(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) **1-0052175**

(51)[2021.01] **A61K 39/235**; C07K 14/035; C12N 15/861; C07K 14/02

(13) **B**

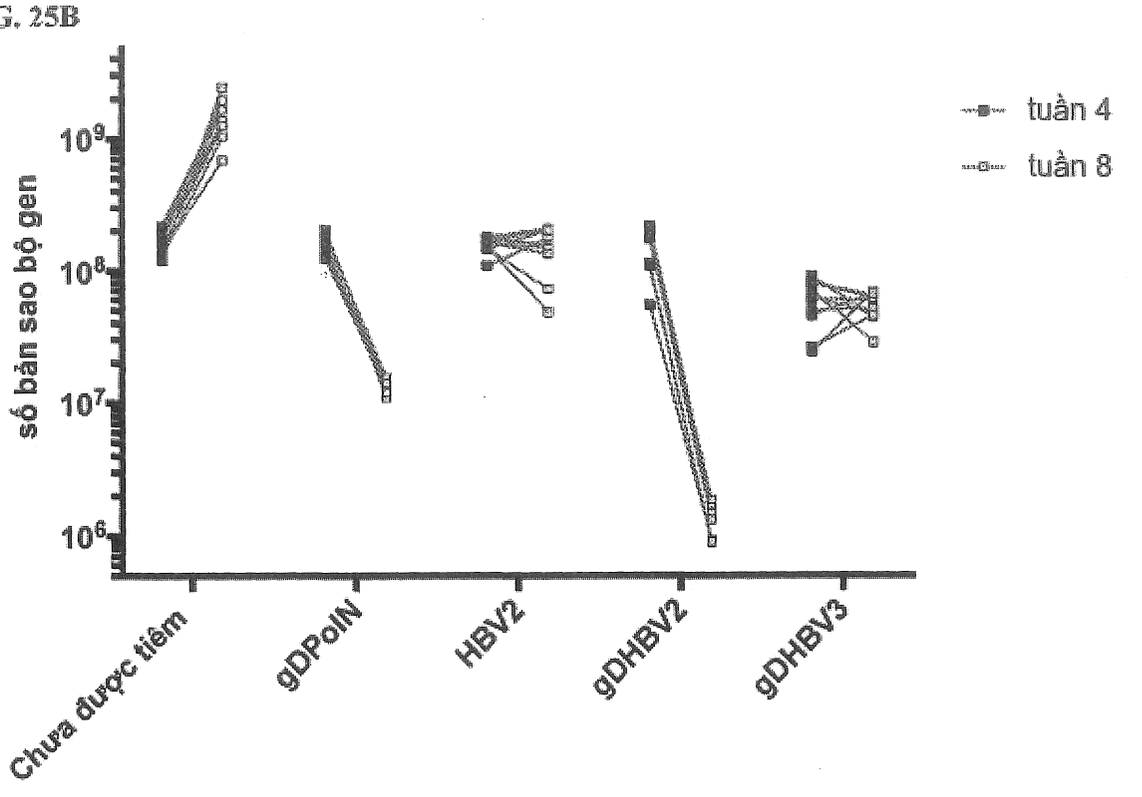
(21) 1-2022-04937
(22) 08/01/2021
(86) PCT/US2021/012630 08/01/2021
(87) WO 2021/142212 15/07/2021
(30) 62/958,809 09/01/2020 US; 62/958,827 09/01/2020 US; 62/967,104 29/01/2020 US; 62/967,242 29/01/2020 US; 63/064,506 12/08/2020 US; 63/064,571 12/08/2020 US; 63/112,202 11/11/2020 US; 63/112,219 11/11/2020 US
(45) 27/10/2025 451
(43) 25/05/2023 422A
(73) 1. VIRION THERAPEUTICS, LLC (US)
7 Creek Bend Court, Newark, Delaware 19711, United States of America
2. THE WISTAR INSTITUTE (US)
3601 Spruce Street, Philadelphia, Pennsylvania 19104, United States of America
(72) ERTL, Hildegund CJ (US); MAGOWAN, Colin Stephen (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC, VIRUT CHỨA PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC NÀY VÀ VẮC-XIN CHỨA VIRUT NÀY

