



(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)



1-0051328

(51)⁷ A61K 36/06; A61K 39/00

(13) B

(21) 1-2018-05442

(22) 03/05/2017

(86) PCT/US2017/030764 03/05/2017

(87) WO/2017/192671 09/11/2017

(30) 62/331,044 03/05/2016 US

(45) 25/09/2025 450

(43) 25/06/2019 375A

(73) 1. THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF ARKANSAS (US)
2404 North University Avenue, Little Rock, AR 72207, United States of America

2. THE TEXAS A&M UNIVERSITY SYSTEM (US)

3369 Tamu College Station, TX 77843-3369, United States of America

(72) HARGIS, Billy (US); CALHOUN, Leona, Nicole (US); BERGHMAN, Luc (US);
BIELKE, Lisa (US); FAULKNER, Olivia, B. (US).

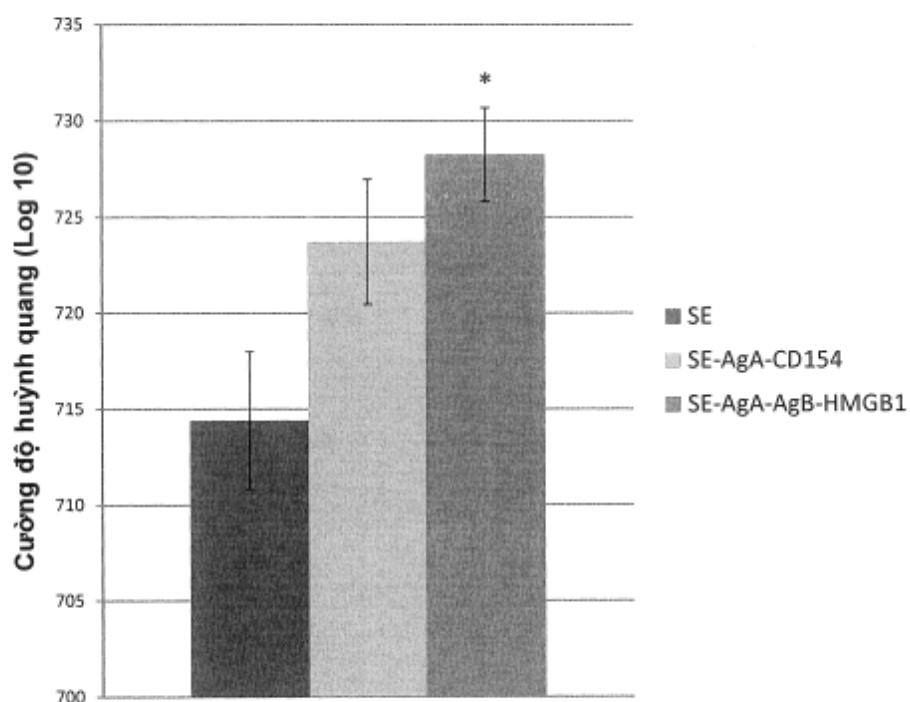
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) NẤM MEN ĐƯỢC THAO TÁC DI TRUYỀN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NẤM
MEN NÀY

(21) 1-2018-05442

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin nấm men bao gồm nấm men chứa polynucleotit kích thích miễn dịch mã hóa polypeptit HMGB1 hoặc phối tử CD40 và tùy ý polypeptit kháng nguyên. Polypeptit kích thích miễn dịch và polypeptit kháng nguyên này được biểu hiện hoặc được thể hiện trên bề mặt của nấm men. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa chế phẩm vaccin nấm men này.

Fig. 1



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm vacxin bao gồm nấm men chứa polypeptit kích thích miễn dịch và tùy ý polypeptit kháng nguyên.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Vacxin được sử dụng để khởi đầu đáp ứng miễn dịch thích ứng chống lại kháng nguyên, cụ thể là kháng nguyên từ mầm bệnh để cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh. Vacxin vi sinh vật bất hoạt hoặc giảm độc lực thường hữu hiệu trong việc kích thích đáp ứng miễn dịch mạnh bảo vệ đầy đủ, nhưng trong một số trường hợp các vacxin này không bảo vệ hoặc chỉ bảo vệ một phần và các chiến lược khác cần được sử dụng để phát triển các vacxin bảo vệ. Vacxin dựa trên vi sinh vật không thể biến đổi sau dịch mã các protein bằng cách glycosyl hóa để biểu hiện thích hợp protein kháng nguyên lớn, như protein virus; do đó, việc phát triển vector vacxin nấm men có thể glycosyl hóa và tạo ra các protein kháng nguyên lớn được gấp một cách thích hợp mà an toàn và hữu hiệu trong việc kích thích đáp ứng miễn dịch bảo vệ kéo dài là cần thiết.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất vector vacxin nấm men. Vector vacxin này thích hợp để dùng qua đường miệng và tạo ra tính miễn dịch nhanh và kéo dài đối với kháng nguyên và sự bảo vệ chống lại bệnh nhiễm trùng theo sau với các vi sinh vật đích. Cụ thể là, đáp ứng miễn dịch được tạo ra là đáp ứng IgA thích hợp để bảo vệ khỏi bệnh nhiễm trùng niêm mạc.

Theo một khía cạnh, chế phẩm vacxin nấm men được đề xuất. Chế phẩm này bao gồm nấm men chứa polynucleotit kích thích miễn dịch mã hóa polypeptit kích thích miễn dịch được chọn từ polypeptit HMGB1 hoặc phối tử CD40. Nấm men được thao tác di truyền để biểu hiện polypeptit HMGB1 hoặc phối tử CD40 trên bề mặt của nấm men. Chế phẩm cũng có thể bao gồm polypeptit kháng nguyên, cũng được biểu hiện thích hợp trên bề mặt của nấm men. Chế phẩm này có thể được kết hợp với chất mang và/hoặc tá dược được dùng để tạo ra dược phẩm. Chế phẩm này có thể bao gồm nhiều hơn một polypeptit kháng nguyên và nhiều

hơn một polypeptit kháng nguyên có thể thu được từ các sinh vật hoặc loài giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tăng cường đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bằng cách sử dụng chế phẩm vaccin và được phẩm cho đối tượng với lượng hữu hiệu để tăng cường đáp ứng miễn dịch của đối tượng với chế phẩm vaccin và tác nhân gây nhiễm liên quan đến polypeptit kháng nguyên.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là đồ thị so sánh cường độ huỳnh quang của đại thực bào RAW 264 sau khi đồng nuôi cấy kèm theo đánh dấu huỳnh quang với *Salmonella* Enteriditis *aroA/htrA*, *Salmonella* Enteriditis *aroA/htrA*-AgA-CD154, và *Salmonella* Enteriditis *aroA/htrA*-AgA-AgB-HMGB1.

Fig.2 mô tả bằng sơ đồ bản đồ plasmit pPICZ được thao tác di truyền để bao gồm sự biểu hiện protein nhóm di động cao hộp 1 (HMGB1) đặc hiệu *Gallus gallus* trên *Pichia pastoris* bằng cách sử dụng phương pháp biểu hiện bề mặt tế bào alpha agglutinin của *Saccharomyces cerevisiae* được neo glycosylphosphatidylinositol. pPICZ có tính chịu cảm ứng với metanol bằng cách sử dụng vùng gen khởi động AOX1.

Fig.3 là bộ ảnh thể hiện sự biểu hiện bề mặt tế bào của HMGB1 trên *Pichia pastoris* (X33). Cấu trúc *Pichia pastoris*-HMGB1 #4 (Fig.3D: chỉ DIC, Fig.3E: chỉ huỳnh quang, Fig 3F: DIC/phủ huỳnh quang) và khung *Pichia pastoris* (X33; Fig.3A: chỉ DIC, Fig.3B: chỉ huỳnh quang, Fig 3C: DIC/phủ huỳnh quang) được nhuộm bằng cách sử dụng đa dòng của thỏ HMGB1 156-177 được pha loãng với tỷ lệ 1:5 trong nước muối đệm phosphat (PBS) với phần F(ab)² chứa kháng IgG thỏ của dê được liên hợp với Alexa 488 ở tỷ lệ 1:1000 trong 1% huyết thanh dê trong PBS. Sự biểu hiện protein HMGB1 được biểu hiện tối ưu trên ba trong số chín cấu trúc *Pichia pastoris*-HMGB1 đã được biến nạp.

Fig.4 là đồ thị thể hiện tỷ lệ mẫu kháng thể huyết thanh đặc hiệu *Pichia pastoris*/huyết thanh đối chứng âm. Chúng tôi đã quan sát được đường cong đáp ứng liều điển hình của kháng thể đặc hiệu *Pichia pastoris* được xác định bằng cách sử dụng ELISA. *Pichia pastoris* được dùng SQ ở 10⁷/gà lấy thịt là quá ít để tăng đáp ứng miễn dịch, và 10⁹/gà lấy thịt là quá nhiều

để gây ra sự chuyển hóa huyết thanh đối với cả khung cấu trúc X33. *Pichia pastoris* được dùng SQ ở 10^8 /gà lấy thịt là liều tốt nhất mà dẫn đến tất cả các cấu trúc HMGB1+ *Pichia pastoris* làm tăng đáng kể kháng thể huyết thanh đặc hiệu *Pichia pastoris* ($P < 0,001$).

Fig.5 là đồ thị thể hiện kháng thể huyết thanh đặc hiệu *Pichia pastoris* được chuẩn hóa so với tỷ lệ huyết thanh ở các con gà lấy thịt đối chứng không được tiêm chủng (Nhóm 1). Đáp ứng liều mà các tác giả sáng chế mong đợi lặp lại. Các tác giả sáng chế quan sát được đường cong đáp ứng liều điển hình. *Pichia pastoris* được dùng SQ ở 10^7 /gà lấy thịt là quá ít để tăng đáp ứng miễn dịch, và 10^9 /gà lấy thịt là quá nhiều để gây ra sự chuyển hóa huyết thanh đối với cả khung cấu trúc X33. *Pichia pastoris* được dùng SQ ở 10^8 /gà lấy thịt là liều tốt nhất mà dẫn đến tất cả các cấu trúc HMGB1+ *Pichia pastoris* làm tăng đáng kể kháng thể huyết thanh đặc hiệu *Pichia pastoris* ($P = 0,049$).

Fig.6 là đồ thị thể hiện tỷ lệ phần trăm động vật có điểm tổn thương là 4 vào ngày 6 sau thách thức và phần trăm được nêu trong mỗi thanh thể hiện tỷ lệ phần trăm chết vào ngày 6 sau thách thức.

Fig.7 là đồ thị thể hiện sự phân bố của toàn bộ điểm tổn thương cũng giảm đi ở động vật được tiêm chủng. Động vật đã tiêm chủng thể hiện điểm tổn thương thấp hơn.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin có khả năng gợi ra đáp ứng miễn dịch chống lại chế phẩm vaccin hoặc chống lại polypeptit kháng nguyên được biểu hiện bởi chế phẩm vaccin. Cụ thể, chế phẩm vaccin bao gồm nấm men được thao tác di truyền để biểu hiện polypeptit kích thích miễn dịch trên bề mặt của nó. Nấm men này cũng có thể được thao tác di truyền để biểu hiện polypeptit kháng nguyên khác trên bề mặt của nấm men. Theo các phương án cụ thể, vector vaccin *Pichia pastoris* được đề xuất. Vector vaccin này bao gồm trình tự polynucleotit kích thích miễn dịch mã hóa polypeptit kích thích miễn dịch mà được thể hiện hoặc biểu hiện trên bề mặt của nấm men. Polypeptit kích thích miễn dịch có thể là polypeptit kích thích miễn dịch nhóm di động cao hộp 1 (high mobility group box 1 - HMGB1) hoặc phối tử CD40 như polypeptit CD154 hoặc mảnh của nó hoặc chất chủ vận CD40 khác như

kháng thể chủ vận CD40. Polypeptit kích thích miễn dịch có thể được biểu hiện trên bề mặt của nấm men, ví dụ, *Pichia pastoris*, bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ sẵn có với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, polypeptit kích thích miễn dịch được gắn vào bề mặt của nấm men qua cơ chế neo glycosylphosphatidylinositol (GPI) được mã hóa bởi đầu 3' của *Saccharomyces cerevisiae* α -agglutinin. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ biết rõ là các hệ biểu hiện khác có thể được sử dụng để thu được sự biểu hiện bề mặt của polypeptit kích thích miễn dịch và/hoặc kháng nguyên có trong nấm men này để tạo ra chế phẩm vaccin.

Protein HMGB1 được nhận diện lần đầu tiên là protein liên kết ADN quan trọng đối với cấu trúc và sự ổn định của ADN. Nó là protein trong nhân được biểu hiện ở khắp nơi mà liên kết với ADN không có tính đặc hiệu trình tự. Protein này được bảo toàn cao và được tìm thấy ở các sinh vật từ thực vật đến động vật có vú. Gà, cá ngựa vằn, người, chuột nhắt, chuột cống, khỉ macaca ăn cua, bò, ngựa, chó, lợn, thỏ, cá đù đỏ, cá trê, cá hồng đầu khum, cá vàng, rắn hổ mang chúa, tôm nước mặn và các trình tự axit amin HMGB1 khác được đề xuất. Xem SEQ ID NO: 2-30 và 94-105. Trình tự xuyên suốt các động vật có vú được bảo toàn cao với độ đồng nhất axit amin là 95% và các thay đổi axit amin được bảo toàn. Do đó, protein HMGB1 từ một loài có thể thay thế cho protein này ở loài khác về mặt chức năng. Protein HMGB1 có độ dài đầy đủ hoặc một phần của nó có thể được sử dụng làm polypeptit HMGB1 trong vector vaccin được mô tả trong bản mô tả. HMGB1 có hai vùng liên kết ADN được gọi là A1 và A2 và B1 và B2. Xem Andersson and Tracey, *Annu. Rev. Immunol.* 2011, 29:139-162.

HMGB1 là chất trung gian của phản ứng viêm và đóng vai trò là tín hiệu của tổn thương nhân, như từ tế bào hoại tử. HMGB1 cũng có thể được tiết chủ động bởi tế bào thuộc dòng tế bào bạch cầu đơn nhân to/đại thực bào trong quá trình đòi hỏi sự acetyl hóa protein, di chuyển qua nhân, và tiết. HMGB1 ngoại bào đóng vai trò là chất trung gian hiệu lực của phản ứng viêm bằng cách truyền tín hiệu qua Thụ thể cho sản phẩm cuối cùng được glycat hóa tiên tiến (Receptor for Advanced Glycated End-products - RAGE) và thông qua thành viên thuộc họ Thụ thể giống Toll (Toll-like Receptor - TLR), cụ thể là TLR4. Hoạt tính liên kết RAGE đã

được xác định và đòi hỏi polypeptit của miền liên kết RAGE của HMGB1. Việc liên kết TLR4 đòi hỏi xystein ở vị trí 106 của trình tự HMGB1 của gà (SEQ ID NO: 2), được tìm thấy ở vùng hộp B của HMGB1.

Thích hợp là, vector vacxin này chứa polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm các axit amin 150-183 và 89-109 của polypeptit HMGB1 của gà hoặc thể tương đồng của chúng. Xem SEQ ID NO: 2. Trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, polypeptit 190 axit amin của HMGB1 được sử dụng. Thích hợp là, polynucleotit mã hóa polypeptit HMGB1 từ loài giống với đối tượng trong đó chế phẩm vacxin sẽ được sử dụng. Sự kết hợp khác loài của polypeptit HMGB1 và đối tượng (nghĩa là, polypeptit HMGB1 của người sử dụng trong vacxin gà) có thể hữu ích trong các phương pháp theo sáng chế vì HMGB1 được bảo toàn cao qua nhiều loài như được thảo luận trên đây. Polypeptit HMGB1 có thể được sử dụng để tăng cường đáp ứng miễn dịch ở đối tượng đối với kháng nguyên hoặc polypeptit kháng nguyên ngoại lai bất kỳ trình diện trong hoặc trên chế phẩm vacxin nấm men. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rõ là polypeptit HMGB1 có thể được sử dụng để tăng cường đáp ứng miễn dịch đối với nhiều hơn một polypeptit kháng nguyên trình diện trong chế phẩm vacxin nấm men. Polypeptit từ HMGB1 kích thích đáp ứng miễn dịch ít nhất một phần bằng cách hoạt hóa tế bào tua và đại thực bào và nhờ đó kích thích sản sinh các xytokin như IL-1, IL-6, IFN- γ và TNF- α . Trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, polypeptit của HMGB1 được biểu hiện trên bề mặt của chế phẩm vacxin.

Hoạt tính viêm của HMGB1 không đòi hỏi protein có độ dài đầy đủ và các mảnh chức năng đã được xác định. Hộp B đã thể hiện là đủ để điều tiết các tác động tiền viêm của HMGB1 và do đó HMGB1 hộp b1 và HMGB1 hộp b2 là các polypeptit HMGB1 hoặc mảnh chức năng của chúng trong ngữ cảnh của sáng chế. Xem, ví dụ, SEQ ID NO: 35 và 36. Ngoài ra, vị trí liên kết RAGE và hoạt tính xytokin tiền viêm đã được lập bản đồ. Xem lần lượt SEQ ID NO: 37 và 38. Do đó, các polypeptit này là các mảnh chức năng của polypeptit HMGB1 trong ngữ cảnh của sáng chế. Xem SEQ ID NO: 31-38.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có khả năng xác định polypeptit HMGB1 và mảnh của nó có khả năng kích thích hoạt tính xytokin tiền viêm, bằng cách sử

dụng các phương pháp như trong Công bố đơn quốc tế số WO2002 092004, được đưa vào bản mô tả bằng cách viện dẫn toàn bộ. Thích hợp là, polypeptit HMGB1 bao gồm miền liên kết RAGE ở các axit amin 150-183 của trình tự HMGB1 của gà (miền liên kết RAGE của HMGB1 hoặc thể tương đồng của nó) và miền hoạt động xytokin tiền viêm giữa các axit amin 89-109 của trình tự HMGB1 của gà (SEQ ID NO: 2; hoạt động xytokin tiền viêm HMGB1 hoặc thể tương đồng của nó). Cụ thể là, polypeptit HMGB1 và các mảnh chức năng hoặc thể tương đồng của chúng bao gồm polypeptit đồng nhất với, hoặc đồng nhất ít nhất 99%, đồng nhất ít nhất 98%, đồng nhất ít nhất 95%, đồng nhất ít nhất 90%, đồng nhất ít nhất 85%, hoặc đồng nhất ít nhất 80% với polypeptit HMGB1 của trình tự HMGB1 của gà hoặc HMGB1 hộp a1, HMGB1 hộp a2, HMGB1 hộp b1, HMGB1 hộp b2, miền liên kết RAGE của HMGB1, hoặc hoạt động xytokin tiền viêm HMGB1, tương ứng.

Polypeptit kích thích miễn dịch cũng có thể là phối tử CD40 hoặc chất chủ vận CD40. Polypeptit CD154 có khả năng liên kết CD40 ở đối tượng và kích thích đối tượng đáp ứng với chế phẩm vaccin và polypeptit kháng nguyên ngoại lai kết hợp của nó có thể được sử dụng làm polypeptit kích thích miễn dịch. Polypeptit CD154 có thể là CD154 có độ dài đầy đủ hoặc có thể có độ dài ít hơn 50 axit amin, thích hợp hơn nếu ít hơn 40, ít hơn 30 hoặc ít hơn 20 axit amin. Polypeptit này có thể có độ dài nằm trong khoảng từ 10 đến 15 axit amin, từ 10 đến 20 axit amin hoặc từ 10 đến 25 axit amin. Trình tự CD154 và vùng liên kết CD40 không được bảo toàn cao giữa nhiều loài khác nhau. Trình tự CD154 của gà và người được nêu trong SEQ ID NO: 106 và SEQ ID NO: 107, tương ứng.

