asn	Lys	Ser	Glu	Arg	Cys	Met	Lys	Gln	Ile	Glu	Asp	Lys	Ile	Glu
	130					135					140				
Glu	Ile	Glu	Ser	Lys	Ile	Trp	Cys	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu
145					150					155					160
Leu	Glu	Asn	Gln	Arg	Thr	Leu	Asp	Tyr	His	Asp	Ser	Asn	Val	Lys	Asn
				165					170					175	
Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Arg	Ser	Gln	Leu	Lys	Asn	Asn	Ala	Lys	Glu	Ile
			180					185					190		
Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys	Cys	Asp	Asn	Thr	Cys	Met
	195						200					205			
Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Lys	Tyr	Ser	Glu	Glu
	210					215					220				
Ala	Lys	Leu	Asn	Arg	Glu	Glu	Ile	Asp	Gly	Val	Lys	Leu	Glu	Ser	Thr
225					230					235					240
Arg	Ile	Tyr	Gln	Ile											
				245											

<210> 110

<211> 245
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFW160665

<400> 110

Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asp Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala Thr
 35 40 45

Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala
 50 55 60

Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly Trp
 65 70 75 80

Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp
 85 90 95

Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val Asn
 100 105 110

Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro Thr Ala Ile Gly Cys Glu
 115 120 125

Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu
 130 135 140

Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu
 145 150 155 160

Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn Val Lys Asn
 165 170 175

Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile
 180 185 190

Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys Met
 195 200 205

Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu
 210 215 220

Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Thr
 225 230 235 240

Arg Ile Tyr Gln Ile
 245

<210> 111
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV160666

<400> 111

Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Lys Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr
 35 40 45

Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser
 50 55 60

Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr
 65 70 75 80

Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly

					85					90					95				
Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	Ser	Thr	Gln	Asn	Ala	Ile	Asp	Glu				
			100					105					110						
Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Ser	Val	Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Arg				
		115					120					125							
Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Tyr	Asn	Lys	Ser	Glu	Arg	Cys	Met	Lys	Gln				
	130					135					140								
Ile	Glu	Asp	Lys	Ile	Glu	Glu	Ile	Glu	Ser	Lys	Ile	Trp	Cys	Tyr	Asn				
145					150					155					160				
Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn	Gln	Arg	Thr	Leu	Asp	Tyr	His				
				165					170					175					
Asp	Ser	Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Tyr	Glu	Lys	Val	Arg	Ser	Gln	Leu	Lys				
			180					185					190						
Asn	Asn	Ala	Lys	Glu	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys				
		195					200					205							
Cys	Asp	Asn	Thr	Cys	Met	Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr				
	210					215					220								
Pro	Lys	Tyr	Ser	Glu	Glu	Ala	Lys	Leu	Asn	Arg	Glu	Glu	Ile	Asp	Gly				
225					230					235					240				
Val	Lys	Leu	Glu	Ser	Thr	Arg	Ile	Tyr	Gln	Ile									
				245					250										

<210> 112
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFW160667

<400> 112

Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15
 Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30
 Leu Glu Asp Lys His Asn Gly Lys Leu Gly Lys Tyr Val Cys Ser Thr
 35 40 45
 Lys Leu Arg Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser
 50 55 60
 Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr
 65 70 75 80
 Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly
 85 90 95
 Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu
 100 105 110
 Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Pro
 115 120 125
 Thr Ala Ile Gly Cys Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln
 130 135 140
 Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn
 145 150 155 160
 Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His
 165 170 175
 Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys
 180 185 190
 Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys
 195 200 205

Cys Asp Asn Thr Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr
 210 215 220

Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly
 225 230 235 240

Val Lys Leu Glu Ser Thr Arg Ile Tyr Gln Ile
 245 250

<210> 113
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> đuôi His

<400> 113

His His His His His His
 1 5

<210> 114
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> đuôi His

<400> 114

His His His His His His His
 1 5

<210> 115
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> đuôi FLAG

<400> 115

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1

5

<210> 116
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> vị trí phân cắt phân giải protein

<400> 116

Ile Glu Gly Arg
 1

<210> 117
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> vị trí phân cắt phân giải protein

<400> 117

Leu Val Pro Arg Gly Ser
 1 5

<210> 118
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> foldon

<400> 118

Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys
 1 5 10 15

Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 20 25

<210> 119
 <211> 54
 <212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Flag - Foldon - đuôi His

<400> 119

Ser Gly Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Leu Val Pro Arg Gly
1 5 10 15

Ser Pro Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala
20 25 30

Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly
35 40 45

His His His His His His
50

<210> 120

<211> 53

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> FLAG- cầu nối GS - đuôi His

<400> 120

Ser Gly Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Pro Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His
35 40 45

His His His His His
50

<210> 121

<211> 218

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Nanoluc - đuôi Strep

<400> 121

Glu Gly Arg Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Val
1 5 10 15

Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Arg Gln Thr Ala Gly Tyr
20 25 30

Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Phe Gln
35 40 45

Asn Leu Gly Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Arg Ile Val Leu Ser Gly
50 55 60

Glu Asn Gly Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly
65 70 75 80

Leu Ser Gly Asp Gln Met Gly Gln Ile Glu Lys Ile Phe Lys Val Val
85 90 95

Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu His Tyr Gly Thr
100 105 110

Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Ile Asp Tyr Phe Gly Arg
115 120 125

Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr
130 135 140

Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Asn
145 150 155 160

Pro Asp Gly Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Gly Val Thr Gly
165 170 175

Trp Arg Leu Cys Glu Arg Ile Leu Ala Ala Ala Ala Trp Ser His Pro

180 185 190
 Gln Phe Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly
 195 200 205
 Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
 210 215
 <210> 122
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> Nanoluc - đuôi C
 <400> 122
 Glu Gly Arg Ala Ala Ala Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Val
 1 5 10 15
 Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Arg Gln Thr Ala Gly Tyr
 20 25 30
 Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Phe Gln
 35 40 45
 Asn Leu Gly Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Arg Ile Val Leu Ser Gly
 50 55 60
 Glu Asn Gly Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly
 65 70 75 80
 Leu Ser Gly Asp Gln Met Gly Gln Ile Glu Lys Ile Phe Lys Val Val
 85 90 95
 Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu His Tyr Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Ile Asp Tyr Phe Gly Arg
 115 120 125

Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr
 130 135 140

Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Asn
 145 150 155 160

Pro Asp Gly Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Gly Val Thr Gly
 165 170 175

Trp Arg Leu Cys Glu Arg Ile Leu Ala Gly Ala Ala Glu Pro Glu Ala
 180 185 190

<210> 123
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Sortase - đuôi C

<400> 123

Glu Gly Arg Ala Ala Ala Leu Pro Glu Thr Gly Gly Gly Ala Ala Glu
 1 5 10 15

Pro Glu Ala

<210> 124
 <211> 77
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> FLAG - cầu nối GS - đuôi Strep

<400> 124

Ser Gly Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Pro Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Trp
 35 40 45

Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe
 50 55 60

Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
 65 70 75

<210> 125
 <211> 81
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> đuôi Myc - cầu nối GS - đuôi Strep

<400> 125

Glu Gly Arg Ala Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 35 40 45

Gly Gly Ser Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser
 50 55 60

His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu
 65 70 75 80

Lys

<210> 126
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> vòng B

<400> 126

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Tyr	Thr	Ala	Ile	Gly	Lys	Glu	Tyr	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Arg
			20

<210> 127

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> vòng B

<400> 127

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Tyr	Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Tyr	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Arg
			20

<210> 128

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> vòng B

<400> 128

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Pro	Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Tyr	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Gln
			20

<210> 129

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> vòng B

<400> 129

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Arg	Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Phe	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Gln
			20

<210> 130

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> vòng B

<400> 130

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Pro	Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Tyr	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Arg
			20

<210> 131

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> vòng B

<400> 131

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Pro	Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Phe	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Gln
			20

<210> 132

<211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> vòng B

<400> 132

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Arg	Thr	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	Tyr	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Arg
			20

<210> 133
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> vòng B

<400> 133

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Arg	Thr	Ala	Ile	Cys	Lys	Glu	Tyr	Pro
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Gln
			20

<210> 134
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> vòng B

<400> 134

Ile	Glu	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Arg	Thr	Ala	Ile	Gly	Lys	Glu	Cys	Asn
1				5					10					15	

Lys	Ser	Glu	Arg
			20

<210> 135
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Ufv150553

<400> 135

Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr Val
 1 5 10 15

Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn Leu
 20 25 30

Leu Glu Asn Gly Gly Gly Gly Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg
 35 40 45

Met Val Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu
 50 55 60

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val
 65 70 75 80

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr
 85 90 95

Ala Ala Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn
 100 105 110

Lys Val Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Arg Thr Ala Ile
 115 120 125

Gly Cys Glu Phe Asn Lys Ser Glu Gln Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp
 130 135 140

Lys Ile Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn

165

170

175

Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala
 180 185 190

Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asn Asp
 195 200 205

Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr
 210 215 220

Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu
 225 230 235 240

Glu Ser Met Gly Val Tyr Gln Ile
 245

<210> 136
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> peptit tín hiệu

<400> 136

Met Gly Ser Thr Ala Ile Leu Gly Leu Leu Leu Ala Val Leu Gln Gly
 1 5 10 15

Val Cys Ala

<210> 137
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> peptit tín hiệu

<400> 137

Met Gly Met Thr Ser Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu Ala Leu Lys