(21) 1-2022-04937

(57) Sáng chế đề cập đến các biến thể không có trong tự nhiên của protein Core của virut viêm gan B (HBV), miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV, cũng như các đoạn gây miễn dịch của chúng. Sáng chế cũng đề cập đến các protein dung hợp bao gồm các biến thể HBV được dung hợp với trình tự glycoprotein (gD) của virut gây bệnh mụn giộp (herpes simplex virus - HSV), cũng như phương pháp sử dụng các protein dung hợp này.

FIG. 25B



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các biến thể không có trong tự nhiên của protein Core của virut viêm gan B (HBV), miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV, cũng như các đoạn gây miễn dịch của nó và các protein dung hợp chứa chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tổ chức Y tế thế giới ước tính rằng, năm 2015, 257 triệu người đang sống với bệnh nhiễm viêm gan B mạn tính (được định nghĩa là dương tính với kháng nguyên bề mặt viêm gan B) và viêm gan B dẫn đến 887.000 người chết được ước tính, hầu hết là do bệnh xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan (tức là, ung thư gan nguyên phát). Giả sử rằng phụ nữ trong độ tuổi sinh sản chiếm 25,3% dân số thế giới (dữ liệu của Liên hợp quốc), người lớn bị nhiễm bệnh mãn tính có thể bao gồm 65 triệu phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ mà có khả năng truyền HBV cho con của họ (Báo cáo viêm gan toàn cầu của WHO năm 2017. Có sẵn tại: apps_who_int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf;jsessionid=D78616700ED7322D4109CA4541FB94EA?sequence=1). Tỷ lệ mắc chung trong năm 2016 là 1,0 trường hợp trên 100.000 dân (Trung tâm Kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh. Viral Hepatitis Surveillance—United States, 2017. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2019. Có sẵn tại: www_cdc_gov/hepatitis/statistics/2017surveillance/index.htm.). Chỉ tính riêng trong năm 2017, Trung tâm Kiểm soát và Phòng ngừa Dịch bệnh (CDC - Centers for Disease Control and Prevention) đã báo cáo có tổng cộng 3.407 trường hợp mắc bệnh viêm gan B cấp tính.

Mặc dù đã có vắc-xin phòng ngừa HBV, gánh nặng của nhiễm HBV mãn tính tiếp tục là vấn đề y tế nghiêm trọng chưa được giải quyết trên toàn thế giới, do các lựa chọn điều trị chưa tối ưu và tỷ lệ nhiễm mới liên tục ở hầu hết các khu vực đang phát triển.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất protein Core của virut viêm gan B (HBV) bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Sáng chế cũng đề xuất miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó cũng được mô tả.

Các protein dung hợp bao gồm: trình tự glycoprotein (gD) của virut gây bệnh mụn giộp (herpes simplex virus - HSV) đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó; protein Core của HBV được mô tả, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV, hoặc các đoạn gây miễn dịch của nó; và trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó cũng được đề xuất.

Sáng chế cũng đề xuất các protein dung hợp bao gồm: trình tự glycoprotein (gD) của virut gây bệnh mụn giộp (herpes simplex virus - HSV) đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó; dạng kết hợp của protein Core của HBV được mô tả, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV, và/hoặc các đoạn gây miễn dịch của nó; và trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Các phân tử axit nucleic mã hóa các protein được mô tả hoặc các protein dung hợp, các vectơ bao gồm các phân tử axit nucleic, và vắc-xin bao gồm các vectơ được mô tả được mô tả ở đây.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV ở đối tượng, phương pháp bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng hữu hiệu của protein dung hợp được mô tả, các phân tử axit nucleic, các vectơ, hoặc vắc-xin bất kỳ để nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế, cũng như phần Mô tả chi tiết sáng chế sau, sẽ được hiểu rõ hơn khi được đọc kết hợp với các hình vẽ kèm theo. Với mục đích minh họa các protein, vắc-xin, và phương pháp được mô tả, các hình vẽ minh họa là các phương án được lấy làm ví dụ của protein, vắc-xin, và phương pháp; tuy nhiên, protein, vắc-xin, và phương pháp không bị giới hạn ở các phương án cụ thể được mô tả. Trong các hình vẽ:

Fig. 1 minh họa tần suất các axit amin Core được tối ưu hóa epitop. Các gốc axit amin được biểu thị trên trục X; tỷ lệ phần trăm trình tự tương tự trên tất cả bộ gen được phân tích được biểu thị trên trục Y.

Fig. 2A, Fig. 2B, Fig. 2C, Fig. 2D, Fig. 2E, và Fig. 2F minh họa tần suất tế bào T đặc hiệu cài xen vắc-xin ở chuột C57Bl/6 sau khi tiêm trong cơ (intramuscular - i.m.)

với các liều được chỉ định là: vectơ adenovirut khiếm khuyết về khả năng sao chép của kiểu huyết thanh tinh tinh 6 (AdC6) bao gồm trình tự Core được tối ưu hóa epitop được dung hợp di truyền vào gD (SEQ ID NO: 15) (AdC6-gDCore) (Fig. 2A và Fig. 2D); AdC6 bao gồm trình tự miền đầu tận cùng C của polymeraza được tối ưu hóa epitop được dung hợp di truyền vào gD (SEQ ID NO: 19) (AdC6-gDPolC) (Fig. 2B và Fig. 2E); và AdC6 bao gồm trình tự miền đầu tận cùng N của polymeraza được tối ưu hóa epitop được dung hợp di truyền vào gD (SEQ ID NO: 17) (AdC6-gDPolN) (Fig. 2C và Fig. 2F). Chuột được lấy máu 14 ngày sau khi tiêm và tần suất tế bào T đối với các trình tự cài xen HBV khác nhau được phân tích bằng cách nhuộm xytokin nội bào (ICS) đối với interferon (IFN)-γ khi kích thích các tế bào với các peptit chồng lên nhau biểu hiện các trình tự HBV. Các tế bào đối chứng được nuôi cấy mà không có peptit. Các đồ thị thể hiện các kết quả đối với các con chuột riêng biệt với các trung vị được chỉ ra bằng các đường. Fig. 2A-2C thể hiện tần suất tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu cài xen; Fig. 2D-2F thể hiện tần suất tế bào T $CD4^+$ đặc hiệu cài xen.

Fig. 3A, Fig. 3B, và Fig. 3C minh họa tần suất tế bào T ở các chủng chuột khác nhau (A: chuột C57Bl/6; B: chuột BALB/c; C: chuột chuyển gen (tg - transgenic) HLA-A2) với các phần gộp của peptit biểu hiện trình tự HBV được chỉ định. Kết quả thu được với tế bào lách được thu thập 4 tuần sau khi gây miễn dịch và được kiểm tra bằng ICS đối với IFN-γ. Peptit được sắp xếp ở các ma trận sao cho việc nhận diện của 2 phần gộp xác định một peptit. Các đồ thị thể hiện các đáp ứng với các phần gộp khác nhau; các đáp ứng với phần gộp bao gồm tất cả các peptit được thể hiện ở bên phải. Tần suất nền thu được mà không có các peptit bị trừ đi. Các phần gộp mà được cho là tạo ra đáp ứng và peptit được xác định trong đáp ứng với các phần gộp khác nhau được liệt kê ở cuối mỗi hình vẽ. Các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ và tế bào T $CD4^+$ được thể hiện đối với chuột BALB/c; các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ được thể hiện đối với chuột tg HLA-A2, mang phân tử MHC lớp I ở người nhưng mang phân tử MHC lớp II ở chuột. Các tế bào T được giám sát trên các tế bào $CD44^+$ được hoạt hóa. Mỗi "peptit" được đánh số liên tiếp bao gồm 15 axit amin bắt đầu từ axit amin thứ 1, 6, 11, v.v. của trình tự Core, PolN, hoặc PolC. Do đó, ví dụ, peptit 1 của Core tương ứng với axit amin 1-15 của SEQ ID NO: 6 (tức là trình tự axit amin Core được tối ưu hóa epitop), peptit 2 của Core tương ứng với axit amin 6-20 của SEQ ID NO: 6, peptit 3 của Core tương ứng với axit amin 11-25 của SEQ ID NO: 6, v.v. Tương tự, peptit 1 của PolN tương ứng với axit amin 1-15 của SEQ ID NO: 8 (tức là trình tự axit amin PolN được tối ưu hóa epitop), peptit 2 của PolN tương ứng với axit amin 6-20 của SEQ ID NO: 8, peptit 3 của PolN tương ứng