Vùng liên kết CD40 của CD154 đã được xác định đối với nhiều loài bao gồm người, gà, vịt, chuột nhắt và gia súc và được thể hiện trong SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111, và SEQ ID NO: 112, tương ứng. Cũng được bao gồm là các polypeptit đồng nhất với, hoặc đồng nhất ít nhất 99%, đồng nhất ít nhất 98%, đồng nhất ít nhất 95%, đồng nhất ít nhất 90%, đồng nhất ít nhất 85%, hoặc đồng nhất ít nhất 80% với trình tự CD154 được nêu trong SEQ ID NO: 106-112. Mặc dù có sự biến đổi trong các trình tự này ở vùng liên kết CD40 giữa các loài, sự liên kết chéo loài của CD154 với CD40 đã được báo cáo. Ví dụ, polypeptit CD154 của người có thể tăng cường đáp ứng miễn dịch ở gà. Do đó, có

thể thực hiện sáng chế bằng cách sử dụng polypeptit CD154 đặc hiệu loài hoặc polypeptit CD154 khác loài.

Trong một ví dụ khác, phối tử CD40 có thể là kháng thể chủ vận CD40 hoặc phần của nó. Kháng thể chủ vận CD40 này được bộc lộ ít nhất trong Công bố đơn quốc tế số WO2015/187969. Kháng thể CD40 và kháng thể chủ vận CD40 cũng đã có sẵn trên thị trường cho một số loài, cụ thể là chuột nhắt và người. Kháng thể chủ vận đối với CD40 nếu nó có khả năng cảm ứng sự truyền tín hiệu trong tế bào đích biểu hiện CD40. Sự truyền tín hiệu qua CD40 dẫn đến sự biểu hiện tăng của CD40 và thụ thể TNF trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên và cảm ứng sự sản sinh các dạng oxy phản ứng và oxit nitric, và sự hoạt hóa tế bào B dẫn đến sự chuyển đổi isotyp.

Kháng thể chủ vận CD40 của gà thích hợp bao gồm kháng thể được đề xuất trong bản mô tả là SEQ ID NO: 113 (chuỗi nặng) và SEQ ID NO: 114 (chuỗi nhẹ) được gọi là 2C5 hoặc SEQ ID NO: 115 (mảnh biến đổi chuỗi đơn (scFv)) được gọi là DAG-1). Các kháng thể này có thể được tạo ra ở dạng “được làm giống như của gà” sao cho phần Fc và vùng không phải CDR có thể được thay thế bằng trình tự khung của kháng thể tương thích với vật chủ cùng loài để làm giảm tối đa đáp ứng miễn dịch với chính khung của kháng thể. Ngoài ra, các kháng thể này có thể được tạo ra bằng cách tái tổ hợp hoặc thông qua phân giải bằng enzym (nghĩa là, papain hoặc pepsin) thành các phần nhỏ hơn của các kháng thể này và chỉ bao gồm phần F(ab) của kháng thể, như mảnh F(ab)₂. Vùng CDR cho kháng thể CD40 của gà đã được xác định. Đối với kháng thể được ký hiệu là 2C5 và được nêu trong SEQ ID NO: 113 và SEQ ID NO: 114, vùng biến đổi chuỗi nặng chứa CDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 116, CDR2 chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 117, và CDR3 chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 118 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa CDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 119, CDR2 chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 120, và CDR3 chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 121. Đối với kháng thể được ký hiệu là DAG-1 và được nêu trong SEQ ID NO: 115, vùng biến đổi chuỗi nặng chứa CDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 122, CDR2 chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 123, và CDR3 chứa trình tự axit amin

được nêu trong SEQ ID NO: 124 và trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa CDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 125, CDR2 chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 126, và CDR3 chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 127. Cũng được bao gồm là các polypeptit đồng nhất với, hoặc đồng nhất ít nhất 99%, đồng nhất ít nhất 98%, đồng nhất ít nhất 95%, đồng nhất ít nhất 90%, đồng nhất ít nhất 85%, hoặc đồng nhất ít nhất 80% với ít nhất một trong số SEQ ID NO: 113-127.

Chế phẩm vaccin được đề xuất trong bản mô tả chứa nấm men. Nấm men này có thể được chọn từ bất kỳ trong số các chi nấm men sau đây: *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Schizosaccharomyces* và *Yarrowia*. Nấm men này có thể là loài được chọn từ nhóm bao gồm *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris* và *Schizosaccharomyces pombe*. Trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, *Pichia pastoris* được sử dụng. Nấm men này bao gồm polynucleotit kích thích miễn dịch mã hóa polypeptit kích thích miễn dịch và có thể chứa thêm polynucleotit kháng nguyên mã hóa polypeptit kháng nguyên. Thích hợp là, polypeptit kích thích miễn dịch và polypeptit kháng nguyên không được biểu hiện tự nhiên bởi nấm men này. Nấm men được thao tác di truyền để biểu hiện polypeptit kích thích miễn dịch và polypeptit kháng nguyên và thể hiện hoặc biểu hiện các polypeptit này trên bề mặt của nấm men.

Ít nhất một phần của polypeptit kháng nguyên và ít nhất một phần của polypeptit kích thích miễn dịch trình diện trên bề mặt của chế phẩm vaccin dựa trên *Pichia pastoris* hoặc nấm men khác. Sự trình diện trên bề mặt của chế phẩm vaccin bao gồm polypeptit mà được chứa trong protein chuyển màng, tương tác với, liên kết chéo đồng hóa trị hoặc hóa học với protein chuyển màng, hydrat cacbon hoặc protein neo lipid màng hoặc GPI màng. Polypeptit có thể được chứa trong protein chuyển màng bằng cách có các axit amin chứa polypeptit được liên kết thông qua liên kết peptit với đầu cùng N, đầu cùng C hoặc vị trí bất kỳ trong protein chuyển màng (nghĩa là, được gắn xen giữa hai axit amin của protein chuyển màng hoặc thay thế một hoặc nhiều axit amin của protein chuyển màng (nghĩa là, đột biến mất đoạn-gắn xen)). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rõ là polynucleotit kích thích miễn dịch không tự nhiên hoặc polynucleotit kháng nguyên có thể được gắn xen vào khung

nằm trong vòng ngoại bào của protein chuyển màng hoặc vách tế bào để thu được sự biểu hiện bề mặt của polypeptit kích thích miễn dịch hoặc kháng nguyên. Trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, phương pháp neo đầu cùng C α -agglutinin mà sử dụng hệ neo GPI được liên kết đồng hóa trị của nấm men được sử dụng, nhưng các phương pháp neo tương tự khác cũng sẵn có đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Theo cách khác, polypeptit có thể được liên kết đồng hóa trị hoặc hóa học với protein, lipid hoặc hydrat cacbon trong màng nhờ các phương pháp sẵn có đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, liên kết disulfua hoặc liên kết chéo biotin – avidin có thể được sử dụng để trình diện polypeptit kháng nguyên và kích thích miễn dịch trên bề mặt của nấm men trong chế phẩm vaccin. Thích hợp là, polypeptit kháng nguyên và polypeptit kích thích miễn dịch là một phần của protein dung hợp. Hai polypeptit này có thể được liên kết trực tiếp thông qua liên kết peptit hoặc có thể được tách bởi peptit cầu nối được mã hóa bởi polynucleotit hoặc đoạn protein thứ ba mà chúng được gắn xen vào. Theo một số phương án, protein dung hợp chứa nhiều hơn một bản sao của mỗi polypeptit kích thích miễn dịch và/hoặc polypeptit kháng nguyên được bao gồm trong nấm men. Theo một số phương án, nhiều bản sao của polypeptit kích thích miễn dịch bao gồm nhiều hơn một bản sao của cùng polypeptit kích thích miễn dịch hoặc các polypeptit khác nhau. Điều này cũng đúng đối với polypeptit kháng nguyên ở chỗ nhiều bản sao của cùng polypeptit kháng nguyên hoặc các polypeptit kháng nguyên tương tự có thể được bao gồm trong nấm men, ví dụ, nhiều bản sao của kháng nguyên M2e cúm chim có thể có một hoặc chỉ vài khác biệt trình tự axit amin. Theo cách khác, nấm men có thể được thao tác di truyền để biểu hiện nhiều polypeptit kháng nguyên khác nhau và riêng biệt để cho phép dùng chế phẩm vaccin một lần duy nhất gọi là hoặc tăng cường đáp ứng miễn dịch với các kháng nguyên khác nhau từ các loài khác nhau. Ví dụ, chế phẩm vaccin có thể được bào chế để tăng cường đáp ứng miễn dịch đối với bệnh nhiễm trùng theo sau với *Campylobacter* và *Eimeria* bằng cách bao gồm polypeptit kháng nguyên của SEQ ID NO: 55 và SEQ ID NO: 61 có thể được bao gồm trong cùng chế phẩm vaccin.

Polynucleotit mã hóa polypeptit kháng nguyên hoặc polypeptit kích thích miễn dịch có thể được gắn xen vào nấm men của chế phẩm vaccin và được biểu hiện để tạo ra polypeptit kháng nguyên và polypeptit kích thích miễn dịch. Polynucleotit có thể được gắn xen vào nhiễm sắc thể của chế phẩm vaccin hoặc được mã hóa trên plasmit hoặc ADN ngoài nhiễm sắc thể khác như trên YAC (nhiễm sắc thể nhân tạo của nấm men). Thích hợp là, polynucleotit mã hóa polypeptit kháng nguyên và/hoặc polypeptit kích thích miễn dịch có thể được biểu hiện độc lập hoặc được gắn xen vào polynucleotit của vaccin nấm men mà được biểu hiện. Polynucleotit của vaccin nấm men có thể mã hóa polypeptit được biểu hiện trên bề mặt của vaccin nấm men như protein chuyển màng. Polynucleotit mã hóa polypeptit kháng nguyên và/hoặc polypeptit kích thích miễn dịch có thể được gắn xen vào trình tự polynucleotit của vaccin nấm men để cho phép biểu hiện polypeptit kháng nguyên và/hoặc polypeptit kích thích miễn dịch trên bề mặt của nấm men.

Theo cách khác, polynucleotit mã hóa polypeptit kháng nguyên và/hoặc polypeptit kích thích miễn dịch có thể được gắn xen vào polypeptit được tiết mà được thể hiện hoặc được trình diện trên bề mặt của vaccin nấm men thông qua sự kết hợp với protein, lipid hoặc hydrat cacbon trên bề mặt của vaccin nấm men. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ biết rõ là polynucleotit mã hóa polypeptit kháng nguyên và/hoặc polypeptit kích thích miễn dịch có thể được gắn xen vào nhiều polynucleotit nấm men để tạo ra sự biểu hiện và trình diện của polypeptit kháng nguyên và/hoặc polypeptit kích thích miễn dịch với tế bào miễn dịch của đối tượng được điều trị bằng nấm men.

Như được lưu ý trong phần thảo luận ở trên, vaccin được mô tả trong bản mô tả có thể cũng bao gồm polynucleotit kháng nguyên mã hóa polypeptit kháng nguyên. Polypeptit kháng nguyên là polypeptit có khả năng được nhận biết đặc hiệu bởi hệ miễn dịch đáp ứng. Polypeptit kháng nguyên có thể được biểu hiện tự nhiên bởi nấm men được chọn làm vector để tiêm chủng chống lại nấm men hoạt động làm vector vaccin. Theo cách khác, vector vaccin nấm men có thể mang polynucleotit khác loài mã hóa polypeptit khác loài không được liên kết theo cách tự nhiên với vector vaccin dưới dạng polypeptit kháng nguyên. Polypeptit kháng nguyên bao gồm polypeptit bất kỳ có tính gây miễn dịch. Polypeptit kháng nguyên này bao gồm,

nhưng không giới hạn ở, kháng nguyên liên quan đến mầm bệnh, liên quan đến dị ứng nguyên, liên quan đến khối u hoặc liên quan đến bệnh. Mầm bệnh bao gồm mầm bệnh virus, ký sinh trùng, nấm và vi khuẩn cũng như mầm bệnh protein như prion. Polypeptit kháng nguyên có thể là protein có độ dài đầy đủ hoặc phần của nó.

Đã chứng minh được là sự nhận biết của hệ miễn dịch đối với nhiều protein là dựa trên số lượng axit amin tương đối nhỏ, thường được gọi là epitop. Epitop có thể chỉ gồm 8-10 axit amin. Thuật ngữ polypeptit kháng nguyên có thể bao gồm epitop mà đáp ứng miễn dịch kháng thể hoặc tế bào T được tạo ra đối với nó ở đối tượng. Thuật ngữ epitop và kháng nguyên hoặc polypeptit kháng nguyên có thể được sử dụng thay thế cho nhau. Do đó, polypeptit kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả có thể là protein có độ dài đầy đủ, epitop dài 8 axit amin hoặc phần bất kỳ nằm giữa các đầu cùng. Thực tế là, polypeptit kháng nguyên có thể bao gồm nhiều hơn một epitop từ một mầm bệnh hoặc protein. Polypeptit kháng nguyên có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở đoạn lớn của vi khuẩn hoặc polypeptit nhỏ của vi khuẩn như các vi khuẩn liên quan đến bệnh nhiễm khuẩn viêm vú, *Salmonella*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Escherichia*, *Shigella*, *Helicobacter*, *Vibrio*, *Plesiomonas*, *Edwardia*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Aeromonas*; protein virus bao gồm, nhưng không giới hạn ở virus cúm, virus Chân và Miệng, virus gây dịch bệnh tiêu chảy ở lợn (PEDv), và virus gây hội chứng sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV); bệnh nhiễm ký sinh trùng bao gồm, nhưng không giới hạn ở *Eimeria* spp, *Toxoplasma*, bệnh sốt rét, hoặc các ký sinh trùng khác; và kháng nguyên khối u. Ví dụ, kháng nguyên hoặc epitop được xác định trong Patent Mỹ số 8,604,198, Công bố đơn quốc tế số WO2009/059018, WO2009/059298, WO2011/091255, WO2011/156619, WO2014070709, WO 2014/127185 hoặc WO 2014/152508 có thể được sử dụng. Polypeptit kháng nguyên có thể bao gồm bất kỳ một hoặc nhiều polypeptit trong số các polypeptit được nêu trong SEQ ID NO: 39-93 và bao gồm polypeptit đồng nhất với, hoặc đồng nhất ít nhất 99%, đồng nhất ít nhất 98%, đồng nhất ít nhất 95%, đồng nhất ít nhất 90%, đồng nhất ít nhất 85%, hoặc đồng nhất ít nhất 80% với các polypeptit được nêu trong SEQ ID NO: 39-93. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu là một số peptit được bao gồm trong SEQ ID NO: 39-93 dài hơn so với có thể được yêu cầu để hoạt động như là

epitop kháng nguyên, do đó mảnh của polypeptit kháng nguyên này cũng được bao gồm trong bản mô tả. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu là polypeptit kháng nguyên cũng có thể bao gồm các axit amin bổ sung hoặc có thể được liên kết với nhau hoặc với polypeptit kích thích miễn dịch thông qua axit amin cầu nối để tạo thành dạng protein dung hợp. Axit amin cầu nối có thể là axit amin bất kỳ nhưng serin và glyxin được sử dụng phổ biến nhất. Cầu nối này có thể ngắn bằng một hoặc hai axit amin, nhưng có thể dài 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 15 hoặc nhiều axit amin.

Nhiều bản sao của cùng một epitop hoặc polypeptit kháng nguyên hoặc nhiều epitop từ các protein khác nhau có thể được bao gồm trong vectơ vaccin. Hình dung rằng một số epitop hoặc kháng nguyên từ các mầm bệnh hoặc bệnh giống nhau và khác nhau có thể được dùng kết hợp với vectơ vaccin nấm men để tạo ra đáp ứng miễn dịch tăng cường chống lại nhiều kháng nguyên. Vectơ vaccin nấm men có thể mã hóa kháng nguyên từ nhiều vi sinh vật gây bệnh, virus gây bệnh hoặc kháng nguyên liên quan đến khối u. Việc dùng vectơ vaccin có khả năng biểu hiện nhiều kháng nguyên có ưu điểm là cảm ứng tính miễn dịch chống lại hai hoặc nhiều bệnh đồng thời.

Polynucleotit mã hóa polypeptit kích thích miễn dịch có khả năng tăng cường đáp ứng miễn dịch với polypeptit kháng nguyên cũng có thể mã hóa polypeptit kháng nguyên. Polynucleotit mã hóa polypeptit kích thích miễn dịch có thể được liên kết với polynucleotit mã hóa polypeptit kháng nguyên, sao cho trong vectơ vaccin, polypeptit kích thích miễn dịch và polypeptit kháng nguyên được mã hóa bằng cùng polynucleotit. Ít nhất một phần của polypeptit kháng nguyên và polypeptit kích thích miễn dịch trình diện trên bề mặt của vectơ vaccin nấm men. Chế phẩm vaccin có thể chứa polynucleotit kháng nguyên mã hóa polypeptit kháng nguyên và polynucleotit kích thích miễn dịch mã hóa polypeptit kích thích miễn dịch. Polypeptit kích thích miễn dịch và polypeptit kháng nguyên có thể được liên kết, như trong protein dung hợp. Cả polypeptit kích thích miễn dịch và polypeptit kháng nguyên đều có thể được gắn xen vào trong vòng ngoài của protein chuyển màng hoặc có thể được gắn vào bề mặt thông qua cơ chế neo GPI.

Polynucleotit khác loại bao gồm, nhưng không giới hạn ở, polynucleotit mã hóa kháng nguyên được chọn từ vi sinh vật hoặc virus gây bệnh khác với vector vaccin nấm men. Polynucleotit khác loại hoặc polynucleotit kháng nguyên như vậy có thể có nguồn gốc từ virus gây bệnh như virus cúm (ví dụ, M2e, hemagglutinin, hoặc neuraminidaza), virus herpes (ví dụ, gen mã hóa protein cấu trúc của virus herpes), virus retro (ví dụ, protein vỏ gp160), virus adeno, virus paramyxovirus, virus corona và virus tương tự. Polynucleotit khác loại cũng có thể thu được từ vi khuẩn gây bệnh, ví dụ, gen mã hóa protein vi khuẩn như độc tố, và protein màng ngoài. Ngoài ra, polynucleotit khác loại từ ký sinh trùng, như *Eimeria* là các ứng viên thu hút để sử dụng trong chế phẩm vaccin có vector nấm men.

Polypeptit kích thích miễn dịch khác liên quan đến việc khởi phát hệ miễn dịch cũng có thể được chứa trong chế phẩm vaccin được mô tả trong bản mô tả này. Polynucleotit có thể mã hóa các phân tử hệ miễn dịch đã biết về tác động kích thích của chúng, như interleukin, yếu tố hoại tử khối u hoặc interferon, hoặc polypeptit khác liên quan đến việc điều hòa miễn dịch như phối tử CD40 hoặc chất chủ vận CD40. Vì vậy, vector vaccin nấm men có thể chứa nhiều hơn một polypeptit kích thích miễn dịch hoặc nhiều hơn một polypeptit kháng nguyên. Vector này chứa nhiều hơn một bản sao của cùng polypeptit để gia tăng mức độ biểu hiện của polypeptit. Theo cách khác, nhiều polypeptit kích thích miễn dịch khác nhau hoặc nucleotit mã hóa cùng polypeptit kháng nguyên hoặc các polypeptit khác nhau hoặc nucleotit mã hóa chúng có thể được bao gồm trong nấm men tái tổ hợp đơn lẻ. Nhiều polypeptit kháng nguyên này có thể là nhiều bản sao của kháng nguyên tương tự như hai epitop khác nhau của kháng nguyên M2e (SEQ ID NO: 41 và 42). Polypeptit kháng nguyên có thể là kháng nguyên được định hướng đến các kháng nguyên hoàn toàn khác nhau nhưng liên quan đến cùng một tác nhân lây nhiễm như M2e và HA5. Xem SEQ ID NO: 41-44. Polypeptit kháng nguyên cũng có thể là kháng nguyên được định hướng đến các loài khác nhau để tiêm chủng nhiều hơn một mầm bệnh với một vaccin đơn vị đơn lẻ. Như SEQ ID NO: 41 đối với M2e virus cúm kết hợp với SEQ ID NO: 54 được định hướng đến PAL từ *E. coli* hoặc SEQ ID NO: 61 được định hướng đến MPP từ *Eimeria*. Trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, chế phẩm vaccin chứa nấm men biểu hiện MPP-TRAP-HMGB-1 (SEQ ID NO: 61 được liên kết với SEQ ID NO: 65 được

liên kết với SEQ ID NO: 2) được tạo ra và thể hiện là làm giảm cả tỷ suất bệnh và tỷ lệ tử vong liên quan đến thách thức với *Eimeria maxima*.