1

5

10

15

Pro Gly Ala Trp Ala
20

<210> 138

<211> 792

<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV160655

<400> 138

atgaaagtca aactgctggt cctgctgtgc accttcaccg ccacttacgc cgacaccatc
60

tgtattgggt accacgctaa caactccacc gacacagtgg ataccgtgct ggagaagaac
120

gtgaccgtga cacactctgt gaacctgctg gagaattcca agtacgtctg cagcgccaag
180

ctgaggatgg tgacaggcct gagaaataag cccagcaagc agtcccaggg cctgttcgga
240

gcaatcgcag gctttaccga gggaggatgg acaggaatgg tggacggatg gtacggctat
300

caccaccaga acgagcaggg ctccggctat gccgccgatc agaagtctac ccagaacgcc
360

atcaatggca tcacaaacaa ggtcaatagc gtgatcgaga agatgaacac ccagcctaca
420

gccatcggct gcgagtacaa taagtccgag cagtgcataga agcagatcga ggacaagatc
480

gaggagatcg agtctaagat ctggtgctat aacgccgagc tgctggtgct gctcgagaat
540

cagaggaccc tggacttcca cgatgccaac gtgaagaatc tgtacgagaa ggtgaagtcc
600

cagctgaaga acaatgccaa ggagatcggc aacggctggt tcgagtttta ccacaagtgc
660

aacgacgagt gtatggagtc cgtgaagaat ggcacatacg attatcctaa gtattctgag
720

gagagcaaac tgaatcgga aaaaatcgat ggcgtgaaac tggaatcaat ggggggtgtat
780

cagatctaataa
792

<210> 139
<211> 792
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160656

<400> 139
atgaaggcca tcctggtggt gctgctgtac accttcgcca cagccaacgc cgacaccctg
60

tgcacggtg accacgcca caattccacc gacacagtgg atacagtgct ggagaagaat
120

gtgaccgtga cacactccgt gaacctgctg gaggataaga agtacgtctg cagcaccaag
180

ctgaggctgg ccacaggcct gagaacaag ccaagcaagc agtcccaggg cctgttcgga
240

gccatcgccg gctttaccga gggaggatgg acaggaatgg tggacggatg gtacggctat
300

caccaccaga acgagcaggg cagcggatac gccgccgacc tgaagtccac ccagaatgcc
360

atcgacgaga ttaccaacaa ggtcaatagc gtgattgaga agatgaacac ccagcccaca
420

gccatcggtc gcgagtacaa taagagcgag cagtgtatga agcagattga ggataagatt
480

gaggagattg agtccaagat ttggtgctat aacgccgagc tgctggtgct gctcgagaat
540

cagaggaccc tggactacca cgatgccaac gtgaagaatc tgtatgagaa ggtgaggagc
600

cagctgaaga acaatgcca ggagattggc aacggctgtt tcgagtttta ccacaagtgc
660

gacaacacct gtatggagtc tgtgaagaat ggcacatacg attatcccaa gtatagcgag
720

gaggccaagc tgaatcgga ggaaatcgat ggcgtgaagc tggagagcac ccgcatctac
780

cagatctaataa
792

<210> 140
<211> 792
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160664

<400> 140
atgaaggcca tcctggtcgt cctgctgtac actttcgcca ccgccaacgc tgataccctg
60

tgcacggtg accacgctaa caactctacc gacacagtgg ataccgtgct ggagaagaac
120

gtgaccgtga cacactctgt gaactctgtg gaggataaga agtacgtctg cagcaccaag
180

ctgaggctgg ccacaggcct gagaaacaag ccagcaagc agagccaggg cctgtttgga
240

gcaattgcag gctttaccga gggcggctgg acaggcatgg tggatggctg gtacggctat
300

caccaccaga atgagcaggg atctggatat gctgctgacc tgaagtctac ccagaatgcc
360

attgatgaga tcacaaacaa ggtcaatagc gtgatcgaga agatgaacac ccagcggaca
420

gccatcggct gcgagtacaa taagtccgag aggtgcatga agcagatcga ggacaagatc
480

gaggagatcg agtctaagat ctggtgctat aacgccgagc tgctgggtgct gctcgagaat
540

cagcggaccc tggactacca cgacagcaac gtgaagaatc tgtatgagaa ggtgcgctcc
600

cagctgaaga acaatgccaa ggagatcggc aacggctgtt tcgagtttta ccacaagtgc
660

gacaacacct gtatggagtc tgtgaagaat ggcacatacg attatcccaa gtatagcgag
720

gaggccaagc tgaataggga ggaaatcgat ggcgtgaagc tggagtctac aagaatctac
780

cagatctaataa
792

<210> 141
<211> 792
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV160665

<400> 141
atgaaggcca tcctggctgt cctgctgtac actttcgcca ccgccaacgc tgataccctg
60

tgcatcgggt accacgctaa caactctacc gacacagtgg ataccgtgct ggagaagaac
120

gtgaccgtga cacactctgt gaatctgctg gaggataaga agtacgtctg cagcaccaag
180

ctgaggctgg ccacaggcct gagaacaag ccagcaagc agagccaggg cctgtttgga
240

gcaattgcag gctttaccga ggcggctgg acaggcatgg tggatggctg gtacggctat
300

caccaccaga atgagcaggg atctggatat gctgctgacc tgaagtctac ccagaatgcc
360

attgatgaga tcacaaaca ggtcaatagc gtgatcgaga agatgaacac ccagcctaca
420

gccatcggct gcgagtacaa taagtccgag aggtgcatga agcagatcga ggacaagatc
480

gaggagatcg agtctaagat ctggtgctat aacgccgagc tgctgggtgct gctcgagaat
540

cagcggaccc tggactacca cgacagcaac gtgaagaatc tgtatgagaa ggtgcgctcc
600

cagctgaaga acaatgccaa ggagatcggc aacggctgtt tcgagtttta ccacaagtgc
660

gacaacacct gtatggagtc tgtgaagaat ggcacatacg attatcccaa gtatagcgag
720

gaggccaagc tgaataggga ggaaatcgat ggcgtgaagc tggagtctac aagaatctac
780

cagatctaataa
792

<210> 142
<211> 900
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV171588

<400> 142
atgaaggatca aactgctggt cctgctgtgc acttttactg ccacctacgc tgacactatc
60

tgtatcgggt accacgcaaa caactcaacc gacacagtgg ataccgtgct ggagaagaac
120

gtgaccgtga cacactccgt gaacctgctg gagaatagca agtacgtctg cagcgccaag
180

ctgcggatgg tgacaggcct gagaaataag ccctctaagc agagccaggg actgttcgga
240

gcaatcgcag gctttaccga gggaggatgg acaggaatgg tggacggatg gtacggctat
300

caccaccaga acgagcaggg cagcggctat gccgccgatc agaagtccac ccagaacgcc
360

atcaatggca tcacaaacaa ggtgaacagc gtgatcgaga agatgaacac ccagcctaca
420

gccatcggct gcgagtataa taagagcgag cagtgtatga agcagatcga ggacaagatc
480

gaggagatcg agtccaagat ctggtgctac aacgccgagc tgctgggtgct gctggagaat
540

cagcgacccc tggacttcca cgatgccaac gtgaagaatc tgtatgagaa ggtgaagagc
600

cagctgaaga acaatgccaa ggagatcggc aacggctggt tcgagtttta ccacaagtgc
660

aacgacgagt gtatggagag cgtgaagaat ggcacctacg attatcctaa gtattccgag
720

gagtctaagc tgaatcggga gaaaatcgat ggcgtgaagc tggagtccat gggcgtgtac
780

cagatcctgg ccatctattc tacagtggcc agctccctgg tgctgctggg gagcctgggg
840

gctatttcat tctggatgtg ctctaacggc tctctccagt gtcgcatttg tatctgataa
900

<210> 143

<211> 900

<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV171589

<400> 143

atgaaggcca ttctgggtcgt gctgctgtac actttcgcca ccgctaacgc tgacaccctg
60

tgcacggtg accacgcca taactccacc gacacagtgg ataccgtgct ggagaagaac
120

gtgaccgtga cacactctgt gaatctgctg gaggacaaga agtacgtctg cagcaccaag
180

ctgaggctgg ccacaggcct gagaaacaag ccctctaagc agagccaggg cctgttcgga
240

gcaatcgcag gctttaccga gggaggatgg acaggcatgg tggatggctg gtacggctat
300

caccaccaga acgagcaggg atccggatat gccgccgacc tgaagtctac ccagaatgcc
360

atcgacgaga tcacaaacaa ggtcaattct gtgatcgaga agatgaacac ccagcctaca
420

gccatcggct gcgagtacaa taagagcgag cagtgtatga agcagatcga ggacaagatc
480

gaggagatcg agtccaagat ctggtgctat aacgccgagc tgctgggtgct gctggagaat
540

cagaggaccc tggactacca cgatgccaac gtgaagaatc tgtatgagaa ggtgcggtcc
600

cagctgaaga acaatgccaa ggagatcggc aacggctgtt tcgagtttta ccacaagtgc
660

gacaacacct gtatggagtc cgtgaagaat ggcacatacg attatcccaa gtattctgag
720

gaggccaagc tgaatcggga ggaaatcgat ggcgtgaagc tggagtctac ccgcatctac
780

cagatcctgg ccatctatag cacagtggcc agctccctgg tgctgggtggg gtccttgggg
840

gctatctctt tctggatgtg ctcaaattggg tccctccagt gtcgcatctg tatctgataa
900

<210> 144

<211> 900

<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV171590

<400> 144

atgaaggcca ttctggtcgt gctgctgtac actttcgcca ccgctaacgc tgacaccctg
60

tgcattcgggt accacgcca taactccacc gacacagtgg ataccgtgct ggagaagaac
120

gtgaccgtga cacactctgt gaatctgctg gaggacaaga agtacgtctg cagcaccaag
180

ctgaggctgg ccacaggcct gagaaacaag ccctctaagc agagccaggg cctgttcgga
240

gcaatcgcag gctttaccga gggaggatgg acaggcatgg tggatggctg gtacggctat
300

caccaccaga acgagcaggg atccggatat gccgccgacc tgaagtctac ccagaatgcc
360

atcgacgaga tcacaaacaa ggtcaattct gtgatcgaga agatgaacac ccagaggaca
420

gccatcggct gcgagtacaa taagagcgag aggtgtatga agcagatcga ggacaagatc
480

gaggagatcg agtccaagat ctggtgctat aacgccgagc tgctgggtgct gctggagaat
540

cagaggaccc tggactacca cgatagcaac gtgaagaatc tgtatgagaa ggtgcggtcc
600

cagctgaaga acaatgccaa ggagatcggc aacggctggt tcgagtttta ccacaagtgc
660

gacaacacct gtatggagtc cgtgaagaat ggcacatacg attatcccaa gtattctgag
720

gaggccaagc tgaatcggga ggaaatcgat ggcgtgaagc tggagtctac ccgcatctac
780

cagatcctgg ccatctatag cacagtggcc agctccctgg tgctgggtgg gtccctgggg
840

gctatctctt tctggatgtg ctcaaattggg tccctccagt gtcgcatctg tatctgataa
900

<210> 145

<211> 900

<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> UFV171591

<400> 145

atgaaggcca ttctgggtcgt gctgctgtac actttcgcca ccgctaacgc tgacaccctg
60

tgcacgggt accacgcca taactccacc gacacagtgg ataccgtgct ggagaagaac
120

gtgaccgtga cacactctgt gaatctgctg gaggacaaga agtacgtctg cagcaccaag
180

ctgaggctgg ccacaggcct gagaaacaag ccctctaagc agagccaggg cctgttcgga
240

gcaatcgtag gctttaccga gggaggatgg acaggcatgg tggatggctg gtacggctat
300

caccaccaga acgagcaggg atccggatat gccgccgacc tgaagtctac ccagaatgcc
360

atcgacgaga tcacaaacaa ggtcaattct gtgatcgaga agatgaacac ccagcctaca
420

gccatcggct gcgagtacaa taagagcgag aggtgtatga agcagatcga ggacaagatc
480

gaggagatcg agtccaagat ctggtgctat aacgccgagc tgctgggtgct gctggagaat
540

cagaggaccc tggactacca cgatagcaac gtgaagaatc tgtatgagaa ggtgcggtcc
600

cagctgaaga acaatgccaa ggagatcggc aacggctggt tcgagtttta ccacaagtgc
660

gacaacacct gtatggagtc cgtgaagaat ggcacatacg attatcccaa gtattctgag
720

gaggccaagc tgaatcggga ggaaatcgat ggcgtgaagc tggagtctac ccgcatctac
780

cagatcctgg ccatctatag cacagtggcc agctccctgg tgctggtggt gtccctgggg
840

gctatctctt tctggatgtg ctcaaattggg tccctccagt gtcgcatctg tatctgataa
900

<210> 146

<211> 749

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> MD3606

<400> 146

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Ser	Ile	Ser	Ile	Phe	Asp	Ile	Tyr
			20					25					30		

Ala	Met	Asp	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Asp	Leu	Val
		35					40					45			

Ala	Thr	Ser	Phe	Arg	Asp	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
	50					55					60				

Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu
65					70					75					80

Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Leu	Cys	His
				85					90					95	

Val Ser Leu Tyr Arg Asp Pro Leu Gly Val Ala Gly Gly Met Gly Val
 100 105 110

Tyr Trp Gly Lys Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160

Arg Thr Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
 165 170 175

Glu Phe Val Ala His Ile Asn Ala Leu Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ser
 180 185 190

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 195 200 205

Thr Glu Tyr Leu Glu Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
 210 215 220

Tyr Tyr Cys Thr Ala Gln Gly Gln Trp Arg Ala Ala Pro Val Ala Val
 225 230 235 240

Ala Ala Glu Tyr Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 245 250 255

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
 260 265 270

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 275 280 285

Cys Ala Ala Thr Gly Phe Thr Leu Glu Asn Lys Ala Ile Gly Trp Phe
 290 295 300

Arg Gln Thr Pro Gly Ser Glu Arg Glu Gly Val Leu Cys Ile Ser Lys
 305 310 315 320
 Ser Gly Ser Trp Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Met Arg Gly Arg Phe Thr
 325 330 335
 Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asp Ser
 340 345 350
 Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Thr Thr Ala
 355 360 365
 Gly Gly Gly Leu Cys Trp Asp Gly Thr Thr Phe Ser Arg Leu Ala Ser
 370 375 380
 Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 385 390 395 400
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 405 410 415
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 420 425 430
 Phe Thr Phe Ser Thr Ser Trp Met Tyr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly
 435 440 445
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Asn Thr Asp Gly Gly Thr Tyr
 450 455 460
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 465 470 475 480
 Lys Asp Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
 485 490 495
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Trp Gly Gly Pro Glu Pro Thr Arg
 500 505 510