Sáng chế còn đề xuất chế phẩm chứa chế phẩm vacxin và chất mang được dụng. Chất mang được dụng là chất mang bất kỳ thích hợp để dùng *in vivo*. Thích hợp là, chất mang được dụng chấp nhận được để phân phối qua đường miệng, mũi hoặc niêm mạc. Chất mang được dụng có thể bao gồm nước, dung dịch đệm, dung dịch glucoza hoặc dịch nuôi cấy vi khuẩn. Các thành phần bổ sung của chế phẩm này có thể theo cách thích hợp bao gồm tá dược như chất làm ổn định, chất bảo quản, chất pha loãng, chất nhũ hóa và chất bôi trơn. Ví dụ về chất mang hoặc chất pha loãng được dụng bao gồm chất làm ổn định như hydrat cacbon (ví dụ, sorbitol, manitol, tinh bột, sucroza, glucoza, dextran), protein như albumin hoặc casein, chất chứa protein như huyết thanh bò hoặc sữa tách kem và chất đệm (ví dụ, chất đệm phosphat). Đặc biệt khi chất làm ổn định được bổ sung vào chế phẩm, chế phẩm này thích hợp để sấy đông lạnh hoặc sấy phun.

Chế phẩm vacxin có thể không có khả năng sao chép ở đối tượng. Nấm men có thể không có khả năng sinh trưởng bên ngoài môi trường phòng thí nghiệm, như dạng được giảm độc lực của nấm men này. Thích hợp là, nấm men bị bất hoạt hoặc bị tiêu diệt trước khi bổ sung vào chế phẩm vacxin. Chế phẩm vacxin cũng có thể chứa chất bổ trợ. Chất bổ trợ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, chất bổ trợ chitosan được mannosyl hóa được sử dụng. Xem WO 2014/070709.

Chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để tăng cường đáp ứng miễn dịch như đáp ứng kháng thể với polypeptit kháng nguyên hoặc với bản thân vector vacxin. Chế phẩm và vector vacxin được mô tả trong bản mô tả này có thể làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh theo sau bằng cách làm giảm độ dài của bệnh, làm giảm tỷ suất bệnh hoặc tỷ lệ tử vong liên quan đến bệnh hoặc làm giảm khả năng tiếp xúc với bệnh. Tỷ suất bệnh hoặc tỷ lệ tử vong liên quan đến bệnh sau khi dùng vector vacxin được mô tả trong bản mô tả này có thể được làm giảm đi 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc thậm chí là 100% khi so sánh với đối tượng tương tự không được cung cấp vector vacxin.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp làm tăng cường đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bằng cách dùng chế phẩm vacxin. Chế phẩm vacxin có thể chứa polypeptit kích thích miễn dịch có độ dài đầy đủ hoặc một phần của nó có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch với chế phẩm vacxin và polypeptit kháng nguyên liên quan của nó. Chế phẩm vacxin chứa polypeptit kích thích miễn dịch được dùng cho đối tượng với lượng hữu hiệu để tăng cường đáp ứng miễn dịch của đối tượng với vacxin và cụ thể là với polypeptit kháng nguyên. Việc tăng cường đáp ứng miễn dịch bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cảm ứng tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa bệnh mà được điều tiết bởi hệ miễn dịch của đối tượng. Tác dụng này có thể được đo bằng cách thử nghiệm đáp ứng với polypeptit kháng nguyên hoặc với tác nhân lây nhiễm hoặc gây ung thư mà biểu hiện polypeptit kháng nguyên. Cụ thể, việc tăng cường đáp ứng miễn dịch có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, việc tăng cường sản sinh ra kháng thể, tăng cường chuyển đổi lớp chuỗi nặng kháng thể, làm trưởng thành tế bào trình diện kháng nguyên, kích thích tế bào T hỗ trợ, kích thích tế bào T tiêu tế bào hoặc cảm ứng sự ghi nhớ của tế bào T và/hoặc B.

Chế phẩm có thể được dùng bằng các phương thức khác nhau bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dưới da, qua miệng, trong mũi, và qua niêm mạc. Ví dụ, chế phẩm vacxin hoặc vector vacxin có thể được phân phối bằng khí dung, bằng cách phun, bằng cách bổ sung vào thức ăn hoặc nước, bằng ống qua miệng, hoặc thông qua thuốc nhỏ mắt. Theo một số phương án, chế phẩm được dùng bằng cách tiêm như tiêm trong da, ngoài đường tiêu hóa, dưới da, trong bụng, trong tĩnh mạch, trong sọ, hoặc trong cơ. Đối với gà hoặc gia cầm khác, chế phẩm có thể được dùng *in ovo*. Tổ hợp các phương thức dùng cũng có thể được sử dụng. Trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, việc tiêm chủng dưới da được theo sau bởi liều mạnh của chế phẩm vacxin qua miệng. Các tổ hợp khác cũng có thể được sử dụng, như trong mũi hoặc phân phối thông qua khí dung hoặc phun sau đó là ống qua miệng hoặc bao gồm trong thức ăn hoặc nước uống.

Đối tượng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, động vật có xương sống, thích hợp là động vật có vú, thích hợp là người, bò, mèo, chó, lợn, thủy hải sản, cá trê thích hợp, cá hanh, cá vàng, hoặc chim, gia cầm thích hợp như gà hoặc gà tây. Mô hình lây nhiễm ở động vật

khác cũng có thể được sử dụng. Việc tăng cường đáp ứng miễn dịch bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cảm ứng tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa bệnh được điều tiết bởi hệ miễn dịch của đối tượng. Cụ thể là, việc tăng cường đáp ứng miễn dịch có thể bao gồm tăng cường sản sinh ra kháng thể, như được thể hiện trên Fig.4 và Fig.5. Theo một số phương án, đáp ứng IgA được tạo ra.

Liều lượng hữu dụng cần được dùng sẽ thay đổi tùy thuộc vào độ tuổi, khối lượng và loài đối tượng, phương thức và đường dùng và loại mầm bệnh hoặc bệnh chống lại đáp ứng miễn dịch được tìm kiếm. Chế phẩm có thể được dùng ở liều vector vaccin nấm men bất kỳ đủ để gọi ra đáp ứng miễn dịch. Hình dung được rằng liều nằm trong khoảng từ 10^5 đến 10^{10} bản sao vector nấm men là đủ. Cụ thể, liều lượng 10^8 bản sao vector vaccin *Pichia pastoris*-HMGB1 được xác định bằng cách đếm số lượng nấm men trong mm khối bằng cách sử dụng hồng cầu kế trong điều kiện phóng đại 400X là tối ưu để cảm ứng đáp ứng miễn dịch đặc hiệu vector vaccin cuối cùng báo hiệu sự kích thích đáp ứng miễn dịch với tải trọng kháng nguyên liên kết với HMGB1 trên bề mặt tế bào nấm men.

Chế phẩm có thể được dùng chỉ một lần hoặc có thể được dùng hai hoặc nhiều lần để gia tăng đáp ứng miễn dịch. Nếu chế phẩm được dùng nhiều hơn một lần, chế phẩm này có thể được dùng thông qua các đường dùng khác nhau mỗi thời điểm vaccin được dùng như được mô tả trên đây. Ví dụ, chế phẩm có thể được dùng hai hoặc nhiều lần cách nhau một tuần, hai tuần, hoặc ba tuần, một tháng, hai tháng, ba tháng, sáu tháng hoặc lâu hơn. Nấm men có thể sống trước khi dùng, nhưng theo hầu hết các phương án, nấm men sẽ bị tiêu diệt hoặc bị bất hoạt trước khi dùng. Theo một số phương án, nấm men có thể có khả năng sao chép ở đối tượng, trong khi theo các phương án khác, nấm men có thể không có khả năng sao chép ở đối tượng. Như được thể hiện trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, vector vaccin nấm men có thể bị bất hoạt trước khi dùng bằng cách sử dụng formalin, glutaraldehyt, etanol, axit hóa, nhiệt hoặc kháng sinh. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng các phương pháp khác để bất hoạt vector vaccin nấm men cũng có thể được sử dụng.

Sáng chế không giới hạn ở các chi tiết cụ thể về cấu tạo, sự sắp xếp các thành phần, hoặc các bước trong phương pháp nêu trong bản mô tả này. Chế phẩm và phương pháp được

bộc lộ trong bản mô tả này có thể được tạo ra, thực hiện, sử dụng, tiến hành và/hoặc hình thành theo các cách khác nhau mà sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật dựa theo phần mô tả sau đây. Cụm từ và thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích mô tả và không nên được coi là làm giới hạn phạm vi của phần yêu cầu bảo hộ. Các chỉ báo thông thường, như thứ nhất, thứ hai, và thứ ba, như được sử dụng trong phần mô tả và phần yêu cầu bảo hộ là dùng để chỉ các cấu trúc khác nhau hoặc các bước khác nhau của phương pháp, không có nghĩa được hiểu là chỉ cấu trúc hoặc bước cụ thể bất kỳ, hoặc thứ tự hoặc kết cấu cụ thể bất kỳ đối với các cấu trúc hoặc bước này. Tất cả các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này có thể được thực hiện theo thứ tự thích hợp bất kỳ trừ khi được nêu khác đi trong bản mô tả hoặc rõ ràng được nêu trái ngược bởi ngữ cảnh. Việc sử dụng bất kỳ và tất cả các ví dụ, hoặc ngôn ngữ ví dụ (ví dụ, “như”) được nêu trong bản mô tả này, chỉ nhằm tạo điều kiện bộc lộ và không hàm ý giới hạn bất kỳ đến phạm vi của sáng chế trừ khi được nêu khác đi. Không có ngôn ngữ nào trong bản mô tả, và không có cấu trúc nào được thể hiện trong các hình vẽ, được hiểu là chỉ ra rằng yếu tố không được yêu cầu bảo hộ bất kỳ là cần thiết cho thực tiễn của đối tượng được bộc lộ. Việc sử dụng các thuật ngữ “bao gồm”, “chứa”, hoặc “có”, và các biến thể của chúng trong bản mô tả này, có nghĩa là bao gồm các yếu tố được liệt kê sau đây và các dạng tương đương của chúng, cũng như các yếu tố bổ sung. Các phương án được đề cập dưới dạng “bao gồm”, “chứa”, hoặc “có” các yếu tố nhất định cũng được dự tính là “về bản chất gồm có” và “gồm có” các yếu tố này.

Việc trích dẫn khoảng giá trị trong bản mô tả này chỉ được dự định là đóng vai trò làm phương pháp tốc ký để chỉ riêng rẽ đến từng giá trị riêng rẽ nằm trong khoảng này, trừ khi được nêu khác trong bản mô tả, và mỗi giá trị riêng rẽ được kết hợp vào bản mô tả như thể nó được trích dẫn riêng rẽ trong bản mô tả. Ví dụ, nếu khoảng nồng độ được nêu dưới dạng từ 1% đến 50%, được dự định rằng các giá trị như từ 2% đến 40%, từ 10% đến 30%, hoặc từ 1% đến 3%, v.v., được liệt kê một cách rõ ràng trong bản mô tả này. Đây chỉ là các ví dụ về giá trị được dự định cụ thể, và tất cả các tổ hợp có thể có của các giá trị số nằm giữa và bao gồm giá trị nhỏ nhất và giá trị lớn nhất được liệt kê được coi là được nêu rõ ràng trong bản mô tả này. Việc sử dụng từ “khoảng” để mô tả lượng được trích dẫn cụ thể hoặc khoảng các lượng

có nghĩa là chỉ ra rằng các giá trị rất gần với lượng được trích dẫn được bao gồm trong lượng này, như giá trị mà có thể hoặc về cơ bản được giải thích do dung sai trong sản xuất, sai số do thiết bị và con người trong phép đo, và yếu tố tương tự. Tất cả các phần trăm liên quan đến lượng là theo khối lượng trừ khi được chỉ ra khác đi.

Không có thừa nhận nào được đưa ra rằng tài liệu tham khảo bất kỳ, bao gồm tài liệu không phải patent hoặc tài liệu patent bất kỳ được trích dẫn trong bản mô tả này, thiết lập tài liệu kỹ thuật của sáng chế. Cụ thể, sẽ hiểu rằng, trừ khi có quy định khác, việc tham khảo tài liệu bất kỳ trong bản mô tả này không thiết lập sự thừa nhận rằng tài liệu bất kỳ trong số các tài liệu này tạo ra một phần kiến thức tổng quát chung trong lĩnh vực này ở Hoa Kỳ hoặc ở nước bất kỳ khác. Bất kỳ thảo luận về các tài liệu tham khảo này chỉ ra rằng các tác giả khẳng định, và chủ đơn có quyền thách thức tính chính xác và sự thích hợp của tài liệu bất kỳ trong số các tài liệu được trích dẫn trong bản mô tả này. Tất cả các tài liệu tham khảo được trích dẫn trong bản mô tả được kết hợp đầy đủ bằng cách viện dẫn, trừ khi rõ ràng được nêu khác đi. Bản mô tả sẽ kiểm soát trong trường hợp có bất kỳ sự khác biệt nào giữa định nghĩa bất kỳ và/hoặc phần mô tả được tìm thấy trong các tài liệu được trích dẫn.

Các ví dụ sau chỉ có nghĩa là minh họa và không có nghĩa là làm giới hạn phạm vi của sáng chế hoặc phần yêu cầu bảo hộ đi kèm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các tác giả sáng chế đã phát triển vectơ vacxin *Pichia pastoris* biểu hiện nhóm di động cao hộp 1 (HMGB1) có độ dài đầy đủ để gia tăng một cách đáng kể đáp ứng miễn dịch với tải trọng kháng nguyên. Trước đó, các tác giả sáng chế gắn xen CD154 đã cắt cụt, hoặc phối tử CD40, polypeptit và/hoặc HMGB1 có độ dài đầy đủ vào *Salmonella* Enteritidis (SE) đã giảm độc lực kép và so sánh sự hấp thu thực bào SE bởi các tế bào đại thực bào của chuột Raw 264 (Fig.1). Cường độ huỳnh quang tương đối trong Raw 264 được đo bằng cách sử dụng phân tích phân loại tế bào được hoạt hóa huỳnh quang (FACS). Cường độ huỳnh quang được đo do tín hiệu huỳnh quang trên các hạt *S. aureus* pHrodo gia tăng ở độ pH axit cao hơn. Thể thực bào sinh tan được tạo ra bên trong đại thực bào mỗi khi vi khuẩn được hấp thụ vào đại thực bào nhờ quá trình thực bào. Đại thực bào phá hủy vi khuẩn bằng cách axit hóa độ pH bên

trong thể thực bào sinh tan. Do đó, đại thực bào mà chủ động phá hủy vi khuẩn sẽ có cường độ huỳnh quang lớn hơn. Dữ liệu trên Fig.1 cho thấy rằng đại thực bào của chuột ưu tiên thực bào vector vacxin SE chứa HMGB1 so với vector vacxin SE đã giảm độc lực riêng lẻ ($P=0,011$) và CD154 không làm thay đổi một cách đáng kể sự hấp thu thực bào bởi đại thực bào của chuột ($P=0,057$).

Các tác giả sáng chế đã thao tác di truyền *Pichia pastoris* cho sự biểu hiện HMGB1 trên bề mặt tế bào bằng cách sử dụng hệ thống hợp nhất bởi plasmid để gắn xen protein HMGB1 ở cấp độ nhiễm sắc thể vào *Pichia pastoris* gia tăng đáp ứng miễn dịch đối với tải trọng vacxin. *Pichia pastoris* tạo ra mức độ biểu hiện protein cao hơn gấp từ 10 đến 100 lần so với *Saccharomyces cerevisiae*. HMGB1 gửi đi tín hiệu nguy hiểm đến hệ miễn dịch khởi phát đáp ứng RAGE. Thử nghiệm thực bào được mô tả trên đây cho thấy rằng HMGB1 là phân tử kích thích miễn dịch hiệu lực mà có thể gia tăng sự hấp thu của hệ thống mang, ví dụ, *Salmonella* Enteritidis, vào đại thực bào của chuột. Sự biểu hiện HMGB1 trên bề mặt tế bào của nấm men nên làm tăng cường sự hấp thu của vacxin có vector nấm men vào đại thực bào bởi quá trình thực bào như được quan sát trong cấu trúc *Salmonella* Enteritidis. Các tác giả sáng chế có được bộ kit biểu hiện EasySelect *Pichia* từ Invitrogen® bao gồm vector biểu hiện pPICZ cho sự biểu hiện trong *Pichia pastoris*. Bộ kit biểu hiện bề mặt tế bào đối với *Pichia pastoris* hiện chưa có sẵn, nhưng một số nhà nghiên cứu đã sử dụng protein neo GPI để bắt đầu biểu hiện bề mặt tế bào trong hệ thống nấm men (Wasilenko et al., 2009). Protein neo GPI được sử dụng là phần đầu tận cùng C của α -agglutinin từ *Saccharomyces cerevisiae*. HMGB1 được nối với phần đầu tận cùng C của *Saccharomyces cerevisiae* α -agglutinin bằng vùng đệm serin được nối bên vào plasmid biểu hiện nội bào pICZ (Fig.2 và SEQ ID NO: 1). pPICZ là plasmid chịu cảm ứng metanol với mức độ biểu hiện protein nhanh và cao. Sự biểu hiện bề mặt tế bào của HMGB1 được xác nhận trên Fig.3, thể hiện miễn dịch huỳnh quang khi có mặt HMGB-1 chỉ trên tế bào nấm men được biến nạp (Fig.3E và Fig.3F).

Sau khi xác nhận sự biểu hiện protein HMGB1 trên bề mặt tế bào của *Pichia pastoris*, các tác giả sáng chế chọn ba dòng vô tính *Pichia pastoris* dương tính với HMGB1 để thử nghiệm ở gà lấy thịt ($n=15$ con gà/nhóm). Dòng *Pichia pastoris* dương tính với HMGB1 #3,

4, và 6 được bất hoạt bằng cách sử dụng 0,3% glutaraldehyt trong nước vô trùng và được trộn với tỷ lệ 1:2 trong chất bổ trợ chitosan được mannosyl hóa. Xem WO 2014/070709 được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ. Các tác giả sáng chế dùng ba liều, 10^7 - 10^9 , của mỗi cấu trúc *Pichia pastoris* dương tính với HMGB1 bằng cách tiêm dưới da, 0,25mL vaccin/con gà (Bảng 1). Gà lấy thịt được tiêm chủng vào ngày nở và vào ngày 14. Huyết thanh được thu gom để đo độ chuẩn của kháng thể IgG vào ngày 21. ELISA trực tiếp đo IgG đặc hiệu đối với *Pichia pastoris* được tối ưu hóa trong phòng thí nghiệm của họ. Tỷ lệ huyết thanh mẫu/đối chứng âm được báo cáo để giải thích cho độ biến thiên giữa các đĩa trong thử nghiệm ELISA. Độ chuẩn của kháng thể đặc hiệu đối với *Pichia pastoris* được xác định từ mỗi con gà lấy thịt này. IgG của gà được tiêm chủng *Pichia pastoris*-HMGB1 được so sánh với IgG của gà được tiêm chủng *Pichia pastoris* không cải biến (X33). Kết quả được thể hiện trên Fig.4.

Bảng 1: Chiến lược dùng liều tiêm chủng *Pichia pastoris* ở gà lấy thịt

	Nhóm	Liều
1	Đối chứng - Không <i>Pichia pastoris</i>	-
2	<i>Pichia pastoris</i> w/o HMGB1 (X33)	10^7
3	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 3	10^7
4	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 4	10^7
5	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 6	10^7
6	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 (X33)	10^8
7	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 3	10^8
8	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 4	10^8
9	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 6	10^8
10	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 (X33)	10^9
11	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 3	10^9
12	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 4	10^9
13	<i>Pichia pastoris</i> -HMGB1 6	10^9

Sau đó, các tác giả sáng chế tiêm chủng gà lấy thịt ba tuần tuổi bằng cấu trúc *Pichia pastoris*-HMGB1 # 3, 4, hoặc 6 để xác định xem có quan sát được đáp ứng kháng thể IgG

tương tự không. Các tác giả sáng chế tiêm chủng gà lấy thịt ba tuần tuổi với 0,25mL mỗi vacxin *Pichia pastoris* (Bảng 1: n=10 con gà/nhóm). Cấu trúc dương tính với *Pichia pastoris*-HMGB1 #3, 4, hoặc 6 được bất hoạt bằng cách sử dụng 0,3% glutaraldehyt trong nước vô trùng và được trộn ở tỷ lệ 1:2 trong chất bổ trợ chitosan được mannosyl hóa. Gà lấy thịt được tiêm chủng vào ngày 21 và vào ngày 35. Huyết thanh được thu gom để đo độ chuẩn của kháng thể IgG vào ngày 21. ELISA trực tiếp đo IgG đặc hiệu đối với *Pichia pastoris* được tối ưu hóa trong phòng thí nghiệm của họ. Độ hấp thụ ở 450nm được chuẩn hóa đối với gà không được tiêm chủng (nhóm 1) được báo cáo để giải thích cho độ biến thiên giữa các đĩa trong thử nghiệm ELISA. Độ chuẩn của kháng thể đặc hiệu đối với *Pichia pastoris* được xác định từ mỗi con gà lấy thịt. IgG của gà được tiêm chủng *Pichia pastoris*-HMGB1 được so sánh với IgG của gà được tiêm chủng *Pichia pastoris* không cải biến (X33). Kết quả được thể hiện trên Fig.5.

HMGB1 nâng đáng kể độ chuẩn của kháng thể IgG đặc hiệu đối với *Pichia pastoris* ở gà lấy thịt được tiêm SQ với HMGB1+*Pichia pastoris* đã bất hoạt so với gà được tiêm *Pichia pastoris* không cải biến (Fig.4 và Fig.5). HMGB1 gia tăng đáp ứng miễn dịch cho vectơ vacxin *Pichia pastoris*, đề xuất rằng tải trọng kháng nguyên bất kỳ được biểu hiện bởi cùng *Pichia pastoris* sẽ gợi ra đáp ứng miễn dịch cao hơn nếu tải trọng kháng nguyên này được biểu hiện trong *Pichia pastoris* mà không có HMGB1.

Vật liệu và phương pháp

Pichia pastoris X-33 (kiểu đại) thu được từ Invitrogen (Carlsbad, CA, Hoa Kỳ) là một phần của bộ kit biểu hiện Easy Select™ *Pichia*. Trình tự mã hóa HMGB1 được tối ưu hóa cho sự biểu hiện trong *Pichia pastoris* được tổng hợp bằng Genscript (Piscataway, NJ, Hoa Kỳ), và được cung cấp cho phòng thí nghiệm của các tác giả sáng chế trong vectơ tách dòng pUC57. *E. coli* có khả năng bị biến nạp điện TOP10 (Invitrogen) được sử dụng cho tất cả quy trình nhân giống plasmit cần thiết trong khi tạo cấu trúc vacxin. Sau khi biến nạp ADN plasmit, *E. coli* được nhân giống ở nhiệt độ 37°C bằng cách sử dụng môi trường LB được bổ sung Ampixilin 100µg/mL, hoặc môi trường LB muối thấp chứa Zeocin 50µg/mL. Sự nhân giống thông thường của *Pichia pastoris* được thực hiện ở nhiệt độ 30°C bằng cách sử dụng

môi trường YPD được bổ sung 50 μ g Zeocin khi thích hợp. Môi trường tối thiểu đối với nấm men chứa histidin (MMH) và môi trường tối thiểu đối với nấm men chứa dextroza (MDH) được sử dụng cho bước sàng lọc sau đó các chủng vacxin tái tổ hợp. Môi trường tối thiểu chứa glyxerol (MGY) và môi trường tối thiểu chứa metanol (MM) được sử dụng để cảm ứng sự biểu hiện của HMGB1 từ *Pichia pastoris* trong quá trình nuôi cấy.

Tạo cấu trúc vector vacxin.

Để tạo ra vector biểu hiện *Pichia pastoris*-HMGB1, pPICZ được phân giải bằng *Kpn*I và *Pme*I để chuẩn bị khung chính vector cho quá trình tách dòng. pUC57/HMGB1-alpha agglutinin được phân giải bằng *Kpn*I và *Eco*RV và phần gắn xen HMGB1-alpha agglutinin 1,6 kb sau đó được tinh chế gel. Sau khi nối và biến nạp vào TOP10 *E. coli*, PCR khuẩn lạc được thực hiện để nhận biết các khuẩn lạc mang plasmit được nối pPICZ/HMGB1-alpha agglutinin chính xác. Các đoạn mồi cho PCR này - AOXSeqF (5' GACTGGTTCCAATTGACAAGC 3'; SEQ ID NO: 128); AOXSeqR (5' GCAAATGGCATTCTGACATCC 3'; SEQ ID NO: 129) được cung cấp trong bộ kit Easy Select™. Amplicon được tạo ra bằng cách sử dụng KOD ADN polymeraza (Millipore; Darmstadt, Đức). Thông số tạo chu kỳ đối với phản ứng này là như sau: 98°C, 10 phút; sau đó là 25 chu kỳ ở 98°C, 15 giây; 55°C, 5 giây. Plasmit pPICZ/HMGB1-alpha agglutinin đã nối còn được xác nhận bằng cách giải trình tự tại Trung tâm phòng thí nghiệm DNA Core của Đại học Arkansas (Fayetteville, AR). pPICZ/HMGB1-alpha agglutinin sau đó được tạo mạch thẳng thông qua quá trình phân giải *Pme*I và được tinh chế để chuẩn bị cho bước điện di vào *Pichia pastoris* X-33.

Để điện di, 5mL *Pichia pastoris* X-33 được sinh trưởng qua đêm ở 30°C trong môi trường canh thịt YPD. Năm trăm mililit môi trường canh thịt YPD mới được cấy truyền vào ngày tiếp theo với 5 mL giống cấy và được sinh trưởng đến OD là 1,5. Sau đó, tế bào được rửa hai lần bằng nước vô trùng, đá lạnh và một lần bằng sorbitol vô trùng, đá lạnh (1M). Tế bào cuối cùng được tái tạo huyền phù trong 1mL sorbitol đá lạnh. Tám mươi μ l *Pichia pastoris* có khả năng bị biến nạp được trộn với 10 μ g pPICZ/HMGB1-alpha agglutinin mạch thẳng và được xung một lần ở 2,0KV để điện di tế bào nấm men. Tế bào biến nạp trải qua quá trình hợp nhất cấu trúc vacxin mạch thẳng chứa gen kháng Zeocin vào nhiễm sắc thể thành công được

chọn lọc trên đĩa YPD chứa Zeocin 100 $\mu\text{g/mL}$. Một lần nữa, PCR khuẩn lạc được sử dụng để phân tích thể biến nạp. Đoạn môi đã đề cập ở trên và thông số tạo chu kỳ được sử dụng.

Sàng lọc gen *Pichia pastoris* pPICZ/HMGB1 *AOX1*.

Chủng vacxin tạo thành được thử nghiệm để xác nhận sự có mặt và độ ổn định của gen *AOX1* cần thiết để điều khiển sự biểu hiện của HMGB1-alpha agglutinin. Chín chủng kháng Zeocin ngoài GS115 Mut⁻ (chủng đối chứng âm với gen *AOX1* không chức năng được cung cấp trong bộ kit biểu hiện Easy Select™ *Pichia*) được thử nghiệm bằng cách cấy trên thạch MDH và MMH. Chủng thiếu hụt *AOX1* thể hiện sự sinh trưởng chậm hơn nhiều trên môi trường MMH so với trên MDH. Thời gian sinh trưởng trên cả hai môi trường này được sử dụng để nhận diện chủng thiếu hụt *AOX1*. Mỗi chủng trong chín chủng cộng với đối chứng âm GS115 Mut⁻ được cấy lặp lại trên môi trường MMH và MDH và được ủ trong 3 ngày. Quá trình nuôi cấy được kiểm tra mỗi 24 giờ và mức độ sinh trưởng được ghi lại.

Cảm ứng protein HMGB1-alpha agglutinin.

Để cảm ứng sự biểu hiện của HMGB1 trong giống cây, 50 mL giống cây *Pichia pastoris* pPICZ/HMGB1-alpha agglutinin được cho sinh trưởng qua đêm ở 30°C trong môi trường canh thịt MGY từ khuẩn lạc đơn. 25mL giống cây qua đêm này được chuyển vào trong 250 mL hoặc môi trường canh thịt MM đã làm ấm trước và được phủ vải thưa tiết trùng để thông khí thích hợp. Giống cây này sau đó được cho sinh trưởng khi lắc mạnh (250 vòng/phút) trong 96 giờ; với metanol 100% được bổ sung đến nồng độ cuối cùng là 0,5% mỗi 24 giờ để duy trì sự cảm ứng. Sự cảm ứng sản phẩm gen *HMGB1-alpha agglutinin* được tối đa hóa sau 96 giờ.

Sau khi cảm ứng, mỗi cấu trúc trong số chín cấu trúc dương tính với *Pichia pastoris*-HMGB1 được thử nghiệm đối với sự biểu hiện protein HMGB1 trên bề mặt tế bào *Pichia pastoris* sử dụng phân tích miễn dịch huỳnh quang. Cấu trúc *Pichia pastoris*-HMGB1 #1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, và 10 và khung chính X33 được nhuộm nhờ sử dụng đa dòng của thỏ HMGB1 156-177 được pha loãng với tỷ lệ 1:5 trong nước muối đệm phosphat (PBS) với phân F(ab)² của dê kháng IgG thỏ được liên hợp với Alexa 488 ở tỷ lệ 1:1000 trong 1% huyết thanh dê

trong PBS. Sự biểu hiện protein HMGB1 được biểu hiện tối ưu trên ba (#3, 4, và 6) trong số chín cấu trúc *Pichia pastoris*-HMGB1 đã được biến nạp (Fig.3).

Đánh giá sự phục hồi của *S. Enteritidis* sau tiêm chủng với ứng viên vacxin có vectơ nấm men.

Tiếp theo, các tác giả sáng chế thử nghiệm hiệu quả của PAL-HMGB1 có vectơ nấm men (SEQ ID NO: 54 liên kết với SEQ ID NO: 2) và các ứng viên vacxin PAL được chỉ dẫn bởi kháng thể để làm giảm sự phục hồi của *S. Enteritidis* (SE), *Salmonella* nhóm huyết thanh D, sau thách thức. Sáu mươi con gà logo SPF được nở ở trang trại gia cầm. Vào ngày nở, gà được chia thành hai nhóm, đối chứng và được tiêm chủng. Gà được tiêm chủng được tiêm chủng $4,25 \times 10^9$ cfu/mỗi con Nấm men-PAL-HMGB1 dưới da và bằng ống qua miệng, sau đó cả hai nhóm được đặt trong các dãy chuồng nuôi sàn dây, và thức ăn và nước được cung cấp tùy ý. Trước khi tiêm chủng, mười con gà 1 ngày tuổi được gây chết không đau bằng cách xông khí CO₂ cho quá trình lấy mẫu để xác nhận gà âm tính với *Salmonella*. Vào ngày 7, gà đã tiêm chủng được tiêm liều bổ sung 5×10^9 cfu/mỗi con dưới da và bằng ống qua miệng. Vào ngày 14, tất cả các con gà được thách thức bằng ống qua miệng với $1,2 \times 10^8$ cfu/mỗi con SE. Vào ngày 21 và 28, 10 miếng gạc ở nhóp mỗi nhóm được thu để đánh giá sự phát tán của các chủng thách thức. Vào ngày 32, gan và lá lách (LS), và mề (CT) được thu từ 20 con gà (đối chứng) hoặc 10 con gà (được tiêm chủng) và được nuôi cấy bằng cấy trực tiếp trên đĩa (CFU/g) và làm giàu đối với tỷ lệ mới mắc SE.

Tổng kết quy trình thí nghiệm:

Nhóm số (n=30)	Nhóm	Liều tiêm chủng DOH	Liều bổ sung Ngày 7	Liều cho phép Ngày 14	Gạc ổ nhóp
1	Đối chứng	NA	NA	SE@10 ⁸ /mỗi con	Ngày 21, 28
2	Nấm men-PAL- HMGB1-SC/miệng	10 ⁹ /ml	10 ⁹ /ml	Se@10 ⁸ /mỗi con	Ngày 21, 28

Như được thể hiện trong Bảng 2, lượng Salmonella ít hơn đáng kể được phục hồi từ gà đã tiêm chủng vaccin Nấm men-PAL-HMGB-1 18 ngày sau thách thức. Như được thể hiện trong Bảng 3, lượng Salmonella ít hơn đáng kể cũng được phục hồi từ gạc ổ nhóp và được làm sạch hoàn toàn sớm là 2 tuần sau thách thức.

Bảng 2. Độ phục hồi của SE 18 ngày sau thách thức.

	LS (%+)	CT (% + (# +))
Đối chứng	0	65 (13/20)
Nấm men-PAL-HMGB1	0	30 (3/10)*

*Khác với đối chứng $p < 0,1$

Bảng 3. Độ phục hồi của SE từ gạc ổ nhóp 1 và 2 tuần sau thách thức.

	1 tuần (% + (# +))	2 tuần (% + (# +))
Đối chứng	70 (14/20)	25 (5/20)
Nấm men-PAL-HMGB1	40 (4/10)	0 (0/10)*

*Khác với đối chứng $p < 0,1$

Đánh giá sự lây nhiễm Coccidia sau tiêm chủng với ứng viên vaccin có vector nấm men.

Tiếp theo, các tác giả sáng chế kiểm tra hiệu quả của MPP-TRAP-HMGB1 có vector nấm men (*Pichia pastoris*) (SEQ ID NO: 61 liên kết với SEQ ID NO: 65 liên kết với SEQ ID NO: 2) để giảm tỷ suất bệnh và tỷ lệ tử vong sau khi lây nhiễm *Eimeria maxima*, chủng M6, sau thách thức. Sự biểu hiện của MPP-TRAP-HMGB1 được xác nhận là biểu hiện trên bề mặt bằng miễn dịch huỳnh quang. Tám mươi con gà được thu vào ngày nở từ lò ấp thương mại. Vào ngày nở, gà được chia ngẫu nhiên thành bốn nhóm, đối chứng âm, đối chứng dương, được tiêm chủng *Pichia*-MPP-TRAP-HMGB-1 trong vacxin MCA bằng ống qua miệng vào ngày nở và ngày 14 hoặc được tiêm chủng *Pichia*-MPP-TRAP-HMGB-1 trong vacxin MCA trong nước uống vào ngày 4 và ngày 14. Gà được tiêm chủng được tiêm chủng 5×10^7 cfu/mỗi con Nấm men-MPP-TRAP-HMGB1 bằng ống qua miệng hoặc trong nước uống. Dung dịch gốc chất bổ trợ chitosan được mannosyl hóa (MCA) (1,5% chitosan w:v) được pha loãng với tỷ lệ 1:2 với huyền phù của *Pichia* (nồng độ cuối 0,5%). Đối với ống qua miệng, MCA (0,5%) bổ sung cấu trúc *Pichia* (1×10^7 tế bào) được phân phối trong 0,25 mL đối với cả liều cơ bản và liều bổ sung bằng ống qua miệng. Đối với việc dùng nước uống, nồng độ cuối của MCA trong nước uống là 0,004% và nồng độ cuối của *Pichia* là $2,3 \times 10^6$ tế bào/mL trong nước uống và nồng độ này được sử dụng cho cả việc dùng liều cơ bản và liều bổ sung. Tất cả các con gà được gắn thẻ riêng và tất cả các con gà (N=20 mỗi nhóm) được trộn lẫn ngoại trừ trong khi tiêm chủng qua nước uống và thức ăn và nước được cung cấp tùy ý.

Tất cả các nhóm được thách thức vào ngày 20 và điểm tổn thương được xác định vào ngày 6 sau khi cấy truyền. Một số kén hợp tử thoát khỏi thách thức đầu tiên (chúng vượt qua không bị thay đổi) nên thách thức rất khiêm tốn được mong đợi ở đối chứng không được thách thức ở các con gà được trộn lẫn này. Vào ngày 20, gà đối chứng dương và cả hai tập hợp gà được tiêm chủng được thách thức với 100.000 kén hợp tử *Eimeria maxima* (chủng M6). Vào ngày 26, mỗi con gà được cho điểm tổn thương nhờ sử dụng chỉ số cho điểm tổn thương của Johnson và Reid. Johnson, J. and W. M. Reid 1970. *Experimental Parasitology* 28: 30-36. Trong phương pháp cho điểm tổn thương này, điểm số chỉ ra sau đây: 0: Không có tổn thương nặng; 1: Đốm máu đỏ nhỏ có thể xuất hiện trên phía thanh mạc của ruột giữa, không có sự phình hoặc dày ruột, mặc dù có thể có lượng nhỏ dịch nhầy màu cam; 2: Bề mặt thanh mạc

có thể bị lổm đốm với nhiều đốm máu đỏ nhỏ; ruột có thể đầy dịch nhầy màu cam; rất ít hoặc không có sự phình ruột; dày thành; 3: Thành ruột bị phình ra và dày lên, bề mặt niêm mạc trở nên xù xì; thể tích ruột chứa đầy cục máu nhỏ và nhọn và dịch nhầy; 4: thành ruột có thể bị phình ra ở hầu hết chiều dài của nó; chứa nhiều cục máu và hồng cầu bị phân hủy tạo ra màu sắc đặc trưng và mùi thối; thành dày lên nhiều; gà chết được ghi nhận với điểm số này.

Fig.6 thể hiện phần trăm của động vật có điểm tổn thương là 4 vào ngày 6 sau thách thức và tỷ lệ phần trăm chỉ ra ở mỗi thanh thể hiện tỷ lệ tử vong ở ngày 6 sau thách thức. Đáng chú ý là, không có con gà nào trong số các con gà được tiêm chủng chết vào ngày 6, đối lập với 15% động vật đối chứng dương. Điểm tổn thương cũng giảm như được thể hiện bằng giá trị p đã tính được thể hiện trong Fig.6 ($p=0,037$ đối với tiêm chủng qua nước uống, $p=0,067$ đối với ống qua miệng). Khi Pichia biểu hiện cả kháng nguyên MPP và TRAP cùng với HMGB1 là polypeptit kích thích miễn dịch được bao gồm trong nước uống, điểm tổn thương giảm đáng kể. Phân tích thống kê được tiến hành như sau. Dữ liệu tổn thương được phân tích bằng cách sử dụng mô hình PROC MIXED ANOVA trong SAS, giả thiết được thực hiện mà sự khác biệt về độ nghiêm trọng giữa điểm số 0 và 1 tương tự với sự khác biệt về độ nghiêm trọng giữa điểm số 1 và 2, và tương tự. Dưới giả thiết này, trung bình điểm số có thể được phân tích đối với phân tích PROC MIXED ANOVA. Điểm tổn thương nằm trong khoảng từ 0 đến 4 như được mô tả bởi Johnson và Reid (1970). Kiểm định các yếu tố ngẫu nhiên và cố định được tiến hành. Sự khác biệt của trung bình được tính để xác định có bất kỳ sự khác biệt có ý nghĩa nào giữa số điểm tổn thương giữa các nhóm điều trị. Dữ liệu được xác định là có phân bố Poisson và kiểm định Tukey Kramer được sử dụng để xác định liệu có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm điều trị hay không.