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
 515 520 525

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 530 535 540

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 545 550 555 560

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 565 570 575

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 580 585 590

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 595 600 605

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 610 615 620

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 625 630 635 640

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 645 650 655

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 660 665 670

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 675 680 685

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 690 695 700

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 705 710 715 720

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 725 730 735

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 740 745

<210> 147
 <211> 268
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV180496 H1 A/California/07/09

<400> 147

Met Lys Ala Ile Leu Val Val Leu Leu Tyr Thr Phe Ala Thr Ala Asn
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala
 50 55 60

Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly
 65 70 75 80

Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly
 85 90 95

Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
 100 105 110

Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val
 115 120 125

Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Arg Thr Ala Ile Gly Cys

130 135 140
 Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile
 145 150 155 160
 Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
 165 170 175
 Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn Val Lys
 180 185 190
 Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu
 195 200 205
 Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys
 210 215 220
 Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu
 225 230 235 240
 Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser
 245 250 255
 Thr Arg Ile Tyr Gln Ile His His His His His His
 260 265
 <210> 148
 <211> 268
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV180497 H1 A/Michigan/45/2015
 <400> 148
 Met Lys Ala Ile Leu Val Val Leu Leu Tyr Thr Phe Thr Thr Ala Asn
 1 5 10 15
 Ala Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

182

Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Lys Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser
 245 250 255

Thr Arg Ile Tyr Gln Ile His His His His His His
 260 265

<210> 149
 <211> 268
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV180498 H1 A/Puerto Rico/8/1934

<400> 149

Met Lys Ala Asn Leu Leu Val Leu Leu Cys Ala Leu Ala Ala Asp
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Ser Lys Tyr Val Cys Ser Ala Lys Leu Arg Met Val
 50 55 60

Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly
 65 70 75 80

Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Ile Asp Gly
 85 90 95

Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
 100 105 110

Asp Gln Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asn Gly Ile Thr Asn Lys Val
 115 120 125

Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Ile Gln Arg Thr Ala Ile Gly Cys

130 135 140
 Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Lys Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile
 145 150 155 160
 Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
 165 170 175
 Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys
 180 185 190
 Asn Leu Tyr Glu Lys Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu
 195 200 205
 Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys
 210 215 220
 Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu
 225 230 235 240
 Glu Ser Lys Leu Asn Arg Glu Lys Val Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser
 245 250 255
 Met Gly Ile Tyr Gln Ile His His His His His His
 260 265

 <210> 150
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

 <220>
 <223> UFV180499 H5 A/Hong Kong/156/97

 <400> 150
 Met Glu Lys Thr Val Leu Leu Leu Ala Thr Val Ser Leu Val Lys Ser
 1 5 10 15
 Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
 20 25 30

Asp	Thr	Ile	Met	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ala	Gln	Asp	Ile	35	40	45
Leu	Glu	Arg	Thr	Lys	Tyr	Val	Cys	Ser	Asn	Arg	Leu	Val	Leu	Ala	Thr	50	55	60
Gly	Leu	Arg	Asn	Lys	Pro	Gln	Lys	Glu	Ser	Gln	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	65	70	75
Ile	Ala	Gly	Phe	Thr	Glu	Gly	Gly	Trp	Gln	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	85	90	95
Tyr	Gly	Tyr	His	His	Ser	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	100	105	110
Lys	Glu	Ser	Thr	Gln	Lys	Ala	Ile	Asp	Gly	Val	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	115	120	125
Ser	Ile	Ile	Asn	Lys	Met	Asn	Thr	Gln	Arg	Glu	Ala	Ile	Gly	Cys	Glu	130	135	140
Tyr	Asn	Lys	Ser	Glu	Arg	Cys	Met	Lys	Gln	Ile	Glu	Asp	Lys	Ile	Glu	145	150	155
Glu	Ile	Glu	Ser	Lys	Val	Trp	Cys	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	165	170	175
Met	Glu	Asn	Gln	Arg	Thr	Leu	Asp	Phe	His	Asp	Ser	Asn	Val	Lys	Asn	180	185	190
Leu	Tyr	Asp	Lys	Val	Arg	Leu	Gln	Leu	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Glu	Leu	195	200	205
Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Phe	Tyr	His	Lys	Cys	Asp	Asn	Glu	Cys	Met	210	215	220
Glu	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Gln	Tyr	Ser	Glu	Glu	225	230	235

Ala Arg Leu Asn Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Met
245 250 255

Gly Thr Tyr Gln Ile His His His His His His
260 265

<210> 151
<211> 267
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> UFV180500 H5 A/Vietnam/1203/04

<400> 151

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Phe Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Lys Lys Tyr Val Cys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr
50 55 60

Gly Leu Arg Asn Lys Pro Gln Lys Glu Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala
65 70 75 80

Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp
85 90 95

Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp
100 105 110

Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn
115 120 125

Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Arg Glu Ala Ile Gly Cys Glu

130 135 140
 Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu
 145 150 155 160
 Glu Ile Glu Ser Lys Val Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu
 165 170 175
 Met Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn
 180 185 190
 Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu
 195 200 205
 Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met
 210 215 220
 Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu
 225 230 235 240
 Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile
 245 250 255
 Gly Ile Tyr Gln Ile His His His His His His
 260 265
 <210> 152
 <211> 266
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo
 <220>
 <223> UFV180501 H2 A/Singapore/1/57
 <400> 152
 Met Ala Ile Ile Tyr Leu Ile Leu Leu Phe Thr Ala Val Arg Gly Asp
 1 5 10 15
 Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Lys Val Asp
 20 25 30

Thr Ile Leu Glu Arg Asn Val Thr Val Thr His Ala Lys Asp Ile Leu
 35 40 45

Glu Lys Thr Lys Tyr Val Cys Ser Glu Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly
 50 55 60

Leu Arg Asn Lys Pro Gln Lys Glu Ser Gln Gly Leu Phe Gly Ala Ile
 65 70 75 80

Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr
 85 90 95

Gly Tyr His His Ser Asn Asp Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
 100 105 110

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Phe Asp Gly Ile Thr Asn Lys Val Asn Ser
 115 120 125

Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Arg Glu Ala Ile Gly Cys Glu Tyr
 130 135 140

Ser Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu
 145 150 155 160

Ile Glu Ser Lys Val Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
 165 170 175

Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
 180 185 190

Tyr Asp Lys Val Arg Met Gln Leu Arg Asp Asn Val Lys Glu Leu Gly
 195 200 205

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asp Glu Cys Met Asn
 210 215 220

Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Glu Glu Glu Ser
 225 230 235 240

Lys Leu Asn Arg Asn Glu Ile Lys Gly Val Lys Leu Ser Ser Met Gly
 245 250 255

Val Tyr Gln Ile His His His His His His
 260 265

<210> 153
 <211> 298
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> UFV171590 (UFV160664+TM)

<400> 153

Met Lys Ala Ile Leu Val Val Leu Leu Tyr Thr Phe Ala Thr Ala Asn
 1 5 10 15

Ala Asp Thr Leu Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr
 20 25 30

Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn
 35 40 45

Leu Leu Glu Asp Lys Lys Tyr Val Cys Ser Thr Lys Leu Arg Leu Ala
 50 55 60

Thr Gly Leu Arg Asn Lys Pro Ser Lys Gln Ser Gln Gly Leu Phe Gly
 65 70 75 80

Ala Ile Ala Gly Phe Thr Glu Gly Gly Trp Thr Gly Met Val Asp Gly
 85 90 95

Trp Tyr Gly Tyr His His Gln Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
 100 105 110

Asp Leu Lys Ser Thr Gln Asn Ala Ile Asp Glu Ile Thr Asn Lys Val
 115 120 125

Asn Ser Val Ile Glu Lys Met Asn Thr Gln Arg Thr Ala Ile Gly Cys

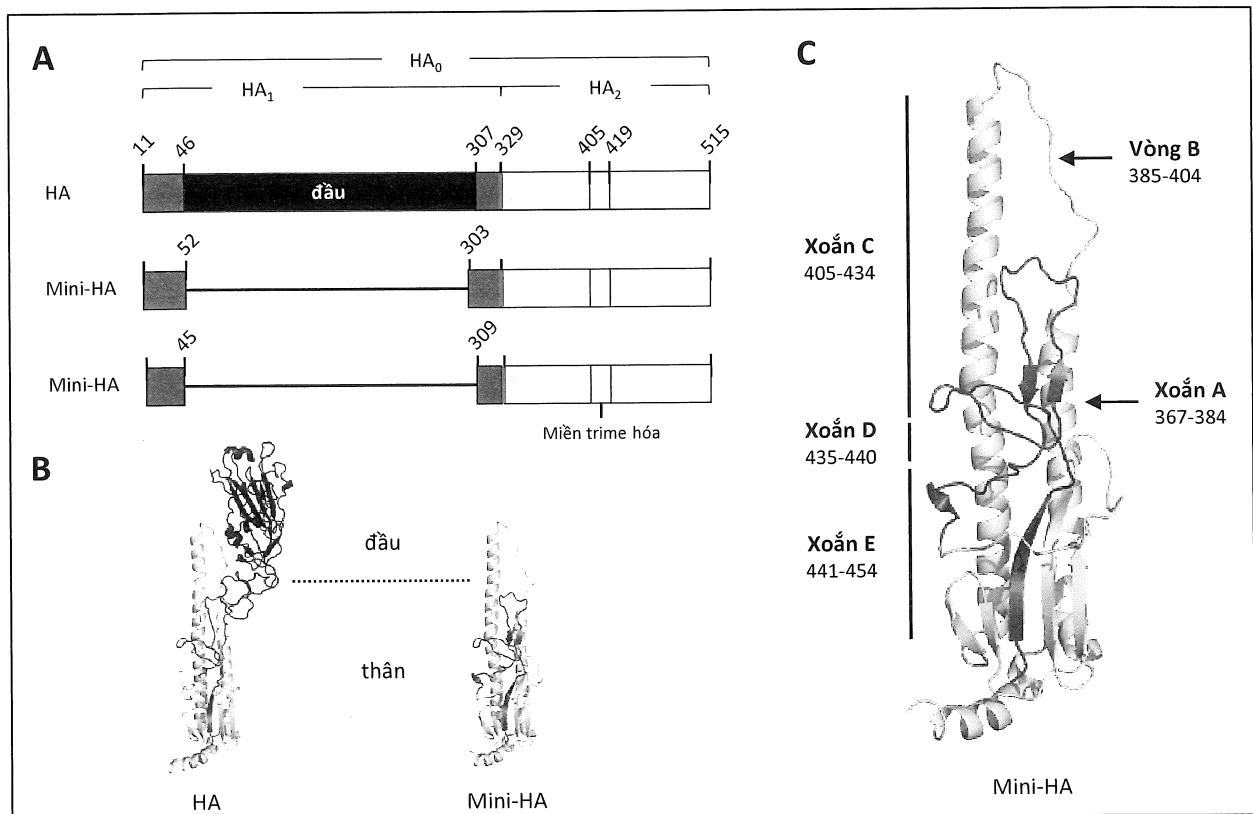
130		135		140
Glu Tyr Asn Lys Ser Glu Arg Cys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile				
145		150		155
Glu Glu Ile Glu Ser Lys Ile Trp Cys Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val				
		165		170
				175
Leu Leu Glu Asn Gln Arg Thr Leu Asp Tyr His Asp Ser Asn Val Lys				
		180		185
				190
Asn Leu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu				
		195		200
				205
Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Thr Cys				
		210		215
				220
Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu				
		225		230
				235
Glu Ala Lys Leu Asn Arg Glu Glu Ile Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser				
		245		250
				255
Thr Arg Ile Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser				
		260		265
				270
Leu Val Leu Val Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser				
		275		280
				285
Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile				
		290		295
<210>	154			
<211>	36			
<212>	PRT			
<213>	Trình tự Nhân tạo			
<220>				
<223>	đuôi Strep			
<400>	154			

Glu Gly Arg Ala Ala Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ala
1 5 10 15

Ala Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ala Ala Trp Ser His Pro
20 25 30

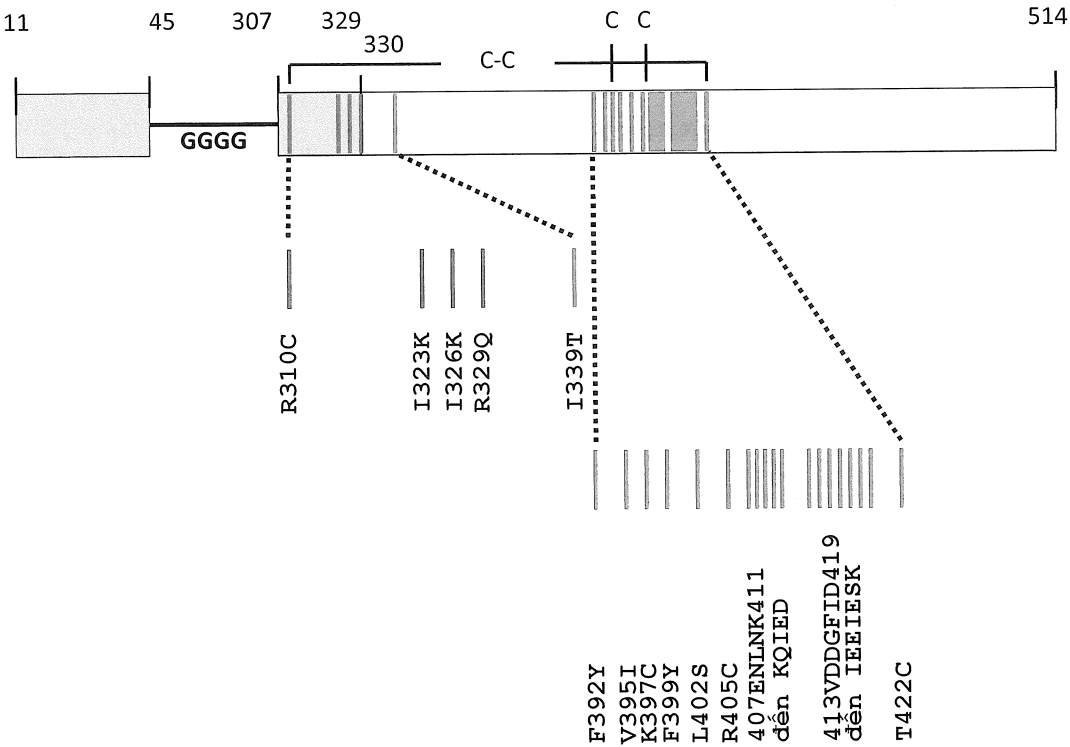
Gln Phe Glu Lys
35

1/21



Hình 1

2/21



Hình 2

11 45 307 329 330 C C 514

GGGG

K310C

I323K

I326K

R329Q

I339T

F392Y

V395I

K397C

F399Y

H401K

I402S

K404R

R405C

I406M

407ENLNK411

den KQIED

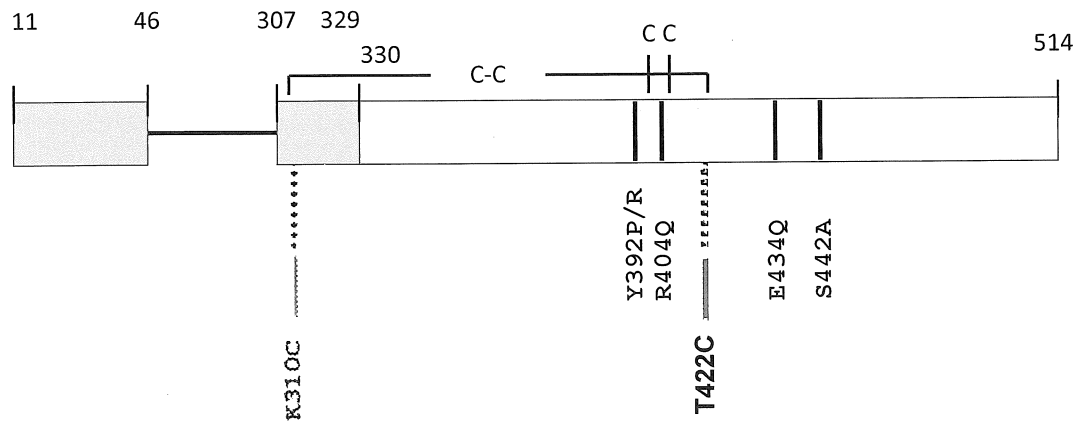