Như được thể hiện trong Fig.7, phân bố của tất cả các điểm tổn thương cũng giảm đi trong các động vật được tiêm chủng. Các động vật được tiêm chủng chứng minh là có điểm tổn thương thấp hơn. Do đó, sự tiêm chủng hoặc qua nước uống hoặc qua ống qua miệng dẫn đến tỷ lệ tử vong thấp hơn và tỷ suất bệnh thấp hơn sau thách thức với Eimeria.

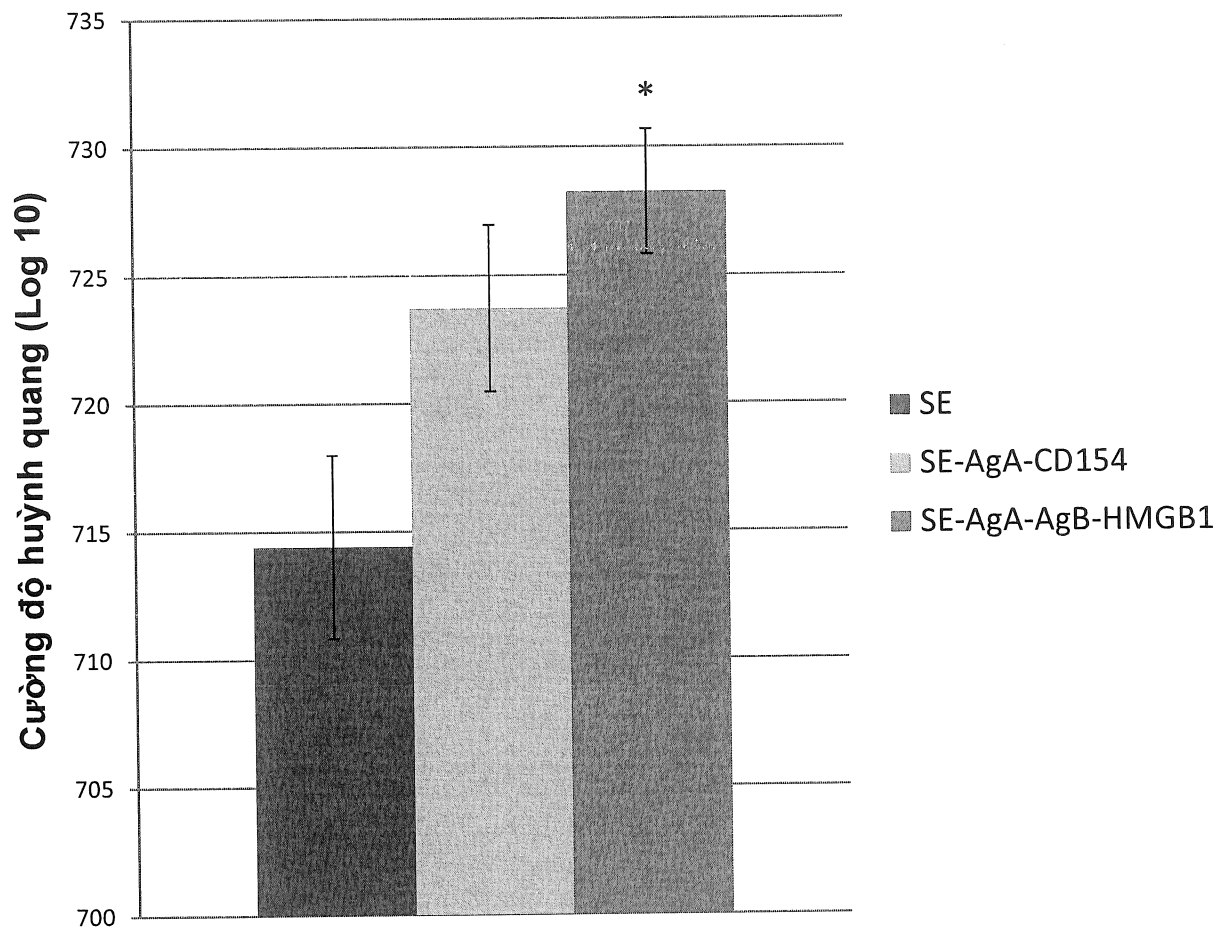
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Nấm men được thao tác di truyền chứa polynucleotit mã hóa polypeptit kích thích miễn dịch nhóm di động cao hộp 1 (HMGB1) có chiều dài đầy đủ và polypeptit alpha-agglutinin được neo bởi GP1 từ *Saccharomyces cerevisiae*, trong đó polypeptit HMGB1 này được nối với đầu tận cùng C của polypeptit alpha-agglutinin, và trong đó nấm men được thao tác di truyền này thể hiện polypeptit HMGB1 trên bề mặt của nấm men.
2. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 1, trong đó nấm men này còn chứa polynucleotit mã hóa polypeptit kháng nguyên, trong đó polypeptit kháng nguyên này được thể hiện trên bề mặt của nấm men.
3. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 2, trong đó polypeptit kháng nguyên và polypeptit HMGB1 là một phần của protein dung hợp.
4. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 2, trong đó polypeptit kháng nguyên được chọn từ nhóm bao gồm polypeptit của virus cúm, polypeptit của *Campylobacter*, polypeptit của *Clostridium*, polypeptit của *Salmonella*, polypeptit của *Eimeria*, và polypeptit liên quan đến khối u.
5. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 2, trong đó polypeptit kháng nguyên chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 39 đến SEQ ID NO: 56 và SEQ ID NO: 58 đến SEQ ID NO: 93.
6. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 1, trong đó nấm men này là *Pichia*.
7. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 1, trong đó polypeptit HMGB1 chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 98% với trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 30 và SEQ ID NO: 94 đến SEQ ID NO: 105.
8. Dược phẩm chứa nấm men được thao tác di truyền theo điểm 2 và chất mang dược dụng.
9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó chất mang dược dụng được chấp nhận dùng qua đường miệng hoặc mũi.
10. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó nấm men không có khả năng sao chép hoặc bị bất hoạt hoặc bị tiêu diệt.

11. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 1, trong đó nấm men này được sản xuất để được dùng qua đường miệng hoặc mũi.
12. Nấm men được thao tác di truyền theo điểm 1, trong đó nấm men này không có khả năng sao chép hoặc bị bất hoạt hoặc bị tiêu diệt.

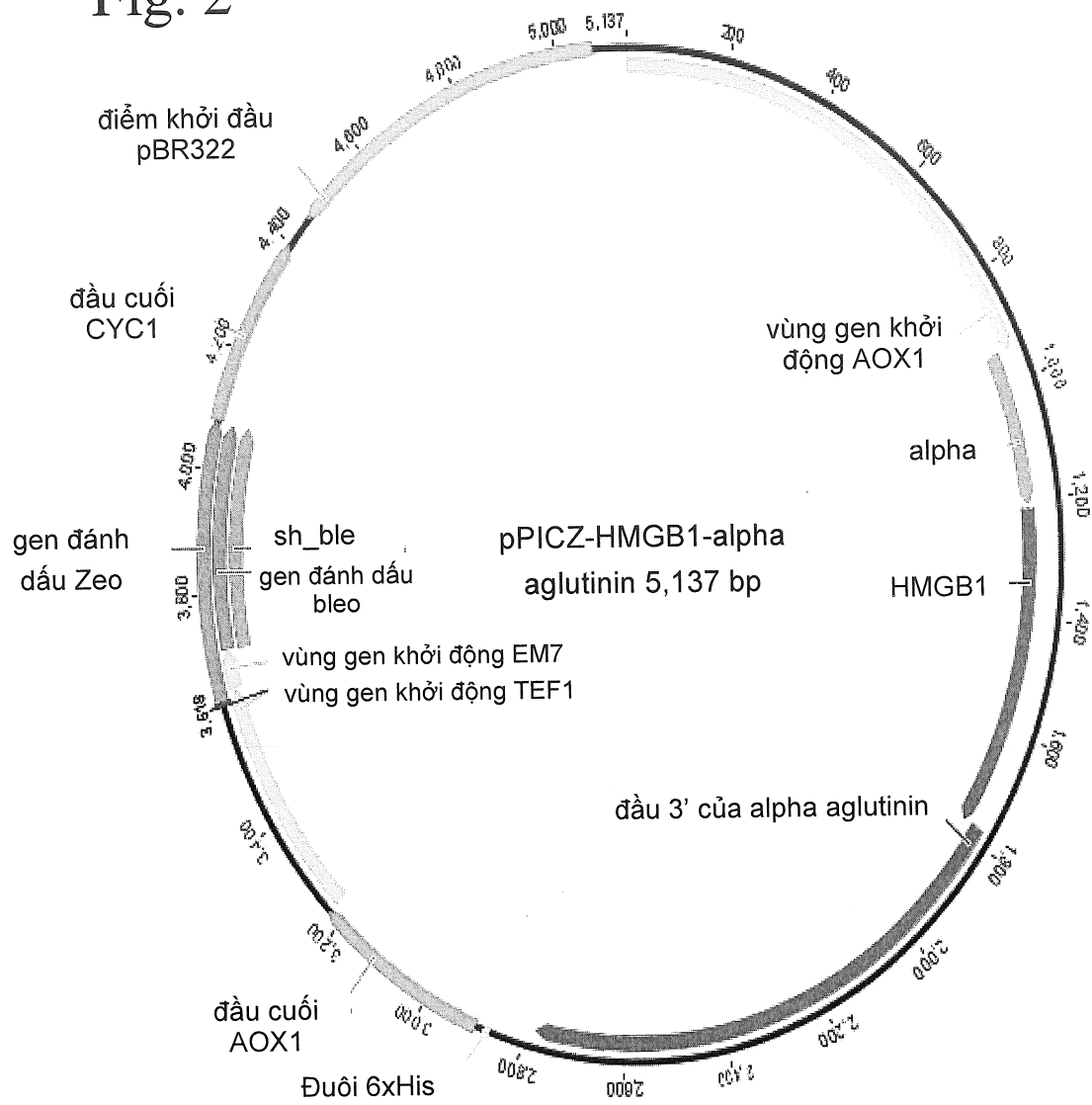
1/7

Fig. 1



2/7

Fig. 2



3/7

Fig. 3

Fig. 3A

Fig. 3B

Fig. 3C

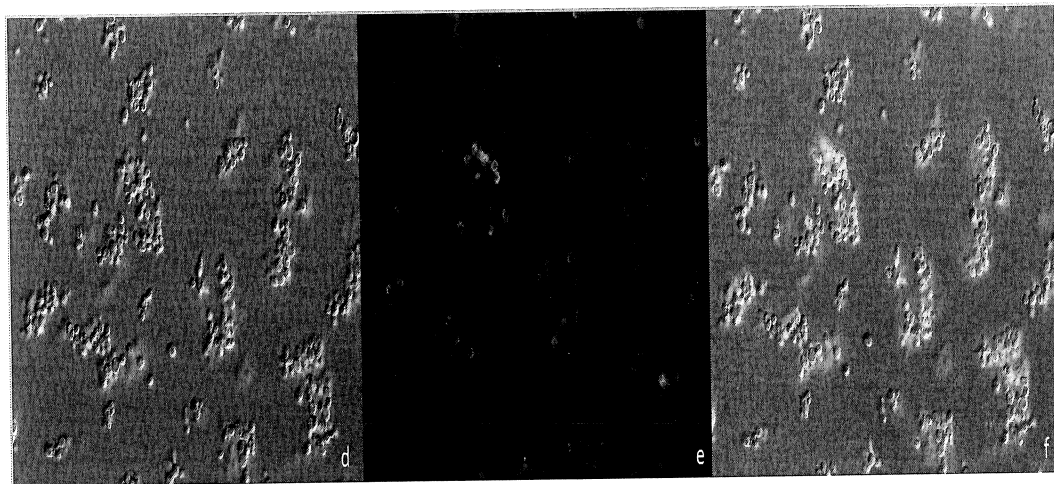
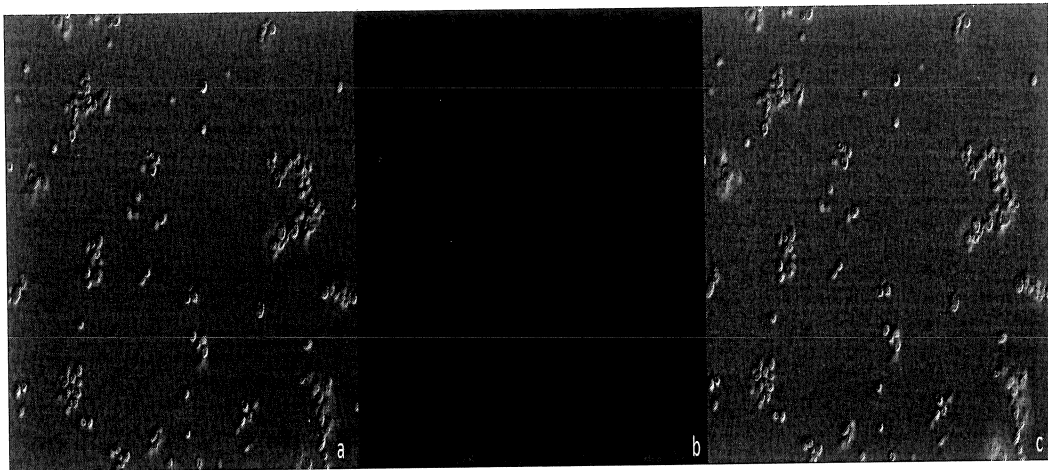