413VDDGFLD419

den IEEIESK

T422C

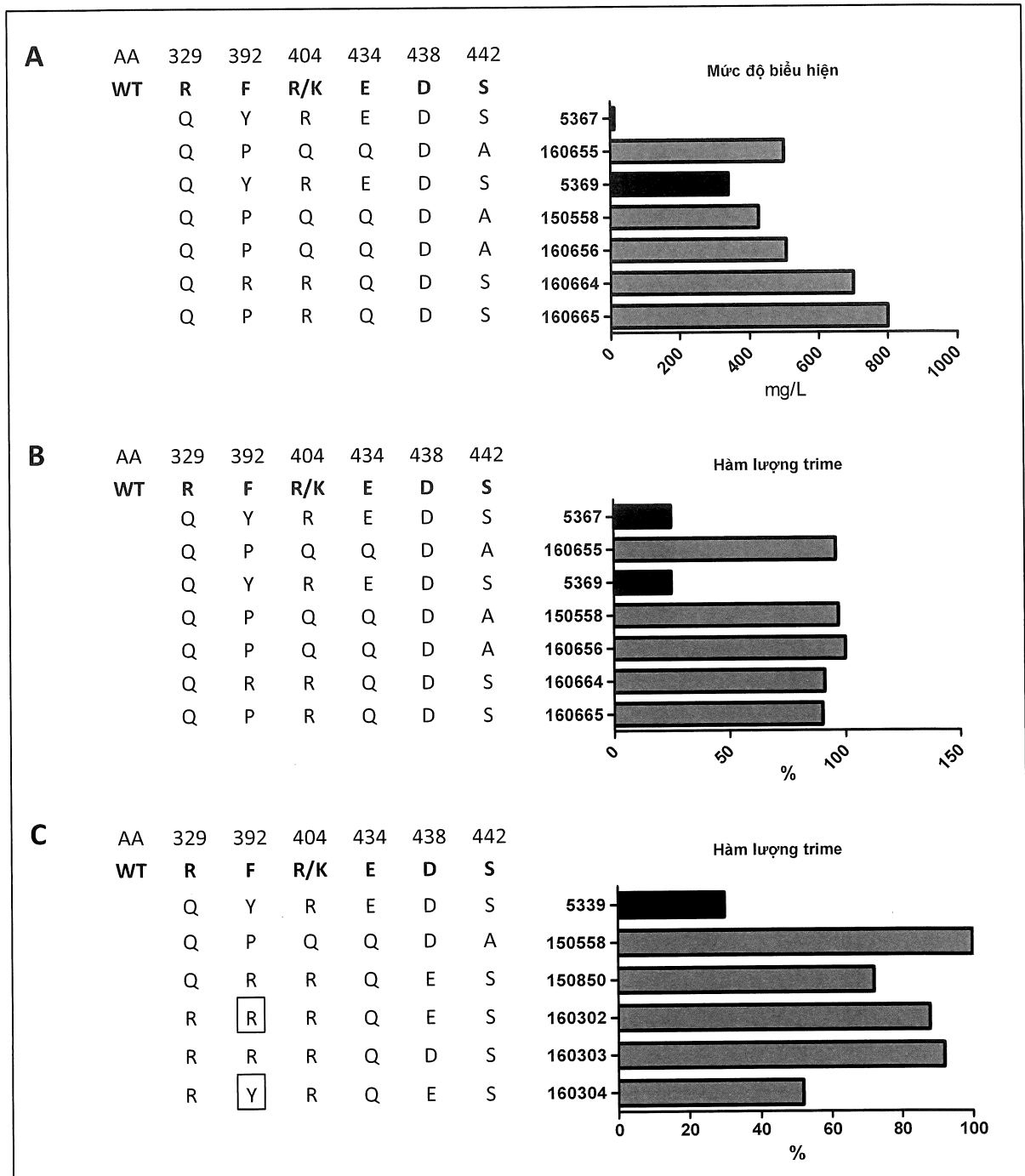
Hình 3

4/21



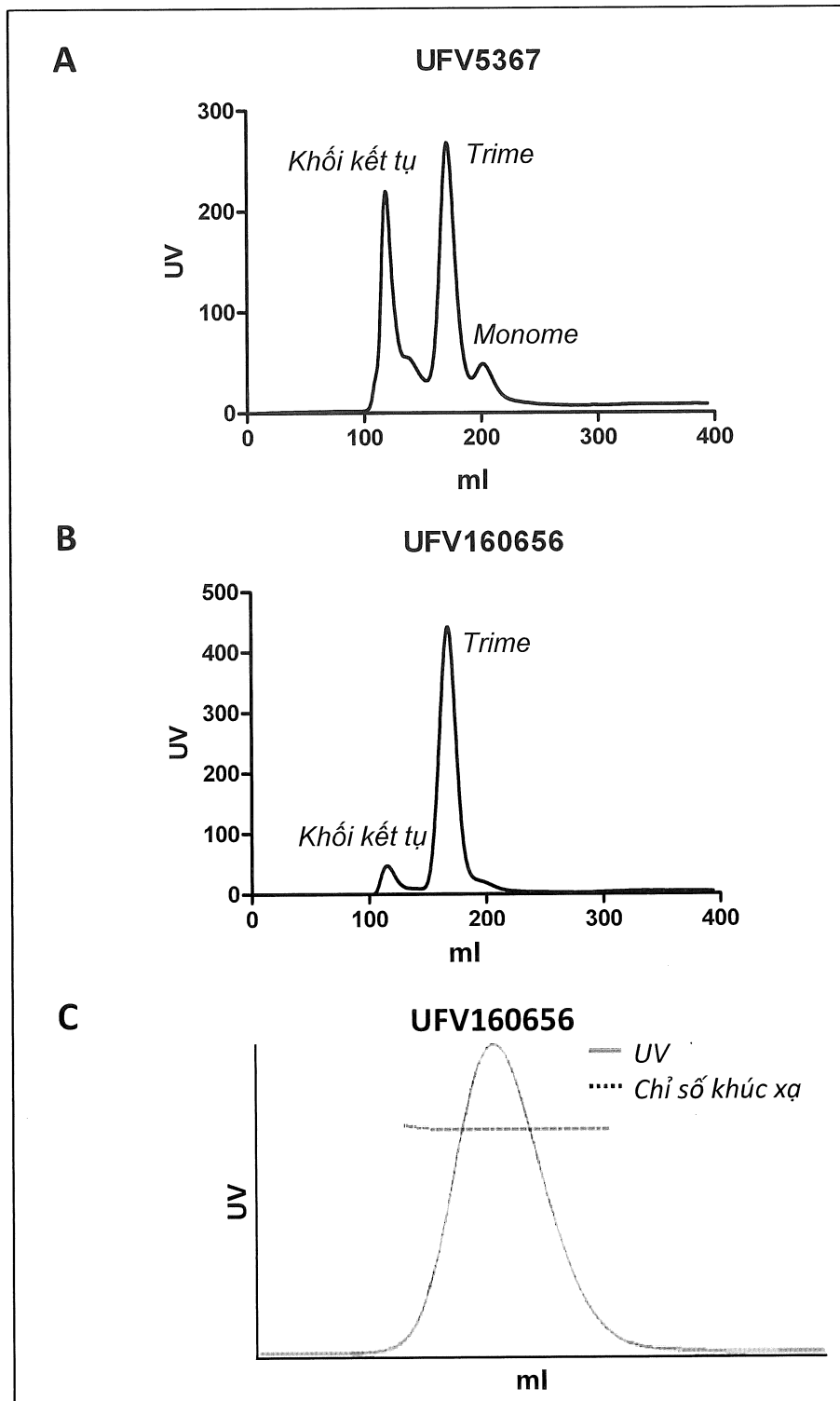
Hình 4

5/21



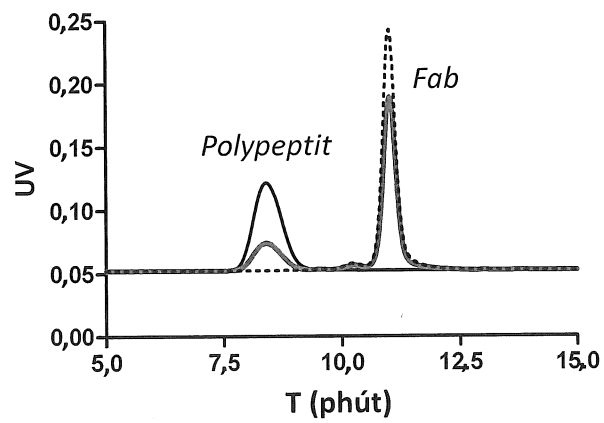
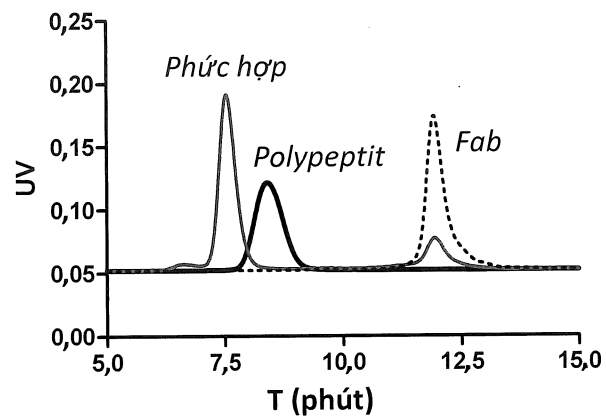
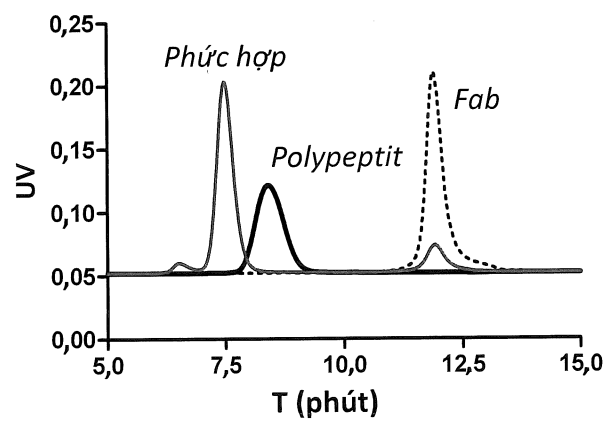
Hình 5

6/21

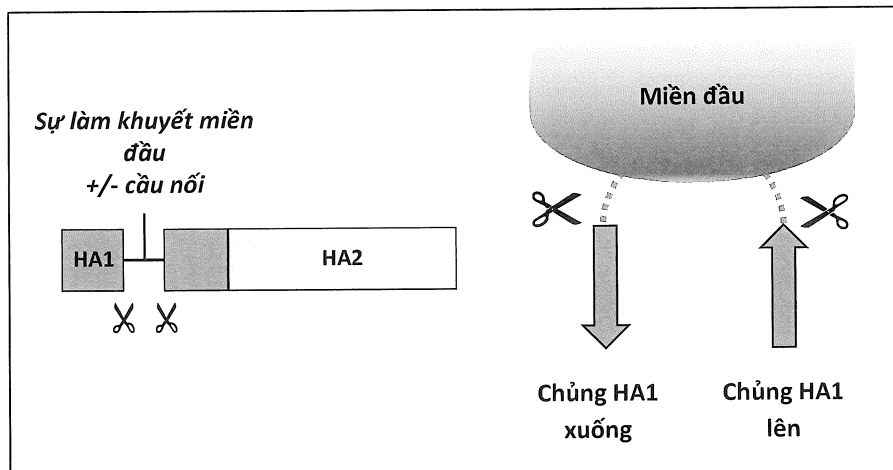


Hình 6

7/21

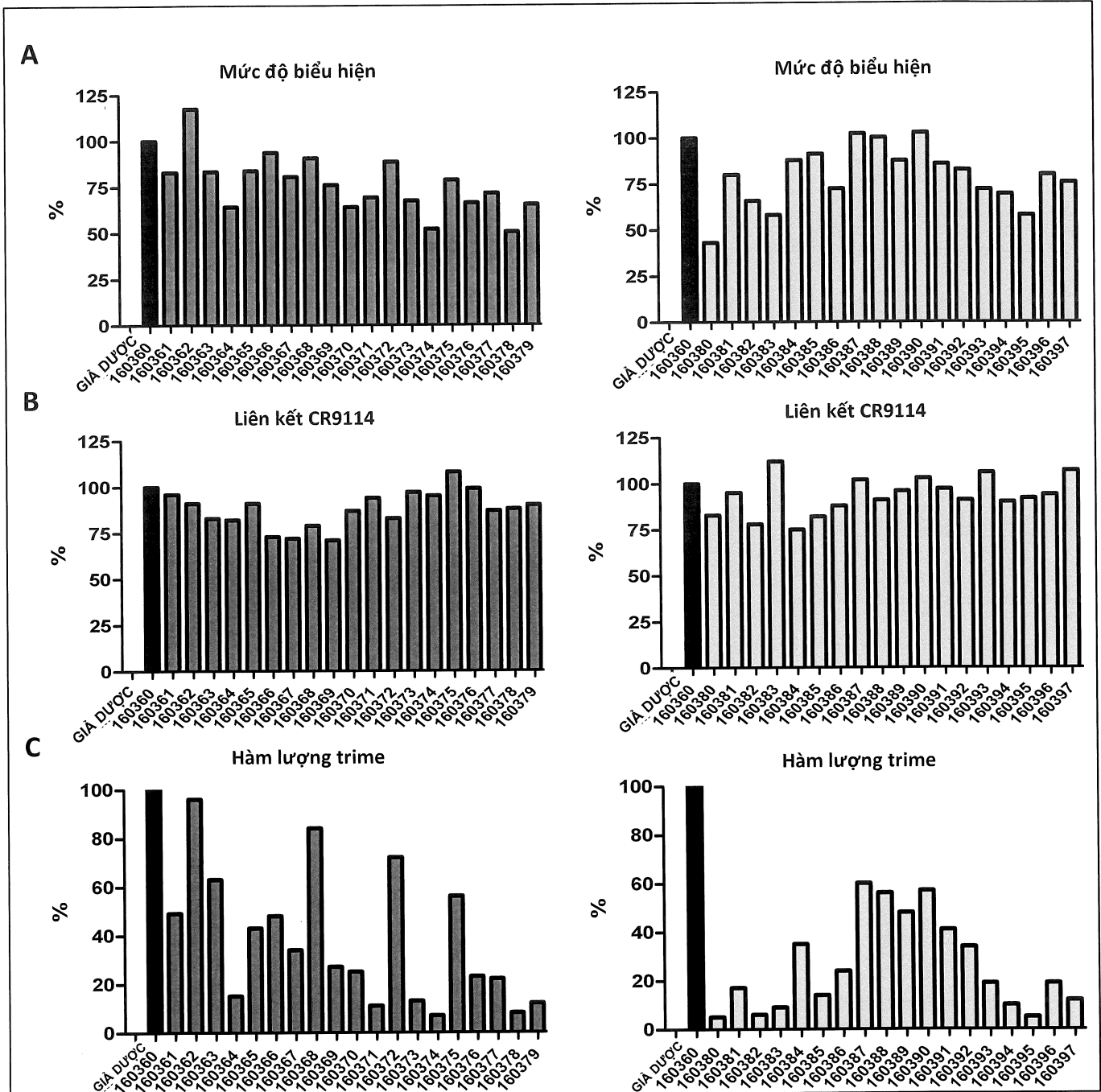
A**Đối chứng âm****B****Fab6261****C****Fab9114****Hình 7**

8/21



Hình 8

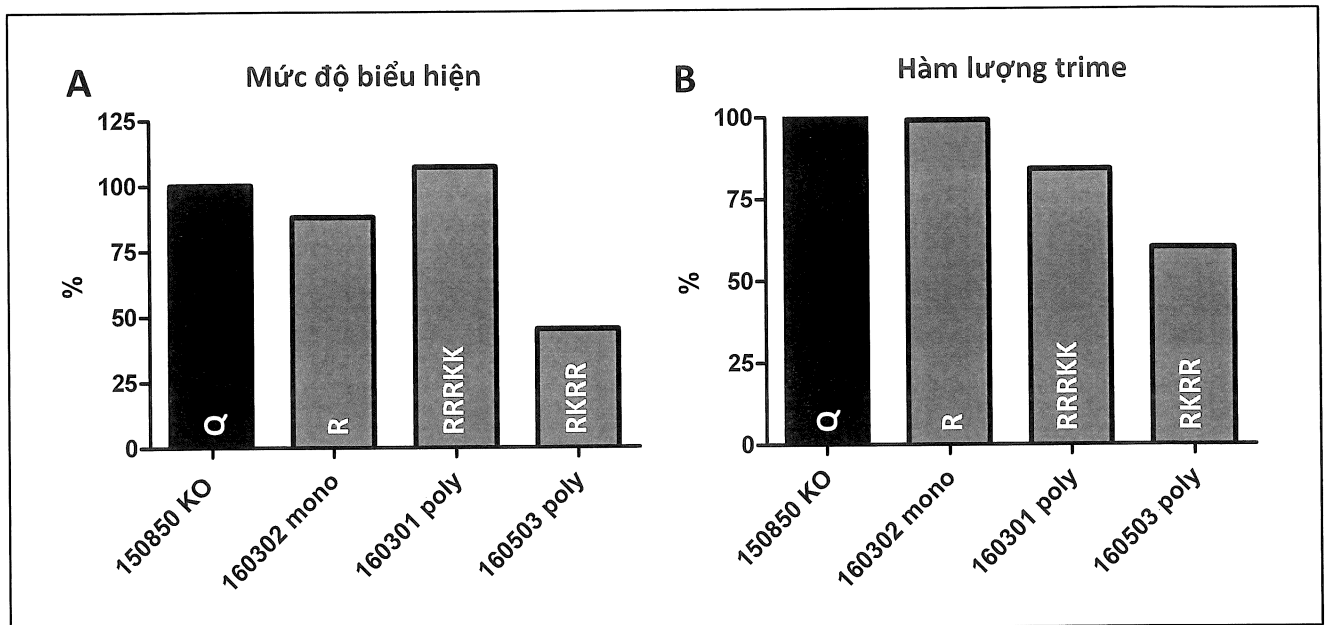
9/22



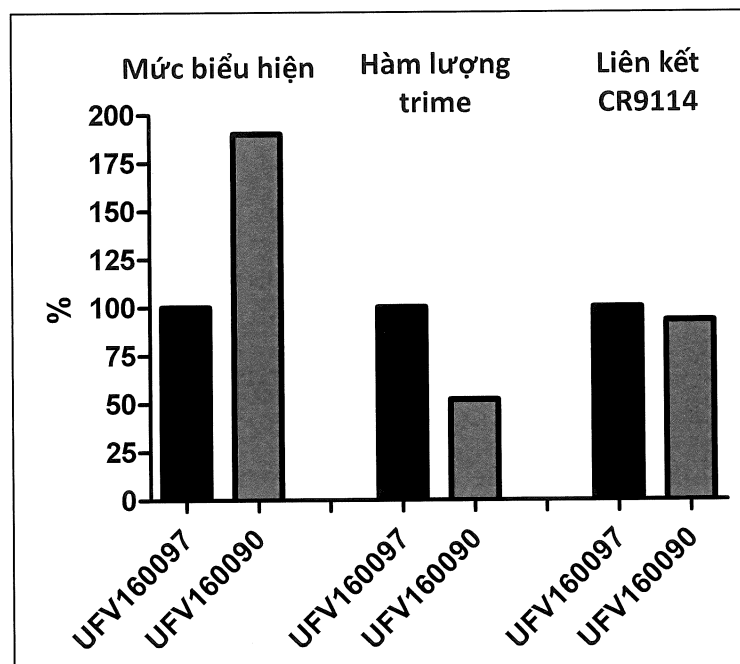
Hình 9

10/21

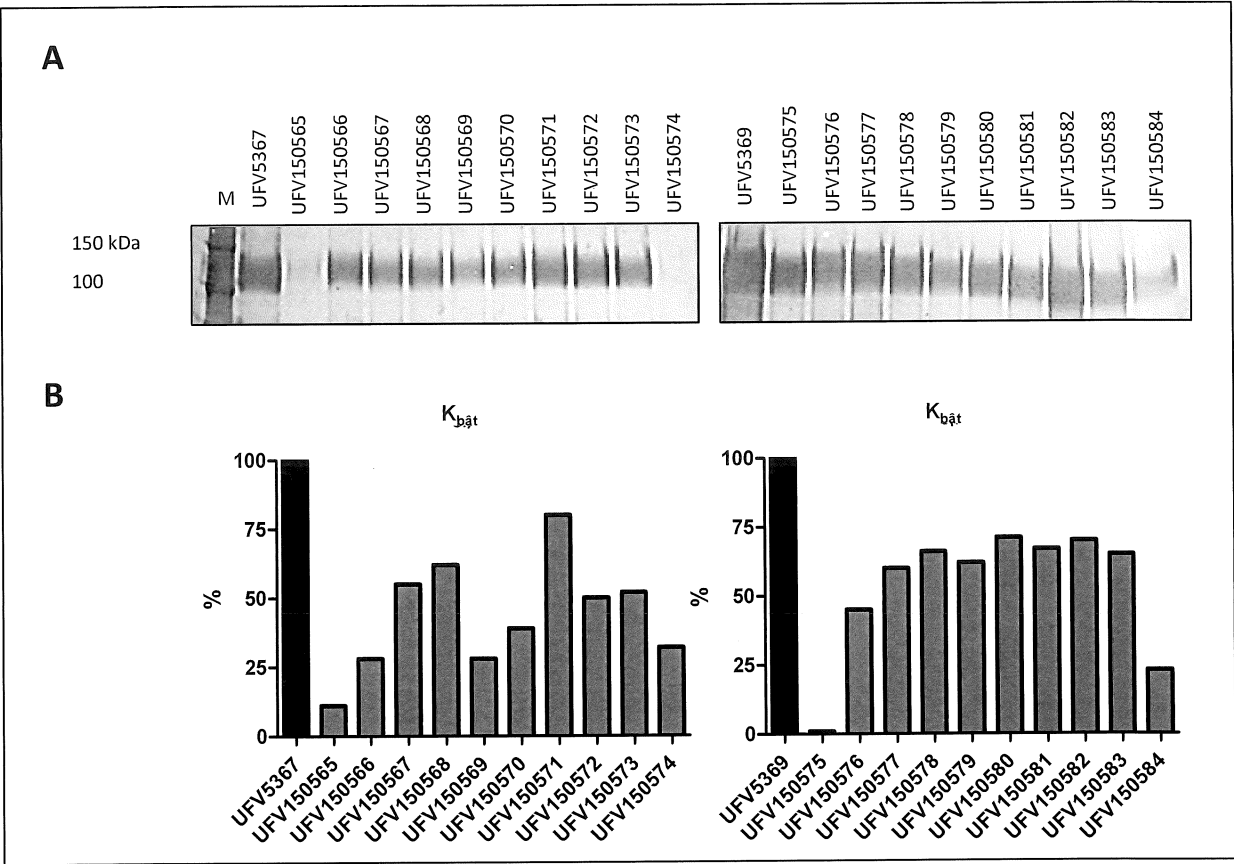
Hình 10



Hình 11

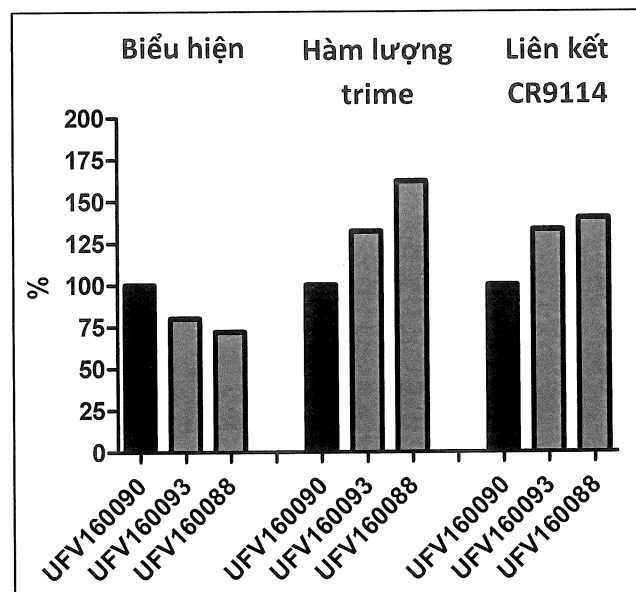


11/21



Hình 12

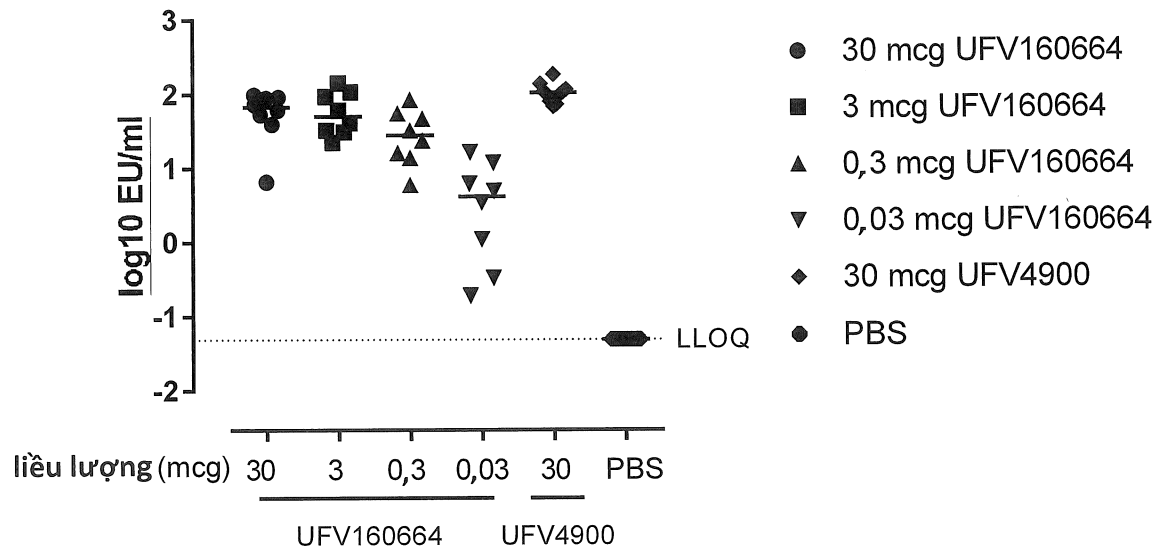
12/21



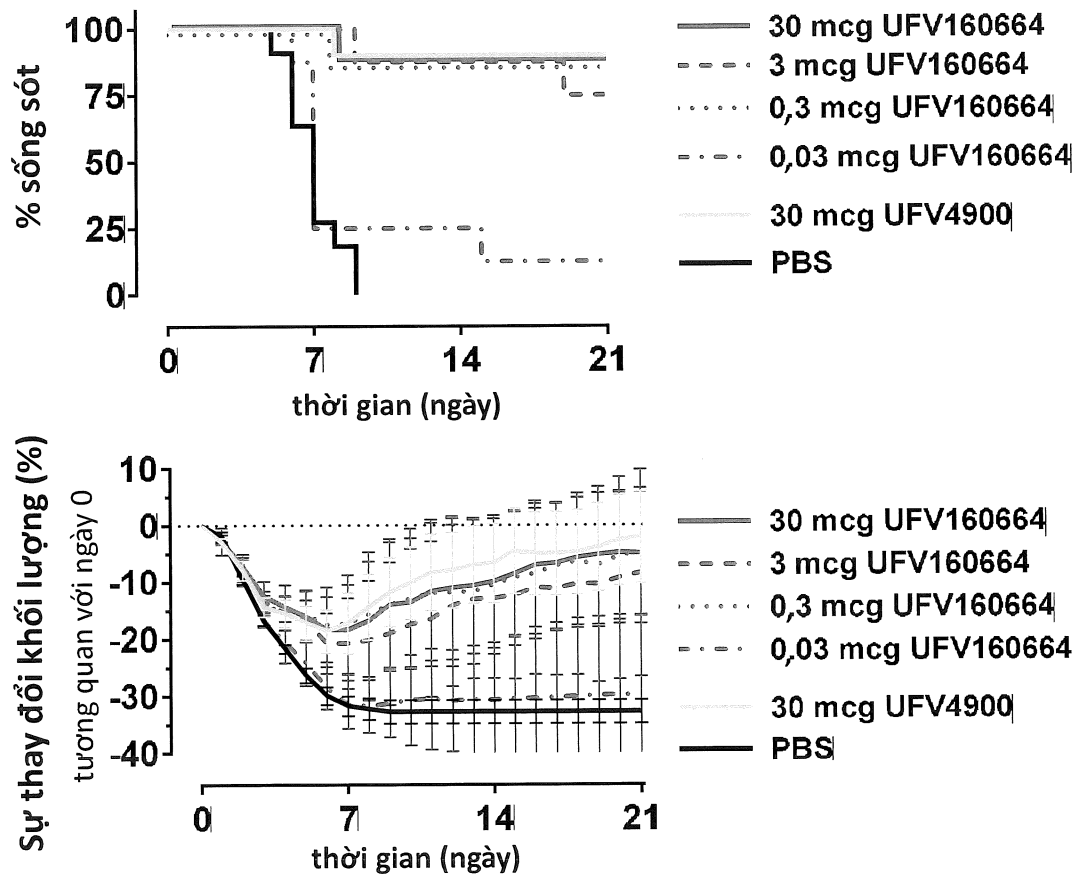
Hình 13

14/21

Hình 15

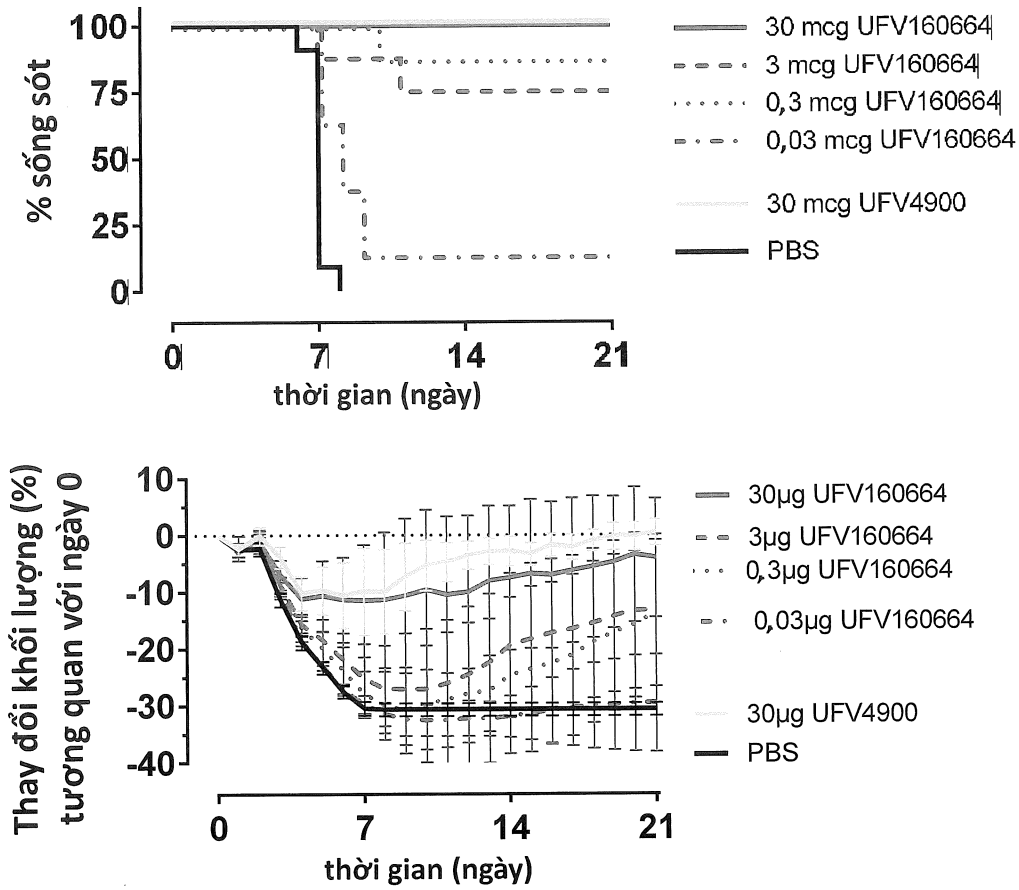


Hình 16

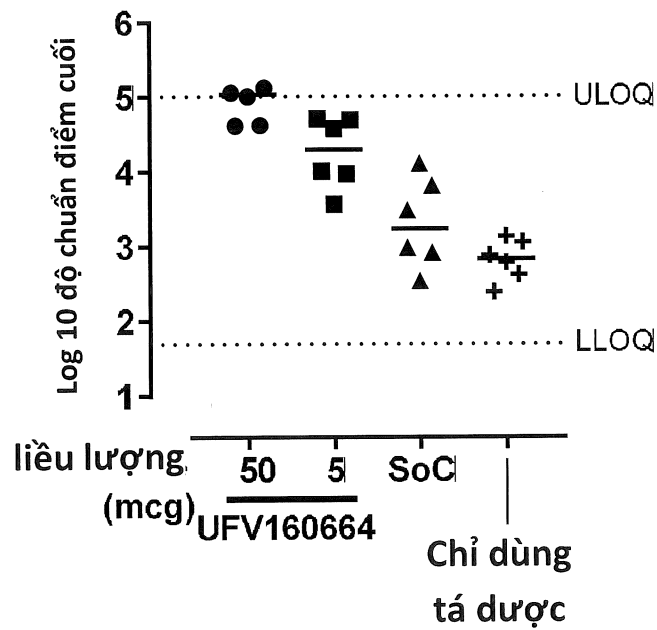


15/21

Hình 17

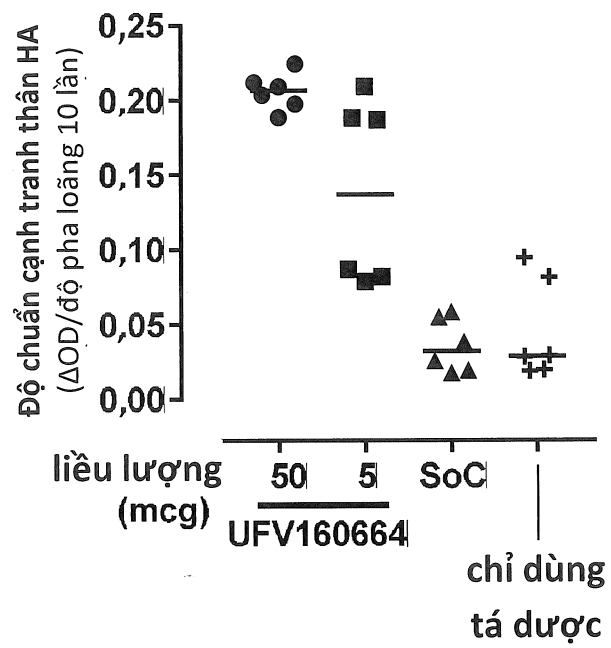


Hình 18