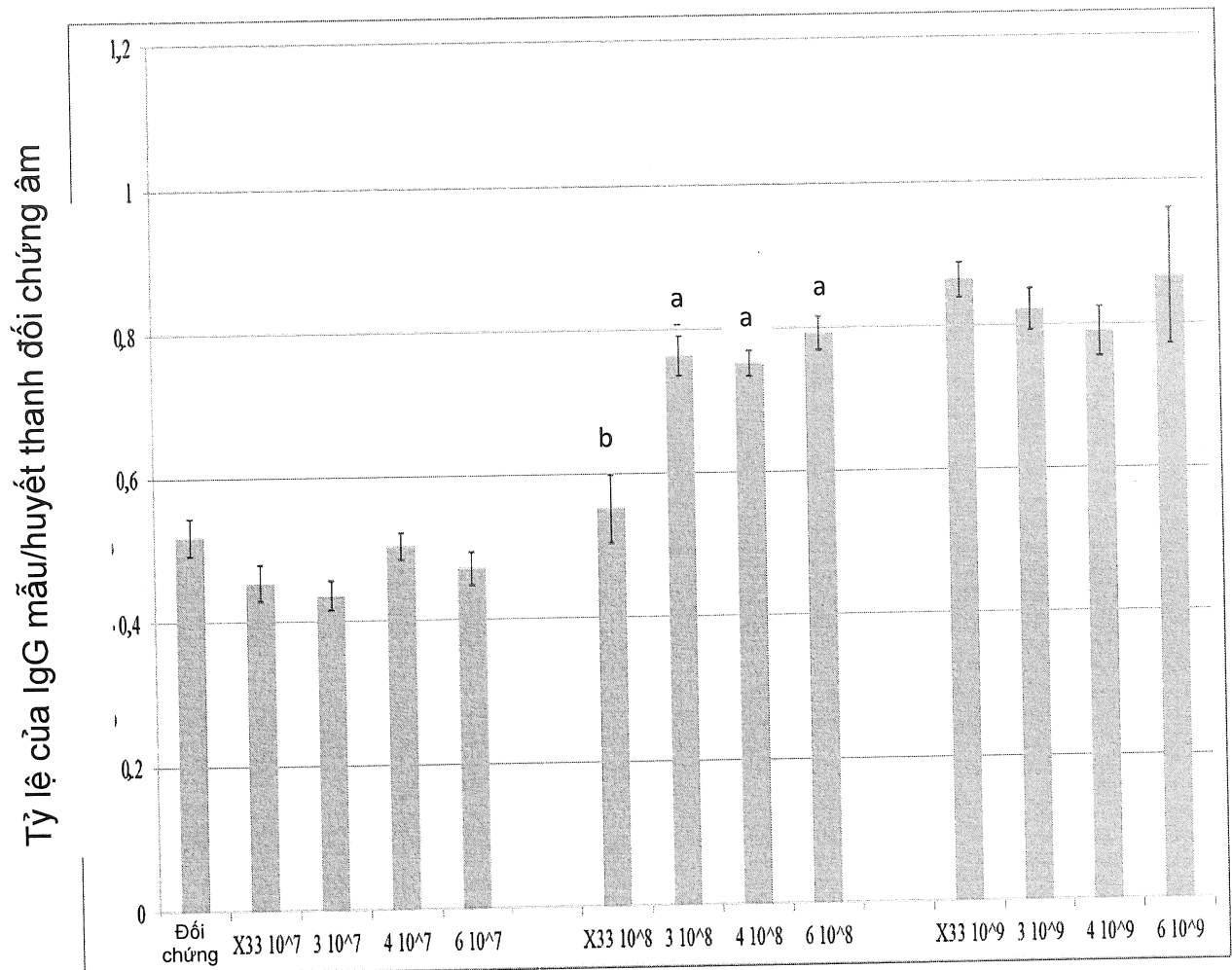
Fig. 3D

Fig. 3E

Fig. 3F

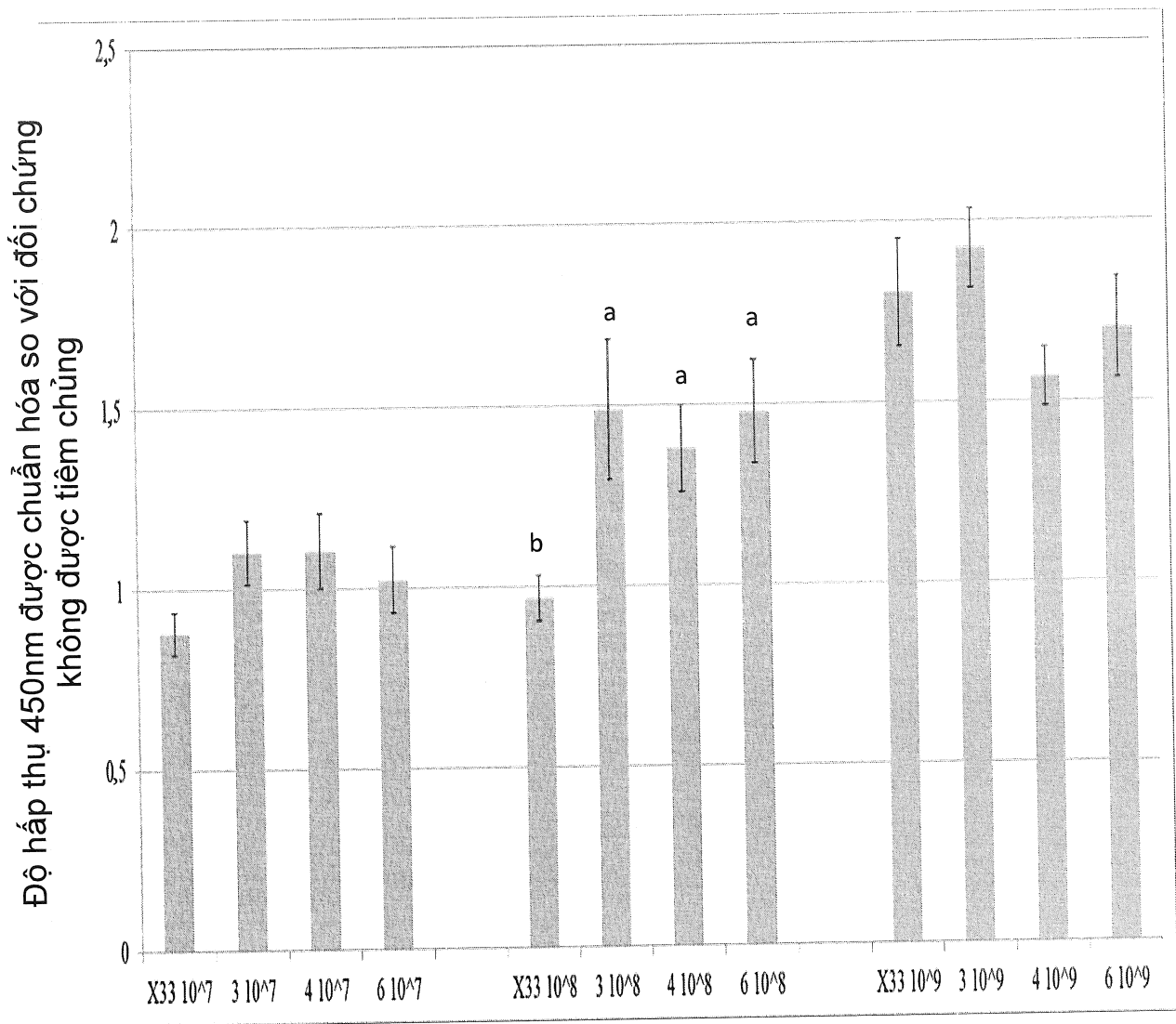
4/7

Fig. 4



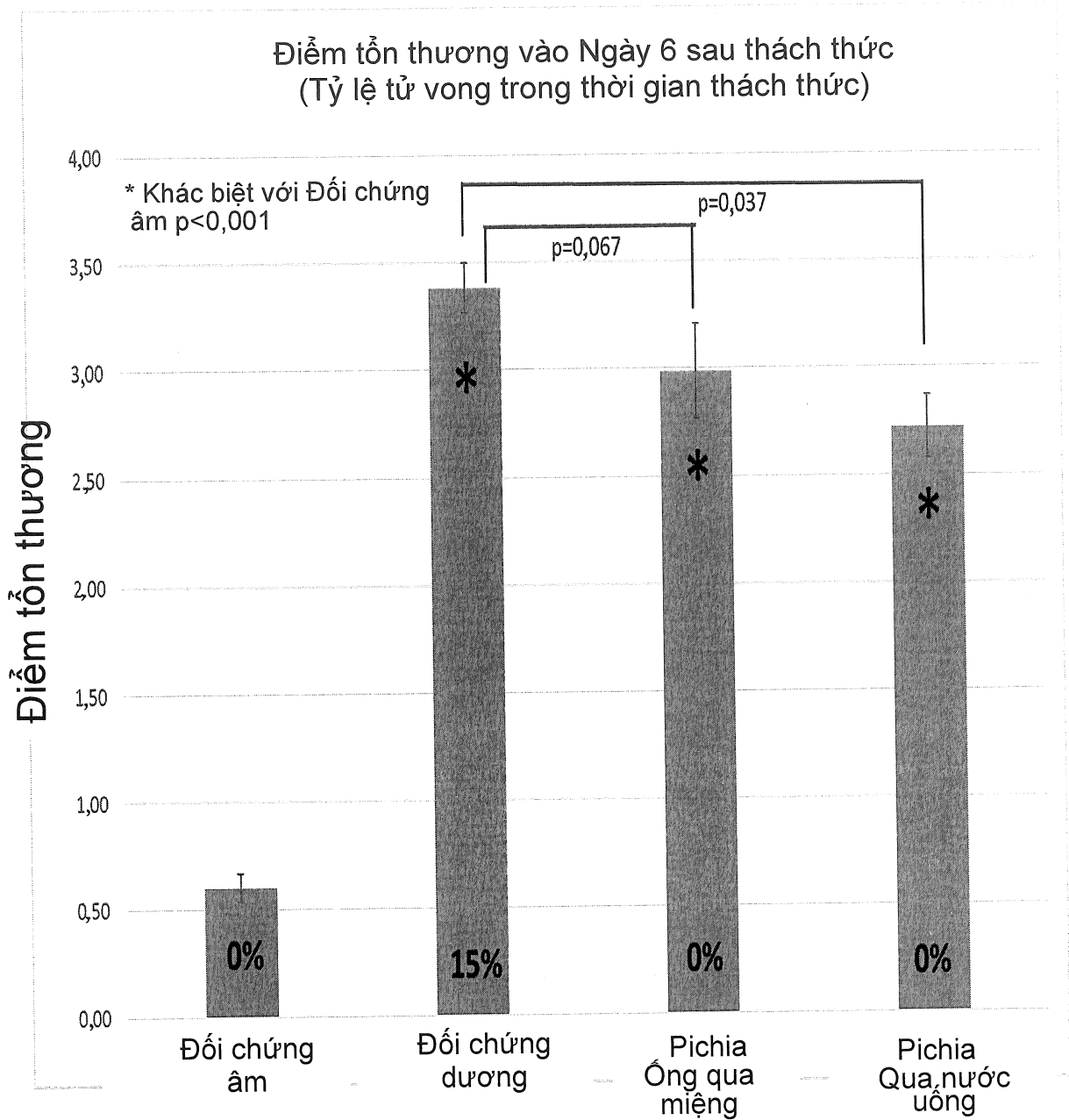
5/7

Fig. 5



6/7

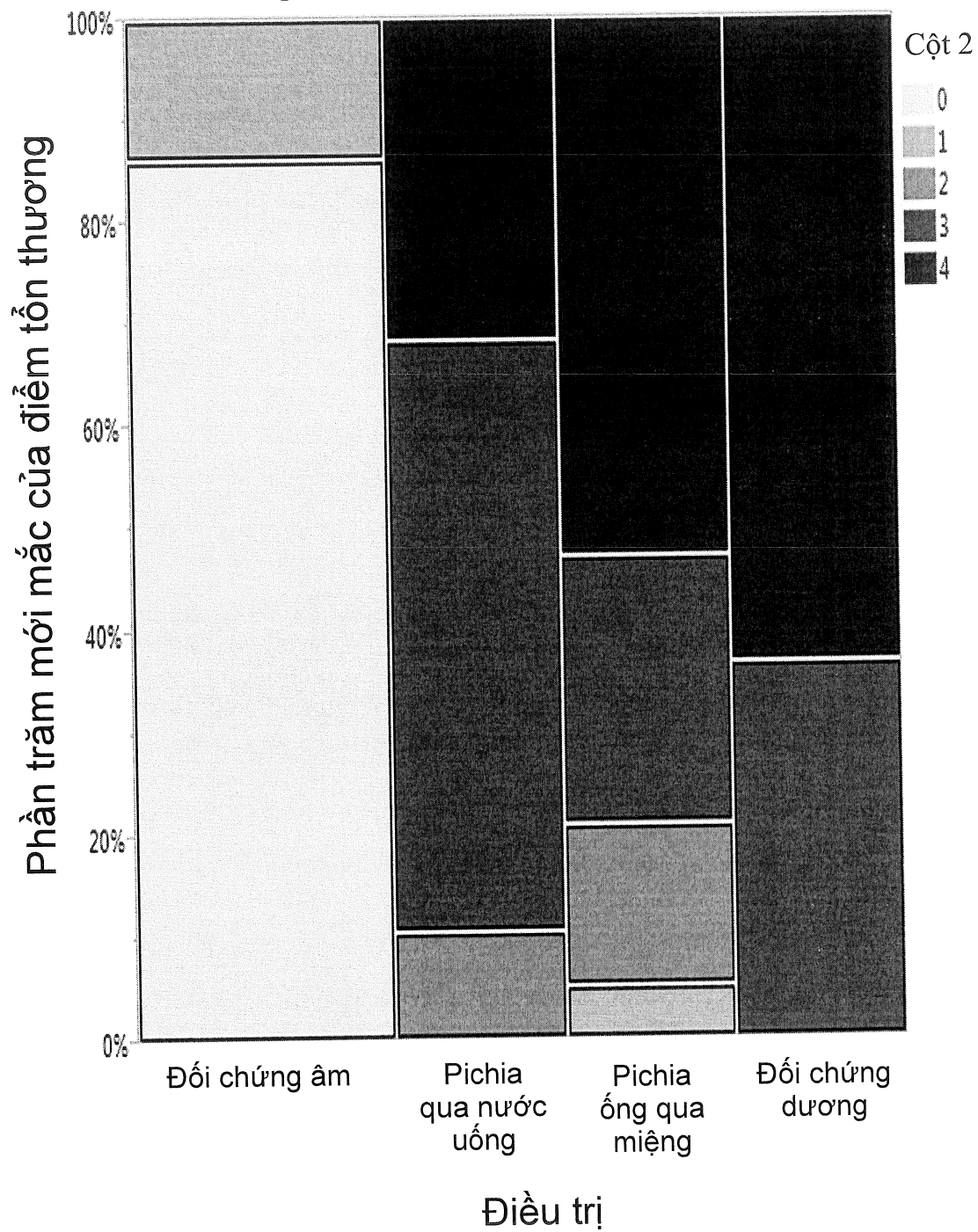
Fig. 6



7/7

Fig. 7

Sự phân bố điểm tổn thương Coccidia



DANH MỤC TRÌNH TỰ

- <110> THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF ARKANSAS
THE TEXAS A&M UNIVERSITY SYSTEM
FAULKNER, Olivia B.
BIELKE, Lisa
CALHOUN, Nicole
BERGHMAN, Luc
HARGIS, Billy
- <120> NĂM MEN ĐƯỢC THAO TÁC DI TRUYỀN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NĂM MEN NÀY
- <130> 5658-00379
- <150> US 62/331,044
- <151> 03-05-2016
- <160> 129
- <170> PatentIn phiên bản 3.5
- <210> 1
- <211> 1578
- <212> ADN
- <213> *Saccharomyces cerevisiae*
- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (1)..(1578)
- <223> HMGB1 + 3 phần của *Saccharomyces cerevisiae* alpha-agglutinin

<400> 1

cacgtgatgg gtaaagggtga tccaaaaaaaa ccaagaggta aaatgtcttc ttatgctttt	60
tttgttcaaa cttgtcgtga agaacataaa aaaaaacatc cagatgcttc tgttaatttt	120
tctgaatttt ctaaaaaatg ttctgaaaga tggaaaacta tgtcttctaa agaaaaaggt	180
aaatttgaag atatggctaa agctgataaa ctacgttatg aaaaagaaat gaaaaattat	240
gttccaccaa aagggtgaaac taaaaaaaaa tttaaagatc caaatgctcc aaaaagacca	300
ccatctgctt tttttctatt ttgttctgaa tttagaccaa aaattaaagg tgaacatcca	360
ggtttatcta ttggtgatgt tgctaaaaaa ttaggtgaaa tgtggaataa tactgctgct	420
gatgataaac aaccatatga aaaaaaagct gctaaattaa aagaaaaata tgaaaaagat	480
attgctgctt atagagctaa aggtaaagtt gatgctggta aaaaagttgt tgctaaagct	540
gaaaaatcta aaaaaaaaaa agaagaagaa gaagattcct cctccggtcg gaacctcggt	600
acagctagcg ccaaagctc ttttatctca accactacta ctgatttaac aagtataaac	660
actagtgcgt attccactgg atccatttcc acagtagaaa caggcaatcg aactacatca	720
gaagtgatca gccatgtggt gactaccagc aaaaaactgt ctccaactgc tactaccago	780
ctgacaattg cacaaaccag tatctattct actgactcaa atatcacagt aggaacagat	840
attcacacca catcagaagt gattagtgat gtggaaacca ttagcagaga aacagcttcg	900
accgttgtag ccgctccaac ctcaacaact ggatggacag gcgctatgaa tacttacatc	960

```

tcgcaattta catcctcttc tttcgcaaca atcaacagca caccaataat ctcttcatca      1020

gcagtatttg aaacctcaga tgcttcaatt gtcaatgtgc aactgaaaa tatcacgaat      1080

actgctgctg ttccatctga agagcccact tttgtaaattg ccacgagaaa ctctttaaat      1140

tccttctgca gcagcaaaca gccatccagt cctcatctt atacgtcttc cccactcgta      1200

tcgtccctct cagtaagcaa aacattacta agcaccagtt ttacgccttc tgtgccaaca      1260

tctaatacat atatcaaac gaaaaatacg gggtactttg agcacacggc tttgacaaca      1320

tcttcagttg gccttaattc ttttagtgaa acagcagttc catctcaggg aacgaaaatt      1380

gacacctttt tagtgtcatc ottgatcgca tatccttctt ctgcatcagg aagccaattg      1440

tccggtatcc aacagaattt cacatcaact tctctcatga tttcaaccta tgaaggtaaa      1500

gcgtctatat ttttctcagc tgagctcggg tcgatcattt ttctgctttt gtcgtacctg      1560

ctattctaata aaggtacc                                                    1578

```

<210> 2

<211> 215

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 2

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu
195 200 205

Glu Asp Asp Asp Asp Asp Glu
210 215

<210> 3

<211> 205

<212> PRT

<213> Danio rerio

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(205)

<223> HMGB1

<400> 3

Met Gly Lys Asp Pro Thr Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr Ala

1 5 10 15

Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Glu

20 25 30

Ala Thr Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg Trp

35 40 45

Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala Lys

50 55 60

Leu Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Asn Tyr Ile Pro Pro

65 70 75 80

Lys Gly Glu Lys Lys Lys Arg Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg

85 90 95

Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys Val
100 105 110

Lys Glu Glu Thr Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Arg Leu
115 120 125

Gly Glu Met Trp Asn Lys Ile Ser Ser Glu Glu Lys Gln Pro Tyr Glu
130 135 140

Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala Ala
145 150 155 160

Tyr Arg Ser Lys Gly Lys Val Gly Gly Gly Ala Ala Lys Ala Pro Ser
165 170 175

Lys Pro Asp Lys Ala Asn Asp Glu Asp Glu Asp Asp Asp Glu Glu Glu
180 185 190

Asp Glu Asp Asp Asp Asp Glu Glu Glu Glu Asp Asp Glu
195 200 205

<210> 4

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 4

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys

85

90

95

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu
180 185 190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu
195 200 205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu

210

215

<210> 5

<211> 215

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 5

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Asp Asp Glu Glu
180 185 190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp Glu
 195 200 205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu
 210 215

<210> 6
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(215)
 <223> HMGB1

<400> 6

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
 1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
 20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
 35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Asp Asp Glu Glu

180

185

190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp Glu

195

200

205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu

210

215

<210> 7

<211> 180

<212> PRT

<213> Cricetulus griseus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(180)

<223> HMGB1

<400> 7

Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg Trp Lys Thr

1

5

10

15

Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala Lys Ala Asp

20

25

30

Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro Pro Lys Gly

35

40

45

Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg Pro Pro

50

55

60

Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys Ile Lys Gly

65

70

75

80

Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys Leu Gly Glu

85

90

95

Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr Glu Lys Lys

100

105

110

Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala Ala Tyr Arg

115

120

125

Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val Lys Ala Glu

130

135

140

Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Asp Asp Glu Glu Asp Glu Glu

145

150

155

160

Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp Glu Glu Glu Asp
 165 170 175

Asp Asp Asp Glu
 180

<210> 8
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Macaca mulatta

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(215)
 <223> HMGB1

<400> 8

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
 1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
 20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
 35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu

180

185

190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu

195

200

205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu

210

215

<210> 9

<211> 215

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 9

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr

1

5

10

15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro

20

25

30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro

65

70

75

80

Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys

85

90

95

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys

100

105

110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

145

150

155

160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val

165

170

175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu

180

185

190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu

195

200

205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu

210

215

<210> 10

<211> 227

<212> PRT

<213> *Otolemur garnettii*

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(227)

<223> HMGB1

<400> 10

Met Asp Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Cys

1

5

10

15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Gly Glu Glu Arg Glu Lys Lys His

20

25

30

Pro Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu

35

40

45

Arg Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met

50

55

60

Ala Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile

65

70

75

80

Pro Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro

85

90

95

Lys Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro

100

105

110

Lys Ile Lys Gly Glu His His Leu Ser Thr Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Ser Asn Pro Ala Ala Gly Asp Lys Gln Pro Glu

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Glu Glu Lys Asp Lys Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Val Gly Ser Ser Arg Leu Lys Lys
165 170 175

Ala Arg Lys Arg Arg Lys Arg Arg Lys Met Arg Lys Met Lys Arg Lys
180 185 190

Lys Met Met Asn Lys Leu Val Leu Ala Gln Phe Leu Phe Leu Val Tyr
195 200 205

Lys Ala Phe Asn Pro Leu Val Tyr Asn Ser Leu Leu Leu Lys Lys Lys
210 215 220

Ile Glu Met
225

<210> 11

<211> 211

<212> PRT

<213> Xenopus laevis

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(211)

<223> HMGB1

<400> 11

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ala Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Ser Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Val Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys

100 105 110
Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Ser Thr Ile Gly Asp Ile Ala Lys Lys
115 120 125
Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Thr Asp Asp Lys Leu Pro Phe
130 135 140
Glu Arg Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Val Ala
145 150 155 160
Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Glu Pro Ala Lys Lys Ala Pro Ala
165 170 175
Lys Pro Glu Lys Ala Lys Lys Lys Glu Glu Asp Asp Glu Asp Asp Asp
180 185 190
Glu Glu Asp Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp
195 200 205
Asp Asp Glu
210
<210> 12

<211> 211

<212> PRT

<213> *Xenopus (Silurana) tropicalis*

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(211)

<223> HMGB1

<400> 12

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ala Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Ser Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Val Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Ser Thr Ile Gly Asp Ile Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Thr Asp Asp Lys Leu Pro Tyr
130 135 140

Glu Arg Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Val Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Glu Pro Ala Lys Lys Ala Pro Ala
165 170 175

Lys Phe Glu Lys Ala Lys Lys Lys Glu Asp Asp Asp Asp Asp Glu Asp
180 185 190

Asp Asp Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp
195 200 205

Asp Asp Glu

210

<210> 13

<211> 215

<212> PRT

<213> Papio Anubis

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 13

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr

1

5

10

15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro

20

25

30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu
180 185 190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu

195

200

205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu

210

215

<210> 14

<211> 215

<212> PRT

<213> Callicebus moloch

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 14

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr

1

5

10

15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro

20

25

30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro

65

70

75

80

Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys

85

90

95

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys

100

105

110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

145

150

155

160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val

165

170

175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu
 180 185 190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu
 195 200 205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu
 210 215

<210> 15
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Callithrix jacchus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(215)
 <223> HMGB1

<400> 15

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
 1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro

20 25 30
Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45
Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60
Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80
Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys
85 90 95
Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110
Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125
Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140
Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

<400> 16

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu
180 185 190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu
195 200 205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu
210 215

<210> 17

<211> 214

<212> PRT

<213> Bos indicus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(214)

<223> HMGB1

<400> 17

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Lys
165 170 175

Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp
180 185 190

Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu
195 200 205

Glu Asp Asp Asp Asp Glu
210

<210> 18

<211> 215

<212> PRT

<213> Equus caballus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 18

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys

100

105

110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

145

150

155

160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val

165

170

175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu

180

185

190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu

195

200

205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu

210

215

<210> 19
<211> 215
<212> PRT
<213> Canis lupus familiaris

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(215)
<223> HMGB1

<400> 19

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro

65

70

75

80

Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys

85

90

95

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys

100

105

110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

145

150

155

160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val

165

170

175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu

180

185

190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu

195

200

205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu

210

215

<210> 20

<211> 215

<212> PRT

<213> Sus scrofa

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 20

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr

1

5

10

15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro

20

25

30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys His Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu
180 185 190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu
195 200 205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu
210 215

<210> 21

<211> 215

<212> PRT

<213> *Oryctolagus cuniculus*

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> HMGB1

<400> 21

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro

65

70

75

80

Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys

85

90

95

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys

100

105

110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

145

150

155

160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
 165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu
 180 185 190

Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu
 195 200 205

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu
 210 215

<210> 22
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> Sciaenops ocellatus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(206)
 <223> HMGB1

<400> 22

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

Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Asp

20

25

30

Ala Ser Val Asn Phe Ala Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Gly Arg Trp

35

40

45

Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Leu Ala Arg

50

55

60

Gln Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Met Ser Tyr Val Pro Ala

65

70

75

80

Arg Gly Gly Lys Lys Lys Lys Tyr Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg

85

90

95

Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys Val

100

105

110

Lys Gly Glu Ala Pro Gly Leu Thr Ile Gly Glu Val Ala Lys Arg Leu

115

120

125

Gly Glu Met Trp Asn Gly Thr Ala Ser Glu Asp Lys Gln Pro Phe Glu

130

135

140

Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Glu Val Ala Ala
145 150 155 160

Tyr Arg Gln Lys Thr Lys Ala Gly Ala Gly Pro Ala Ala Lys Ala Pro
165 170 175

Ala Lys Val Glu Lys Lys Val Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp
180 185 190

Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Tyr Asp Asp Asp Asp Glu
195 200 205

<210> 23

<211> 182

<212> PRT

<213> Ictalurus punctatus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(182)

<223> HMGB1

<400> 23

Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Asp Thr Ser Val

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

130 135 140

Gly Lys Val Val Gly Gly Ala Ala Lys Ala Pro Thr Lys Pro Asp Lys

145 150 155 160

Ala Asp Asp Asp Glu Asp Asp Asp Asp Asp Glu Asp Asp Asp Asp Asp

165 170 175

Asp Asp Glu Asp Asp Glu

180

<210> 24

<211> 209

<212> PRT

<213> Lutjanus sanguineus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(209)

<223> HMGB1

<400> 24

Met Gly Arg Glu Pro Arg Glu Pro Gly Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser

1 5 10 15

Ser Tyr Ala Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys
20 25 30

His Pro Asp Ala Ser Val Asn Phe Ala Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser
35 40 45

Glu Arg Trp Lys Thr Met Ser Pro Lys Glu Lys Ser Lys Phe Glu Asp
50 55 60

Leu Ala Arg Gln Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Leu Thr Tyr
65 70 75 80

Val Pro Ala Arg Gly Gly Lys Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala
85 90 95

Pro Lys Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Ser Glu Phe Arg
100 105 110

Pro Lys Val Lys Gly Glu Ser Pro Gly Leu Ser Ile Gly Glu Val Ala
115 120 125

Lys Arg Leu Gly Glu Met Trp Asn Gly Thr Ser Ser Glu Asp Lys Gln
130 135 140

Pro Phe Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Arg Tyr Glu Lys Glu
145 150 155 160

Val Ala Ala Tyr Arg Gln Lys Thr Lys Gly Gly Ser Ala Pro Ala Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Ala Lys Ala Glu Lys Lys Val Glu Glu Asp Asp Asp Asp
180 185 190

Glu Glu Asp Asp Asp Asp Glu Glu Glu Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Asp
195 200 205

Glu

<210> 25
<211> 204
<212> PRT
<213> Carassius auratus

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(204)
<223> HMGB1

<400> 25

Met Gly Lys Asp Pro Thr Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Glu
20 25 30

Ala Thr Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg Trp
35 40 45

Lys Thr Met Ser Gly Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala Lys
50 55 60

Gln Asp Lys Val Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Asn Tyr Ile Pro Pro
65 70 75 80

Lys Gly Glu Lys Lys Lys Arg Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg
85 90 95

Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Ser Glu Phe Arg Ser Lys Val
100 105 110

Lys Glu Glu Thr Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Arg Leu
115 120 125

Gly Glu Met Trp Asn Lys Thr Ser Ala Glu Asp Lys Gln Pro Phe Glu
130 135 140

Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala Ala
145 150 155 160

Tyr Arg Ser Lys Gly Lys Val Val Gly Gly Ala Ala Lys Ala Pro Ser
165 170 175

Lys Pro Val Lys Val Asn Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Glu Asp Glu
180 185 190

Asp Glu Asp Asp Asp Asp Glu Glu Glu Asp Asp Glu
195 200

<210> 26

<211> 198

<212> PRT

<213> Salmo salar

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(198)

<223> HMGB1

<400> 26

Met Gly Lys Asp Pro Arg Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Glu
20 25 30

Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg Trp
35 40 45

Arg Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Leu Ala Lys
50 55 60

Leu Asp Lys Val Arg Tyr Glu Arg Glu Met Arg Ser Tyr Ile Pro Pro
65 70 75 80

Lys Gly Glu Lys Lys Lys Arg Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg
85 90 95

Pro Ser Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Ala Asp Phe Arg Pro Gln Val
100 105 110

Lys Gly Glu Thr Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys Leu
115 120 125

Gly Glu Lys Trp Asn Asn Leu Thr Ala Glu Asp Lys Val Pro Tyr Glu
130 135 140

Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Thr Ala
145 150 155 160

Tyr Arg Asn Lys Gly Lys Val Pro Val Ser Val Pro Ala Lys Ala Ala
165 170 175

Ala Pro Thr Lys Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp
180 185 190

Glu Asp Asp Asp Asp Asp
195

<210> 27
<211> 206
<212> PRT
<213> Anoplopoma fimbria

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(206)
<223> HMGB1

<400> 27

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

Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Glu
20 25 30

Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg Trp
35 40 45

Lys Thr Met Ser Leu Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Leu Ala Arg
50 55 60

Gln Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Met Ser Tyr Ile Pro Pro
65 70 75 80

Arg Gly Ile Lys Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg
85 90 95

Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Ala Glu Tyr Arg Pro Lys Val
100 105 110

Lys Gly Glu Thr Pro Gly Ala Thr Ile Gly Asp Val Ala Lys Arg Leu

115 120 125

Gly Glu Met Trp Asn Gly Thr Ala Ser Glu Asp Arg Gln Pro Phe Glu
130 135 140

Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Glu Val Ala Ala
145 150 155 160

Tyr Arg Ala Lys Thr Lys Pro Gly Ala Cys Ala Ala Ala Ala Pro Ser
165 170 175

Lys Ala Pro Ala Lys Val Glu Lys Lys Val Glu Asp Asp Asp Asp Asp
180 185 190

Asp Asp Asp Glu Glu Glu Asp Asp Phe Asp Asp Asp Asp Asp
195 200 205

<210> 28
<211> 194
<212> PRT
<213> Oncorhynchus mykiss

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(194)

<223> HMGB1

<400> 28

Met Gly Lys Asp Pro Arg Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Ala Glu His Lys Lys Lys His Pro Glu
20 25 30

Ala Ser Val Asn Phe Ala Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg Trp
35 40 45

Lys Pro Met Ser Pro Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala Lys
50 55 60

Gln Asp Lys Val Arg Tyr Glu Gly Glu Met Lys Asn Tyr Ile Pro Pro
65 70 75 80

Asn Gly Gln Lys Lys Lys Arg Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg
85 90 95

Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Ala Asp Phe Arg Ala Lys Ile
100 105 110

Lys Ser Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Thr Ala Lys Lys Leu
115 120 125

Gly Val Met Trp Asn Ser Ser Ala Ala Glu Glu Lys Lys Pro Tyr Glu
130 135 140

Lys Lys Ala Ala Thr Leu Lys Glu Lys Tyr Asp Lys Asp Ile Ala Ser
145 150 155 160

Tyr Arg Thr Asn Gly Arg Val Asp Thr Ala Ser Ser Ala Ala Ala Asp
165 170 175

Asp Glu Glu Glu Asp Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Asp Glu Asp Asp
180 185 190

Asp Glu

<210> 29

<211> 208

<212> PRT

<213> Lethenteron camtschaticum

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(208)

<223> HMGB1

<400> 29

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Lys Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys Asn Pro
20 25 30

Glu Ala Ser Val Asn Phe Ala Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Glu Lys Glu Lys Thr Arg Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Val Asp Lys Val Arg Tyr Asp Arg Glu Met Lys Thr Tyr Val Pro
65 70 75 80

Pro Lys Gly Glu Arg Gly Ser Arg Lys Lys Lys Asp Pro Asn Ala Pro
85 90 95

Lys Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Tyr Cys Ala Glu Tyr Arg Ser
100 105 110

Lys Val Arg Ala Glu Asn Pro Gly Leu Thr Ile Gly Ser Ile Ala Lys
115 120 125

Lys Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Ala Pro Ala Asp Glu Lys Ser Ile
130 135 140

Tyr Glu Arg Lys Thr Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Asp Lys Asp Met
145 150 155 160

Ala Ser Tyr Arg Ser Lys Gly Lys Val Glu Thr Ser Lys Val Ala Ser
165 170 175

Lys Pro Ala Ser Lys Gln Arg Asp Asp Asp Asp Asp Glu Asp Asp Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Asp Glu Asp Glu Asp Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Glu
195 200 205

<210> 30

<211> 172

<212> PRT

<213> Ctenopharyngodon idella

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(172)

<223> HMGB1

<400> 30

Met Gly Lys Asp Pro Arg Lys Pro Lys Gly Lys Met Ser Ser Tyr Ala
1 5 10 15

Tyr Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Glu
20 25 30

Ala Thr Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg Trp
35 40 45

Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala Lys
50 55 60

Gln Asp Lys Val Arg Phe Glu Arg Glu Met Lys Asn Tyr Ile Pro Pro
65 70 75 80

Lys Gly Glu Lys Lys Arg Arg Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg
85 90 95

Pro Pro Ser Ala Phe Phe Ile Phe Cys Gly Asp Tyr Arg Pro Lys Ile
100 105 110

Arg Gly Glu Asn Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Ile Ala Lys Lys Leu
115 120 125

Gly Glu Met Trp Asn Ser Ser Ser Ala Glu Val Lys Gln Pro Tyr Glu
130 135 140

Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Asp Lys Asp Ile Ala Leu
145 150 155 160

Tyr Arg Thr Lys Gly Ile Ala Gly Leu Ser Lys Lys
165 170

<210> 31
<211> 106
<212> PRT
<213> Ophiophagus hannah

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(106)
<223> HMGB1

<400> 31

Met Ala Lys Ala Asp Lys Val Arg Tyr Asp Arg Glu Met Lys Asp Tyr

1 5 10 15

Gly Pro Ala Lys Gly Gly Lys Lys Lys Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys
20 25 30

Arg Pro Pro Ser Gly Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Cys Ser Glu
35 40 45

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

Val Ala Lys Lys Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Leu Ser Asp Ser Glu
65 70 75 80

Lys Gly Pro Tyr Asn Asn Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu
85 90 95

Lys Val Arg Leu Gly Cys Trp Cys Trp Cys
100 105

<210> 32
<211> 51
<212> PRT
<213> Artemia franciscana

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(51)

<223> HMGB1

<400> 32

Met Pro Arg Ser Lys Asp Glu Ser Lys Pro Arg Gly Lys Leu Thr Ala
1 5 10 15

Tyr Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Arg Lys His
20 25 30

Pro Asp Glu Asn Val Val Phe Ala Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ala Glu
35 40 45

Arg Trp Lys
50

<210> 33

<211> 85

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(85)

<223> HMGB1 hõp a1

<400> 33

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

Pro Lys Gly Glu Thr
85

<210> 34

<211> 54

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(54)

<223> HMGB1 hộp a2

<400> 34

Pro Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu
1 5 10 15

Arg Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met
20 25 30

Ala Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val
35 40 45

Pro Pro Lys Gly Glu Thr
50

<210> 35

<211> 73

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(73)

<223> HMGB1 hộp b1

<400> 35

Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe
1 5 10 15

Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser
20 25 30

Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala
35 40 45

Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu
50 55 60

Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala Ala Tyr
65 70

<210> 36

<211> 69

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(69)

<223> HMGB1 hộp b2

<400> 36

Asn Ala Pro Lys Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu
1 5 10 15

Phe Arg Pro Lys Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp
20 25 30

Val Ala Lys Lys Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp
35 40 45

Lys Gln Pro Tyr Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu
50 55 60

Lys Asp Ile Ala Ala
65

<210> 37

<211> 21

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(21)

<223> Miền liên kết RAGE của HMGB1

<400> 37

Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe
1 5 10 15

Cys Ser Glu Phe Arg
20

<210> 38

<211> 33

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(33)

<223> Hoạt tính xytokin tiền viêm HMGB1

<400> 38

Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala Ala Tyr Arg Ala Lys Gly
1 5 10 15

Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala Lys Ala Glu Lys Ser Lys
20 25 30

Lys

<210> 39
<211> 182
<212> PRT
<213> Gallus gallus

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(182)
<223> Kháng nguyên Clostridium perfringens

<400> 39

Ser Lys Glu Tyr Ala Arg Gly Phe Ala Lys Thr Gly Lys Ser Ile Tyr
1 5 10 15

Tyr Ser His Ala Ser Met Ser His Ser Trp Asp Asp Trp Asp Tyr Ala
20 25 30

Ala Lys Val Thr Leu Ala Asn Ser Gln Lys Gly Thr Ala Gly Tyr Ile

35 40 45

Tyr Arg Phe Leu His Asp Val Ser Glu Gly Asn Asp Pro Ser Val Gly
50 55 60

Lys Asn Val Lys Glu Leu Val Ala Tyr Ile Ser Thr Ser Gly Glu Lys
65 70 75 80

Asp Ala Gly Thr Asp Asp Tyr Met Tyr Phe Gly Ile Lys Thr Lys Asp
85 90 95

Gly Lys Thr Gln Glu Trp Glu Met Asp Asn Pro Gly Asn Asp Phe Met
100 105 110

Thr Gly Ser Lys Asp Thr Tyr Thr Phe Lys Leu Lys Asp Glu Asn Leu
115 120 125

Lys Ile Asp Asp Ile Gln Asn Met Trp Ile Arg Lys Arg Lys Tyr Thr
130 135 140

Ala Phe Pro Asp Ala Tyr Lys Pro Glu Asn Ile Lys Val Ile Ala Asn
145 150 155 160

Gly Lys Val Val Val Asp Lys Asp Ile Asn Glu Trp Ile Ser Gly Asn

165

170

175

Ser Thr Tyr Asn Ile Lys

180

<210> 40

<211> 6

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(6)

<223> epitop bảo vệ của CPa

<400> 40

Ala Arg Gly Phe Ala Lys

1

5

<210> 41

<211> 8

<212> PRT

<213> Virut cúm chim

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(8)

<223> Virut cúm chim m2e

<400> 41

Glu Val Glu Thr Pro Ile Arg Asn

1 5

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> Virut cúm chim

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(8)

<223> Virut cúm chim m2e

<400> 42

Glu Val Glu Thr Pro Thr Arg Asn

1 5

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> Virut cúm chim

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(12)

<223> Virut cúm chim (HA5 UA)

<400> 43

Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln

1 5 10

<210> 44

<211> 19

<212> PRT

<213> Virut cúm chim

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(19)

<223> Virut cúm chim (HA5 LB)

<400> 44

Ala Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn Asp Tyr

1 5 10 15

Glu Glu Leu

<210> 45
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Virut cúm chim

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(16)
 <223> Virut cúm chim (NP 54-69)

<400> 45

Gly	Arg	Leu	Ile	Gln	Asn	Ser	Ile	Thr	Ile	Glu	Arg	Met	Val	Leu	Ser
1			5					10						15	

<210> 46
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Virut cúm chim

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> Virut cúm chim (NP 147-160)

<400> 46

Thr	Tyr	Gln	Arg	Thr	Arg	Ala	Leu	Val	Arg	Thr	Gly	Met	Asp
1				5						10			

<210> 47
<211> 19
<212> PRT
<213> E. coli

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(19)
<223> PAL bis từ E. coli

<400> 47

Glu Gly His Ala Asp Glu Arg Gly Thr Pro Glu Tyr Asn Ile Ser Leu
1 5 10 15

Gly Glu Arg

<210> 48
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp: peptit

<400> 48

Gly His Ala Asp Glu Arg

1 5

<210> 49

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: peptit

<400> 49

Asp Glu Arg Gly Thr Pro

1 5

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: peptit

<400> 50

Glu Tyr Asn Ile Ser Leu

1 5

<210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp: peptit

<400> 51

Ile Ser Leu Gly Glu Arg

1 5

<210> 52
<211> 19
<212> PRT
<213> Vibrio spp.

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(19)
<223> PALbis từ vibrio spp.

<400> 52

Glu Gly His Ala Asp Glu Arg Gly Thr Pro Glu Tyr Asn Ile Ala Leu

1 5 10 15

Gly Glu Arg

<210> 53
<211> 17
<212> PRT
<213> Campylobacter spp.

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(17)
<223> peptit tương ứng từ Campylobacter spp.

<400> 53

Glu Gly Asn Cys Asp Glu Trp Gly Thr Asp Glu Tyr Asn Gln Ala Leu
1 5 10 15

Gly

<210> 54
<211> 19
<212> PRT
<213> E. coli

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(19)

<223> PAL từ E. coli

<400> 54

Thr Val Glu Gly His Ala Asp Glu Arg Gly Thr Pro Glu Tyr Asn Ile
1 5 10 15

Ser Leu Gly

<210> 55

<211> 21

<212> PRT

<213> Campylobacter jejuni

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(21)

<223> Campylobacter jejuni Cj0113

<400> 55

Gly Val Ser Ile Thr Val Glu Gly Asn Cys Asp Glu Trp Gly Thr Asp
1 5 10 15

Glu Tyr Asn Gln Ala

20

<210> 56
<211> 19
<212> PRT
<213> Vibrio spp.

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(19)
<223> Epitop của PAL khác từ Vibrio spp.

<400> 56

Thr Val Glu Gly His Ala Asp Glu Arg Gly Thr Pro Glu Tyr Asn Ile
1 5 10 15

Ala Leu Gly

<210> 57
<211> 57
<212> ADN
<213> E. coli

<220>
<221> misc_feature

<222> (1)..(57)

<223> Trình tự nucleotit cho epitop của PAL của E. coli

<400> 57

gaaggtcacg cggacgaacg tggtagcccg gaatacaaca tctctctggg tgaacgt

57

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> E. coli

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> Epitop của PAL từ E. coli

<400> 58

Glu Tyr Asn Ile Ser Leu Gly Glu Arg

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Vibrio spp.

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> Epitop của PAL từ *Vibrio* spp.