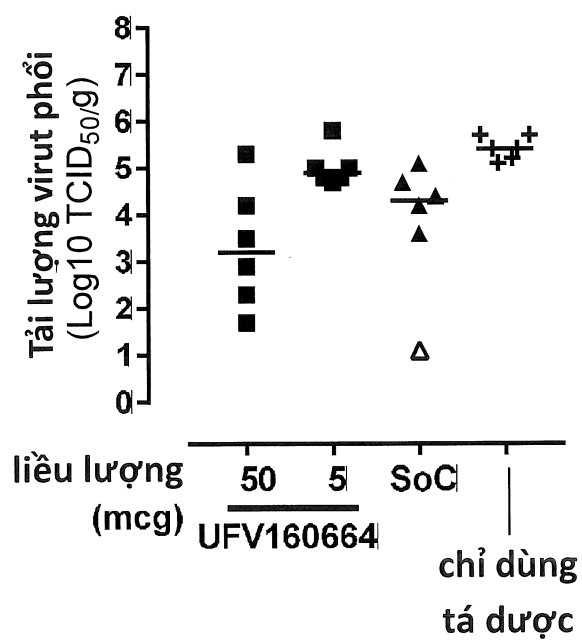


16/21

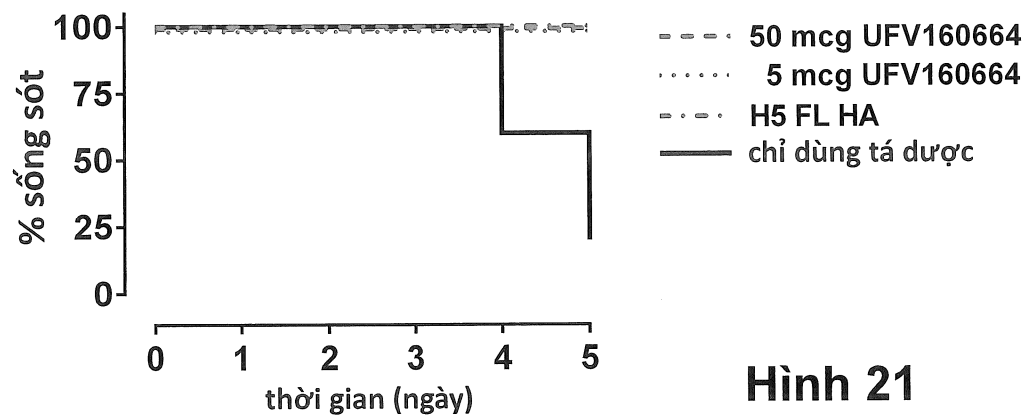
Hình 19



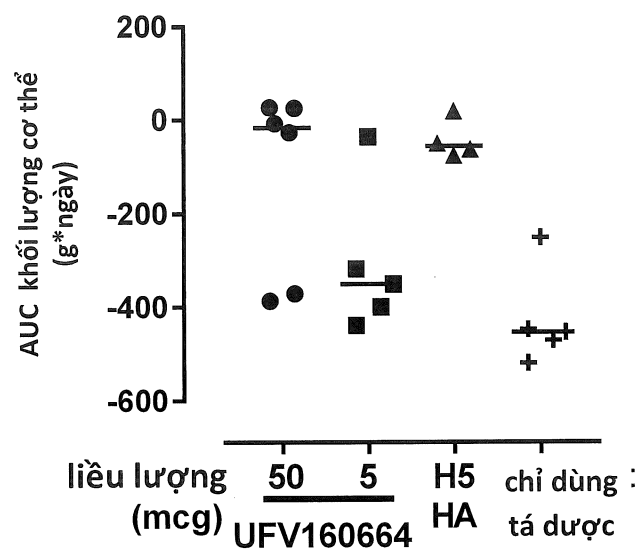
Hình 20



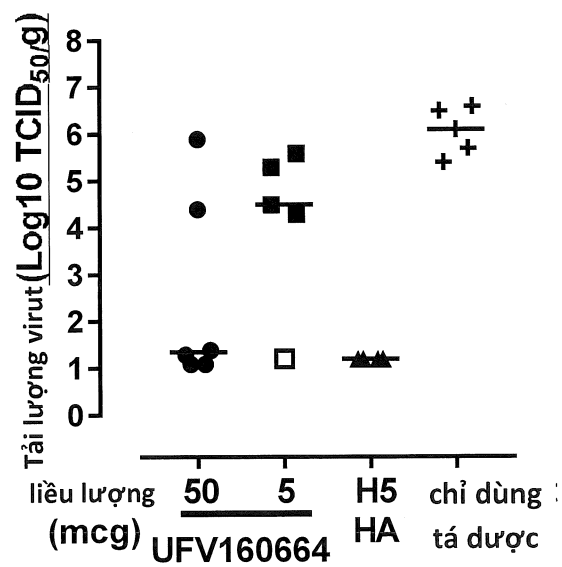
17/21



Hình 21



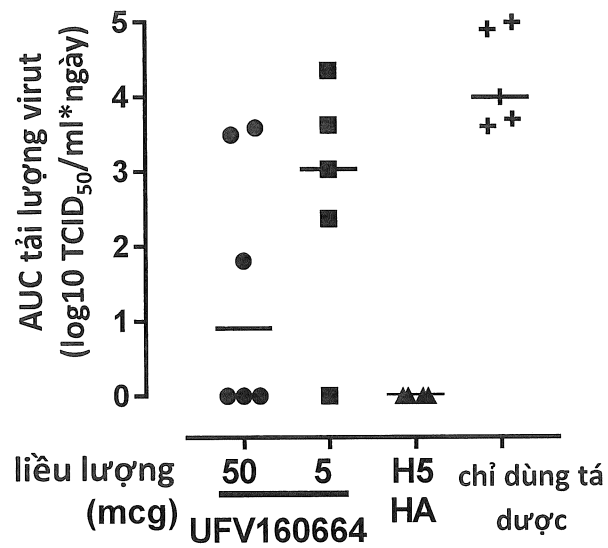
Hình 22



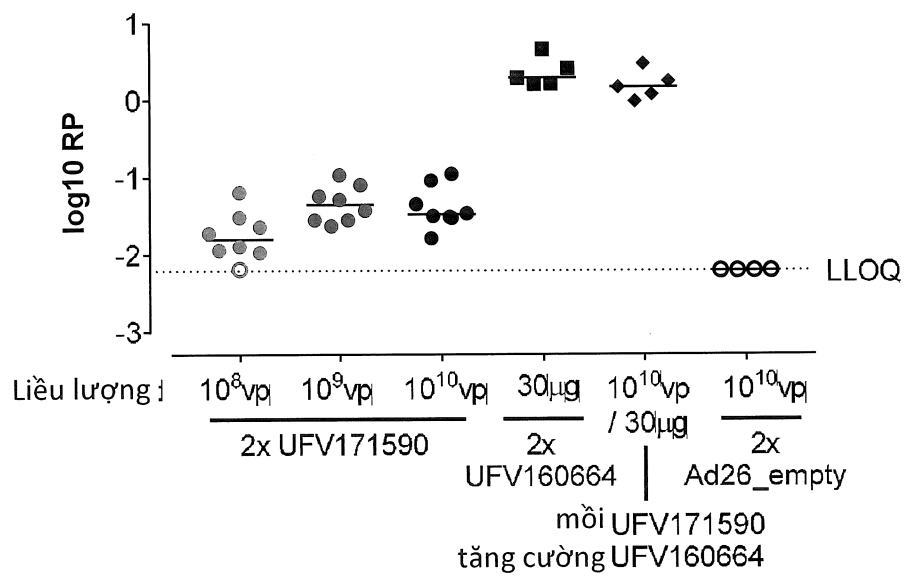
Hình 23

18/21

Hình 24

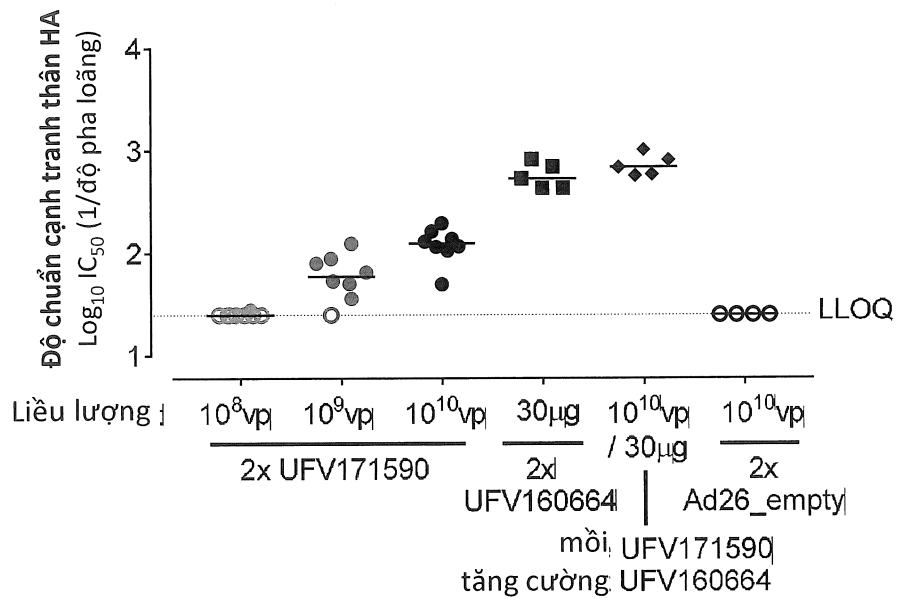


Hình 25

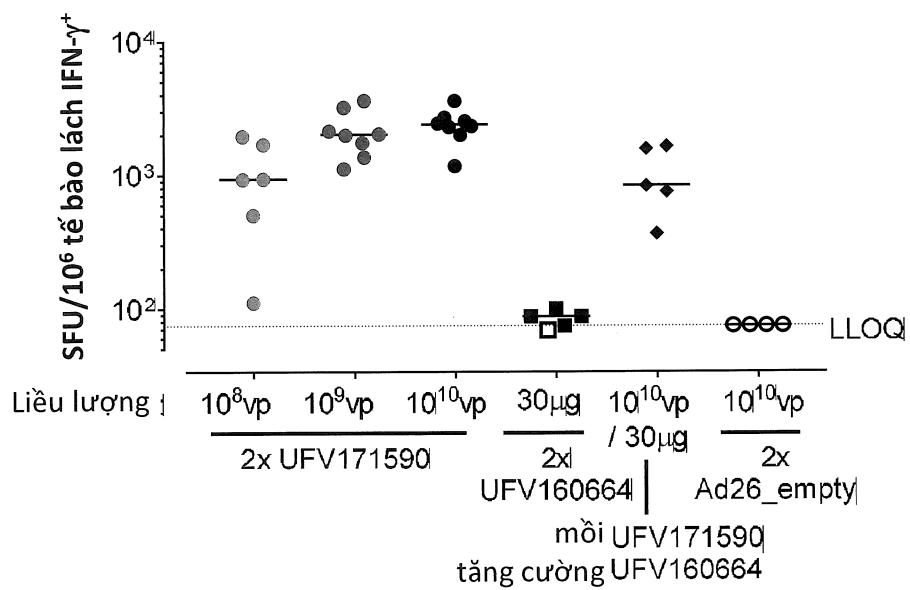


19/21

Hình 26



Hình 27



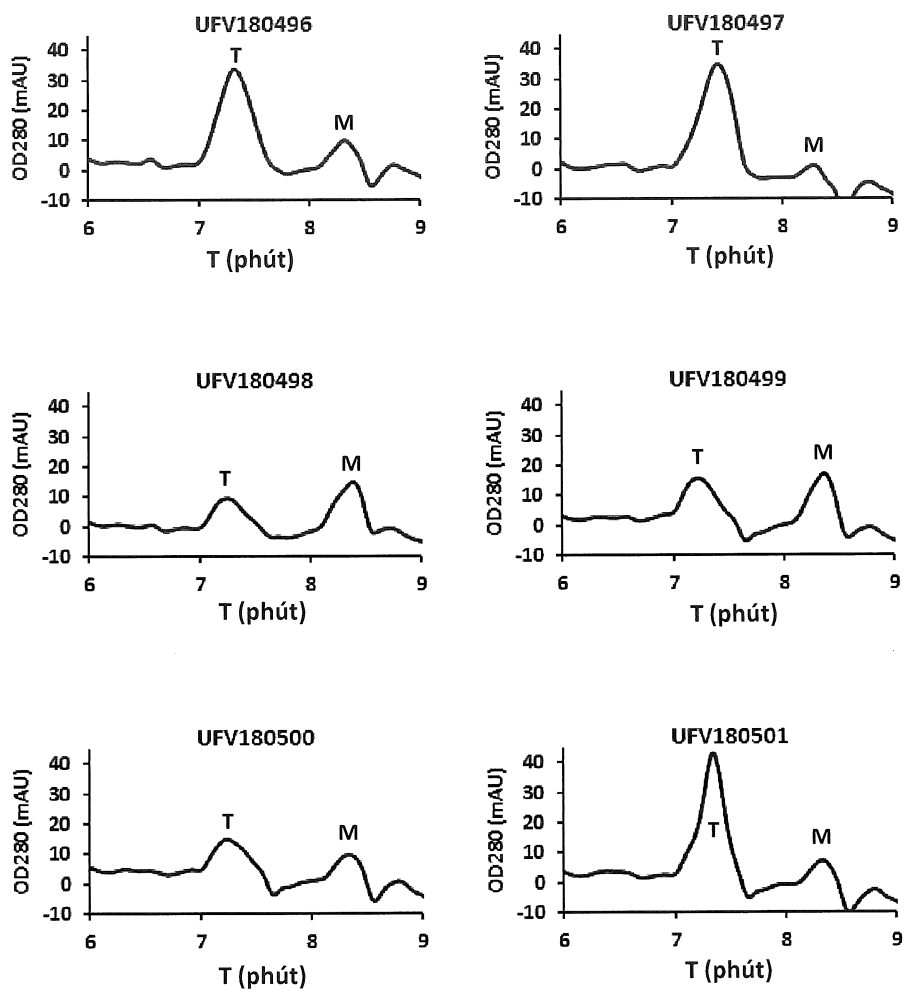
20/21

Hình 28

A

ID.	Chủng	Mức biểu hiện
UFV180496	H1 A/California/07/09	375 mg/l
UFV180497	H1 A/Michigan/45/2015	367 mg/l
UFV180498	H1 A/Puerto Rico/8/1934	244 mg/l
UFV180499	H5 A/Hong Kong/156/97	133 mg/l
UFV180500	H5 A/Vietnam/1203/04	42 mg/l
UFV180501	H2 A/Singapore/1/57	229 mg/l

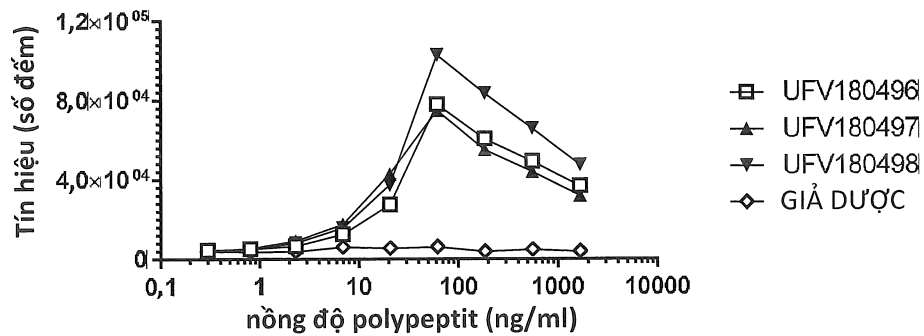
B



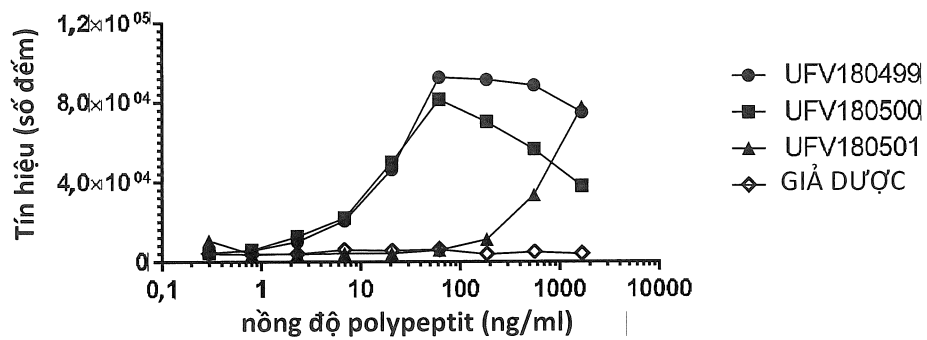
21/21

C

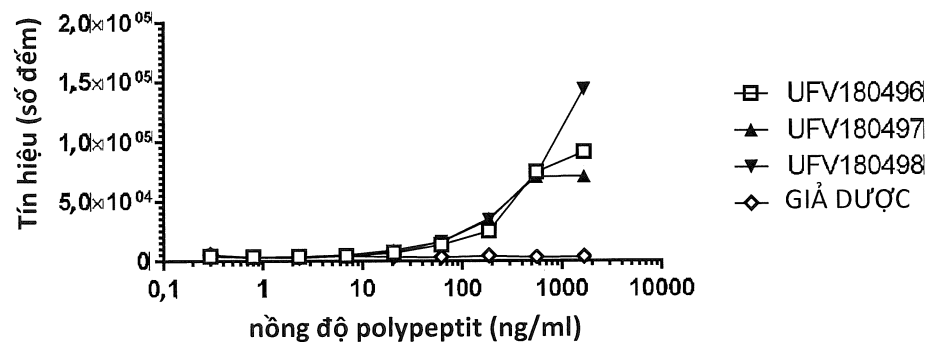
Liên kết CR9114 với H1



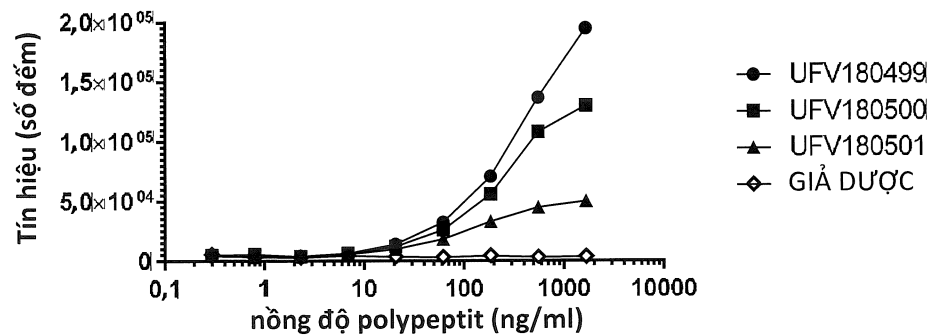
Liên kết CR9114 với H2 và H5



Liên kết MD3606 với H1



Liên kết MD3606 với H2 và H5



Hình 28 – tiếp