<400> 59

Glu Tyr Asn Ile Ala Leu Gly Glu Arg

1 5

<210> 60

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: epitop tối thiểu kết hợp

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(6)

<223> Xaa có thể là axit amin xuất hiện trong tự nhiên bất kỳ

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa có thể là axit amin xuất hiện trong tự nhiên bất kỳ

<400> 60

Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Tyr Gly Ala Cys Glu Xaa Asn Leu Gly

1 5 10 15

<210> 61
<211> 43
<212> PRT
<213> Eimeria maxima

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(43)
<223> MPP; Eimeria maxima

<400> 61

Pro Ser His Asp Ala Pro Glu Ser Glu Arg Thr Pro Arg Val Ile Ser
1 5 10 15

Phe Gly Tyr Gly Ala Cys Glu His Asn Leu Gly Val Ser Leu Phe Arg
20 25 30

Arg Glu Glu Thr Lys Lys Asp Pro Arg Gly Arg
35 40

<210> 62
<211> 28
<212> PRT
<213> Neospora canium

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(28)

<223> Neospora canium

<400> 62

Pro Arg Ile Val Ser Phe Gly Tyr Gly Ala Cys Glu His Asn Leu Gly
1 5 10 15

Met Ser Leu Tyr Asp Arg Gln Gly Leu Gln Arg Gln
20 25

<210> 63

<211> 21

<212> PRT

<213> Eimeria tenella

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(21)

<223> Eimeria tenella

<400> 63

Glu Ser Gln Arg Ala Pro Met Val Ile Arg Tyr Gly Tyr Gly Ala Cys
1 5 10 15

Glu Tyr Asn Leu Gly

20

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Eimeria maxima

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> Eimeria maxima TRAP-1

<400> 64

Gly Gly Gly Phe Pro Thr Ala Ala Val Ala

1 5 10

<210> 65

<211> 40

<212> PRT

<213> Eimeria maxima

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> Eimeria maxima TRAP-02

<400> 65

Ala Ala Pro Glu Thr Pro Ala Val Gln Pro Lys Pro Glu Glu Gly His
1 5 10 15

Glu Arg Pro Glu Pro Glu Glu Glu Glu Glu Lys Lys Glu Glu Gly Gly
20 25 30

Gly Phe Pro Thr Ala Ala Val Ala
35 40

<210> 66

<211> 40

<212> PRT

<213> Eimeria maxima

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(40)

<223> Eimeria maxima TRAP-03

<400> 66

Gly Gly Gly Phe Pro Thr Ala Ala Val Ala Gly Gly Val Gly Gly Val
1 5 10 15

Leu Leu Ile Ala Ala Val Gly Gly Gly Val Ala Ala Phe Thr Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ala Gly Ala Gln Glu
35 40

<210> 67

<211> 21

<212> PRT

<213> Campylobacter jejuni

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(21)

<223> Campylobacter jejuni Cj0982

<400> 67

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

Asp Gly Lys Glu Lys
20

<210> 68

<211> 35

<212> PRT

<213> Campylobacter jejuni

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(35)

<223> Campylobacter jejuni Cj0420

<400> 68

Lys Val Ala Leu Gly Val Ala Val Pro Lys Asp Ser Asn Ile Thr Ser
1 5 10 15

Val Glu Asp Leu Lys Asp Lys Thr Leu Leu Leu Asn Lys Gly Thr Thr
20 25 30

Ala Asp Ala
35

<210> 69

<211> 16

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(16)

<223> Độc tố Clostridium perfringens alpha

<400> 69

Asn Ala Trp Ser Lys Glu Tyr Ala Arg Gly Phe Ala Lys Thr Gly Lys
1 5 10 15

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Cúm chim

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> Peptit M2e gây bệnh cúm chim

<400> 70

Cys Glu Val Glu Thr Pro Thr Arg Asn
1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> 1-Alpha-31

<400> 71

Gly Lys Ile Asp Gly Thr Gly Thr His

1 5

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(15)

<223> 2-Alpha-51

<400> 72

Glu Asn Asp Met Ser Lys Asn Glu Pro Glu Ser Val Arg Lys Asn

1 5 10 15

<210> 73

<211> 20

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> 3-Alpha-71

<400> 73

Glu Asn Met His Glu Leu Gln Leu Gly Ser Thr Tyr Pro Asp Tyr Asp
1 5 10 15

Lys Asn Ala Tyr
20

<210> 74

<211> 20

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> 4-Alpha-81

<400> 74

Thr Tyr Pro Asp Tyr Asp Lys Asn Ala Tyr Asp Leu Tyr Gln Asp His
1 5 10 15

Phe Trp Asp Pro

20

<210> 75

<211> 20

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> 5-Alpha-91

<400> 75

Asp Leu Tyr Gln Asp His Phe Trp Asp Pro Asp Thr Asp Asn Asn Phe

1

5

10

15

Ser Lys Asp Asn

20

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> 6-Alpha-117

<400> 76

Ile Pro Asp Thr Gly Glu Ser Gln Ile Arg

1 5 10

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> 7-Alpha-136

<400> 77

Glu Trp Gln Arg Gly Asn Tyr Lys Gln Ala

1 5 10

<210> 78

<211> 23

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(23)

<223> 8-Alpha-158

<400> 78

Asp Ile Asp Thr Pro Tyr His Pro Ala Asn Val Thr Ala Val Asp Ser

1 5 10 15

Ala Gly His Val Lys Phe Glu

20

<210> 79

<211> 20

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> 9-Alpha-170

<400> 79

Val Asp Ser Ala Gly His Val Lys Phe Glu Thr Phe Ala Glu Glu Arg

1 5 10 15

Lys Glu Gln Tyr

20

<210> 80

<211> 20

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> 10-Alpha-181

<400> 80

Thr Phe Ala Glu Glu Arg Lys Glu Gln Tyr Lys Ile Asn Thr Ala Gly

1

5

10

15

Cys Lys Thr Asn

20

<210> 81

<211> 21

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(21)

<223> 11-Alpha-191

<400> 81

Lys Ile Asn Thr Val Gly Cys Lys Thr Asn Glu Asp Phe Tyr Ala Asp
1 5 10 15

Ile Leu Lys Asn Lys
20

<210> 82

<211> 20

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> 12-Alpha-200

<400> 82

Glu Asp Phe Tyr Ala Asp Ile Leu Lys Asn Lys Asp Phe Asn Ala Trp
1 5 10 15

Ser Lys Glu Tyr

20

<210> 83

<211> 20

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> 13-Alpha-210

<400> 83

Lys Asp Phe Asn Ala Trp Ser Lys Glu Tyr Ala Arg Gly Phe Ala Lys

1

5

10

15

Thr Gly Lys Ser

20

<210> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(17)

<223> 14-Alpha-220

<400> 84

Ala Arg Gly Phe Ala Lys Thr Gly Lys Ser Ile Tyr Tyr Ser His Ala

1 5 10 15

Ser

<210> 85

<211> 17

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(17)

<223> 15-Alpha-233

<400> 85

Ser His Ala Ser Met Ser His Ser Trp Asp Asp Trp Asp Tyr Ala Ala

1 5 10 15

Lys

<210> 86
<211> 20
<212> PRT
<213> Clostridium perfringens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(20)
<223> 16-Alpha-240

<400> 86

Ser	Trp	Asp	Asp	Trp	Asp	Tyr	Ala	Ala	Lys	Val	Thr	Leu	Ala	Asn	Ser
1				5					10					15	

Gln	Lys	Gly	Thr
			20

<210> 87
<211> 16
<212> PRT
<213> Clostridium perfringens

<220>
<221> misc_feature

<222> (1)..(16)

<223> 17-Alpha-270

<400> 87

Asp Val Ser Glu Gly Asn Asp Pro Ser Val Gly Asn Asn Val Lys Glu
1 5 10 15

<210> 88

<211> 12

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(12)

<223> 18-Alpha-291

<400> 88

Ser Thr Ser Gly Glu Lys Asp Ala Gly Thr Asp Asp
1 5 10

<210> 89

<211> 13

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(13)

<223> 19-Alpha-309

<400> 89

Lys Thr Lys Asp Gly Lys Thr Gln Glu Trp Glu Met Asp
1 5 10

<210> 90

<211> 21

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(21)

<223> 20-Alpha-320

<400> 90

Asp Asn Pro Gly Asn Asp Phe Met Ala Gly Ser Lys Asp Thr Tyr Thr
1 5 10 15

Phe Lys Leu Lys Asp
20

<210> 91
<211> 20
<212> PRT
<213> Clostridium perfringens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(20)
<223> 21-Alpha-330

<400> 91

Ser Lys Asp Thr Tyr Thr Phe Lys Leu Lys Asp Glu Asn Leu Lys Ile
1 5 10 15

Asp Asp Ile Gln
20

<210> 92
<211> 16
<212> PRT
<213> Clostridium perfringens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(16)
<223> 22-Alpha-354

<400> 92

Arg Lys Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Pro Asp Ala Tyr Lys Pro Glu Asn
1 5 10 15

<210> 93

<211> 19

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(19)

<223> 23-Alpha-379

<400> 93

Val Val Asp Lys Asp Ile Asn Glu Trp Ile Ser Gly Asn Ser Thr Tyr
1 5 10 15

Asn Ile Lys

<210> 94

<211> 215

<212> PRT

<213> Amazona aestiva

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(215)

<223> Protein nhóm di động cao B1

<400> 94

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu
195 200 205

Glu Asp Asp Asp Asp Asp Glu
210 215

<210> 95

<211> 213

<212> PRT

<213> Chlamydotis macqueenii

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(213)

<223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 95

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp
195 200 205

Glu Asp Asp Asp Asp

210

<210> 96

<211> 209

<212> PRT

<213> Tyto alba

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(209)

<223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 96

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr

1

5

10

15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro

20

25

30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp
 195 200 205

Glu

<210> 97
 <211> 209
 <212> PRT
 <213> Podiceps cristatus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(209)
 <223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 97

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
 1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
 20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro

65

70

75

80

Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Lys Asp Pro Asn Ala Pro Lys

85

90

95

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys

100

105

110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

145

150

155

160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala

165

170

175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp

180

185

190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu

195

200

205

Asp

<210> 98

<211> 206

<212> PRT

<213> Chaetura pelagic

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(206)

<223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 98

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr

1

5

10

15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu
195 200 205

<210> 99
<211> 206
<212> PRT
<213> Tauraco erythrolphus

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(206)
<223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 99

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu
195 200 205

<210> 100

<211> 203

<212> PRT

<213> Phaethon lepturus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(203)

<223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 100

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Asp Glu Glu Glu
195 200

<210> 101

<211> 201

<212> PRT

<213> Pterocles gutturalis

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(201)

<223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 101

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr

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

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Thr Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Asp Glu
195 200

<210> 102

<211> 200

<212> PRT

<213> *Gavia stellata*

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(200)

<223> Protein nhóm di động cao B1, một phần

<400> 102

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ser Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Leu Arg Tyr Glu Lys Glu Met Lys Asn Tyr Val Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Phe Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Val Asp Ala Gly Lys Lys Val Val Ala
165 170 175

Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys Lys Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp
180 185 190

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu
195 200

<210> 103

<211> 176

<212> PRT

<213> Nannospalax ehrenbergi

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(176)

<223> Protein nhóm di động cao

<400> 103

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Glu Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
165 170 175

<210> 104

<211> 176

<212> PRT

<213> Gekko japonicas

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(176)

<223> Protein nhóm di động cao B1

<400> 104

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg

35

40

45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Tyr Ile Pro

65

70

75

80

Pro Lys Gly Glu Thr Lys Lys Lys Phe Glu Asp Pro Asn Ala Pro Lys

85

90

95

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys

100

105

110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys

115

120

125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr

130

135

140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala

145

150

155

160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ala Lys Lys Gly Val Val
 165 170 175

<210> 105

<211> 175

<212> PRT

<213> Tupaia chinensis

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(175)

<223> Protein nhóm di động cao B1

<400> 105

Met Gly Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr
 1 5 10 15

Ala Phe Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro
 20 25 30

Asp Ala Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys Cys Ser Glu Arg
 35 40 45

Trp Lys Thr Met Ser Ala Lys Glu Lys Gly Lys Phe Glu Asp Met Ala

50

55

60

Lys Ala Asp Lys Ala His Tyr Glu Arg Glu Met Lys Thr Phe Ile Pro
65 70 75 80

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

Arg Pro Pro Ser Ala Phe Phe Leu Phe Cys Ser Glu Tyr Arg Pro Lys
100 105 110

Ile Lys Gly Glu His Pro Gly Leu Ser Ile Gly Asp Val Ala Lys Lys
115 120 125

Leu Gly Glu Met Trp Asn Asn Thr Ala Ala Asp Asp Lys Gln Pro Tyr
130 135 140

Glu Lys Lys Ala Ala Lys Leu Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala
145 150 155 160

Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys Pro Asp Ala Ser Lys Lys Gly Val
165 170 175

<210> 106

<211> 272

<212> PRT

<213> Gallus gallus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(272)

<223> CD154 của gà (Gallus gallus)

<400> 106

Met Asn Glu Ala Tyr Ser Pro Ala Ala Pro Arg Pro Met Gly Ser Thr
1 5 10 15

Ser Pro Ser Thr Met Lys Met Phe Met Cys Phe Leu Ser Val Phe Met
20 25 30

Val Val Gln Thr Ile Gly Thr Val Leu Phe Cys Leu Tyr Leu His Met
35 40 45

Lys Met Asp Lys Met Glu Glu Val Leu Ser Leu Asn Glu Asp Tyr Ile
50 55 60

Phe Leu Arg Lys Val Gln Lys Cys Gln Thr Gly Glu Asp Gln Lys Ser
65 70 75 80

Thr Leu Leu Asp Cys Glu Lys Val Leu Lys Gly Phe Gln Asp Leu Gln
85 90 95

Cys Lys Asp Arg Thr Ala Ser Glu Glu Leu Pro Lys Phe Glu Met His
100 105 110

Arg Gly His Glu His Pro His Leu Lys Ser Arg Asn Glu Thr Ser Val
115 120 125

Ala Glu Glu Lys Arg Gln Pro Ile Ala Thr His Leu Ala Gly Val Lys
130 135 140

Ser Asn Thr Thr Val Arg Val Leu Lys Trp Met Thr Thr Ser Tyr Ala
145 150 155 160

Pro Thr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr His Glu Gly Lys Leu Lys Val Glu
165 170 175

Lys Ala Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Val Ser Phe Cys Thr Lys
180 185 190

Ala Ala Ala Ser Ala Pro Phe Thr Leu Tyr Ile Tyr Leu Tyr Leu Pro
195 200 205

Met Glu Glu Asp Arg Leu Leu Met Lys Gly Leu Asp Thr His Ser Thr
210 215 220

Ser Thr Ala Leu Cys Glu Leu Gln Ser Ile Arg Glu Gly Gly Val Phe
225 230 235 240

Glu Leu Arg Gln Gly Asp Met Val Phe Val Asn Val Thr Asp Ser Thr
245 250 255

Ala Val Asn Val Asn Pro Gly Asn Thr Tyr Phe Gly Met Phe Lys Leu
260 265 270

<210> 107

<211> 261

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(261)

<223> CD154 của người Homo sapiens

<400> 107

Met Ile Glu Thr Tyr Asn Gln Thr Ser Pro Arg Ser Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Leu Pro Ile Ser Met Lys Ile Phe Met Tyr Leu Leu Thr Val Phe Leu
20 25 30

Ile Thr Gln Met Ile Gly Ser Ala Leu Phe Ala Val Tyr Leu His Arg
35 40 45

Arg Leu Asp Lys Ile Glu Asp Glu Arg Asn Leu His Glu Asp Phe Val
50 55 60

Phe Met Lys Thr Ile Gln Arg Cys Asn Thr Gly Glu Arg Ser Leu Ser
65 70 75 80

Leu Leu Asn Cys Glu Glu Ile Lys Ser Gln Phe Glu Gly Phe Val Lys
85 90 95

Asp Ile Met Leu Asn Lys Glu Glu Thr Lys Lys Glu Asn Ser Phe Glu
100 105 110

Met Gln Lys Gly Asp Gln Asn Pro Gln Ile Ala Ala His Val Ile Ser
115 120 125

Glu Ala Ser Ser Lys Thr Thr Ser Val Leu Gln Trp Ala Glu Lys Gly
130 135 140

Tyr Tyr Thr Met Ser Asn Asn Leu Val Thr Leu Glu Asn Gly Lys Gln
145 150 155 160

Leu Thr Val Lys Arg Gln Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr Ala Gln Val Thr
165 170 175

Phe Cys Ser Asn Arg Glu Ala Ser Ser Gln Ala Pro Phe Ile Ala Ser
180 185 190

Leu Cys Leu Lys Ser Pro Gly Arg Phe Glu Arg Ile Leu Leu Arg Ala
195 200 205

Ala Asn Thr His Ser Ser Ala Lys Pro Cys Gly Gln Gln Ser Ile His
210 215 220

Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser Val Phe Val Asn
225 230 235 240

Val Thr Asp Pro Ser Gln Val Ser His Gly Thr Gly Phe Thr Ser Phe
245 250 255

Gly Leu Leu Lys Leu
260

<210> 108
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(11)
<223> Một phần CD154 của người Homo sapiens

<400> 108

Trp Ala Glu Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Ser Cys
1 5 10

<210> 109
<211> 11
<212> PRT
<213> Gallus gallus

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(11)
<223> Peptit CD154 của gà Gallus gallus

<400> 109

Trp Met Thr Thr Ser Tyr Ala Pro Thr Ser Ser

1 5 10

<210> 110

<211> 10

<212> PRT

<213> Anas sp.

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> Peptit CD154 của vịt (Anas sp.)

<400> 110

Trp Asn Lys Thr Ser Tyr Ala Pro Met Asn

1 5 10

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus sp.

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> Peptit CD154 của chuột (Mus p.)

<400> 111

Trp Ala Lys Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Lys

1 5 10

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> Peptit CD154 của bò (Bos taurus)

<400> 112

Trp Ala Pro Lys Gly Tyr Tyr Thr Leu Ser

1 5 10

<210> 113

<211> 139

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: Chuỗi nặng, trình tự dẫn đầu
-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

<400> 113

Met Ala Val Leu Ala Leu Leu Leu Cys Leu Val Ala Phe Pro Ser Cys
1 5 10 15

Thr Leu Ser Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45

Thr Thr Tyr Asp Ile Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser
65 70 75 80

Ala Phe Met Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln
85 90 95

Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
100 105 110

Tyr Cys Val Arg Asp Arg Gly Tyr Tyr Val Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

130

135

<210> 114

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: chuỗi nhẹ, trình tự dẫn đầu

-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4

<400> 114

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln

1

5

10

15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser

20

25

30

Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp

35

40

45

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val

50

55

60

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
100 105 110

Met Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 115

<211> 264

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: axit amin

<400> 115

Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val
1 5 10 15

Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp
20 25 30

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Ser Ala

35

40

45

Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser

50

55

60

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu

65

70

75

80

Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly

85

90

95

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Ser Arg Ser Ser Leu

100

105

110

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr

115

120

125

Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

130

135

140

Tyr Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

145

150

155

160

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
165 170 175

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
180 185 190

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
195 200 205

Ala Arg Arg Gly Thr Gly Thr Val Val Phe Asp Tyr Trp Gly His Gly
210 215 220

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Thr
225 230 235 240

Ser Gly Gln Ala Gly Gln His His His His His His Gly Ala Tyr Pro
245 250 255

Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser
260

<210> 116

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: CDR1 chuỗi nặng

<400> 116

Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr Asp Ile Asn

1 5 10

<210> 117

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: CDR2 chuỗi nặng

<400> 117

Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Phe Met Ser

1 5 10 15

<210> 118

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng: CDR3 chuỗi nặng

<400> 118

Asp Arg Gly Tyr Tyr Val Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 119

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: CDR1 chuỗi nhẹ

<400> 119

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 120

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: CDR2 chuỗi nhẹ

<400> 120

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: CDR3 chuỗi nhẹ

<400> 121

Gln Gln Gly Asn Met Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 122

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: VH, CDR1

<400> 122

Asn Tyr Tyr Ile Tyr

1 5

<210> 123

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: VH, CDR2

<400> 123

Trp Ile Tyr Pro Gly Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 124

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: VH, CDR3

<400> 124

Arg Gly Thr Gly Thr Val Val Phe Asp Tyr Trp

1 5 10

<210> 125

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: VL, CDR1

<400> 125

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 126

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: VL, CDR2

<400> 126

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: VL, CDR3

<400> 127

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 128

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: AOXSeqF

<400> 128

gactggttcc aattgacaag c

21

<210> 129

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp: AOXSeqR

<400> 129

gcaaattggca ttctgacatc c

21