với axit amin 11-25 của SEQ ID NO: 8, v.v. Tương tự, peptit 1 của PolC tương ứng với axit amin 1-15 của SEQ ID NO: 10 (tức là trình tự axit amin PolC được tối ưu hóa epitop), peptit 2 của PolC tương ứng với axit amin 6-20 của SEQ ID NO: 10, peptit 3 của PolC tương ứng với axit amin 11-25 của SEQ ID NO: 10, v.v.

Fig. 4A, Fig. 4B và Fig. 4C thể hiện đáp ứng IFN-γ khi tăng cường với AdC6-gDCore (A), AdC6-gDPolC (B), và AdC6-gDPolN (C) ở chuột C57Bl/6 được gây miễn dịch bằng các liều khác nhau của các vectơ được chỉ định. Các đồ thị bên trái thể hiện các đáp ứng được kiểm tra từ máu 2 tuần sau khi mồi bằng vectơ AdC6. Chuột được tiêm tăng cường 8 tuần sau đó với cùng liều vectơ AdC7 biểu hiện cùng trình tự cài xen. Các đồ thị bên phải thể hiện các đáp ứng ở 2 tuần sau khi tiêm liều tăng cường trong máu.

Fig. 5A, Fig. 5B, và Fig. 5C minh họa tần suất tế bào T ở các chủng chuột khác nhau (A: chuột C57Bl/6; B: chuột BALB/c; C: chuột tg HLA-A2) với các phần gộp của peptit biểu hiện trình tự HBV được chỉ định. Chuột được mồi bằng vectơ AdC6 biểu hiện một trong 3 trình tự cài xen (tức là, Core, PolC, hoặc PolN) và được tiêm tăng cường 8 tuần sau đó với vectơ AdC7 biểu hiện cùng trình tự cài xen. Kết quả thu được với tế bào lách được thu thập 4 tuần sau khi gây miễn dịch và được kiểm tra bằng ICS đối với IFN-γ. Peptit được sắp xếp ở các ma trận sao cho việc nhận diện của 2 phần gộp xác định một peptit. Các đồ thị thể hiện các đáp ứng với các phần gộp khác nhau; các đáp ứng với phần gộp bao gồm tất cả các peptit được thể hiện ở bên phải. Tần suất nền thu được mà không có các peptit bị trừ đi. Các phần gộp mà được cho là tạo ra đáp ứng và peptit được xác định trong phản ứng với các phần gộp khác nhau được liệt kê ở dưới mỗi Fig.. Các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ và tế bào T $CD4^+$ được thể hiện đối với chuột BALB/c; các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ được thể hiện đối với chuột tg HLA-A2 mang phân tử MHC lớp I ở người nhưng mang phân tử MHC lớp II ở chuột. Các tế bào T được giám sát trên các tế bào $CD44^+$ được hoạt hóa. Mỗi "peptit" được đánh số liên tiếp bao gồm 15 axit amin bắt đầu từ axit amin thứ 1, 6, 11, v.v. của trình tự Core, PolN, hoặc PolC. Do đó, ví dụ, peptit 1 của Core tương ứng với axit amin 1-15 của SEQ ID NO: 6 (tức là trình tự axit amin Core được tối ưu hóa epitop), peptit 2 của Core tương ứng với axit amin 6-20 của SEQ ID NO: 6, peptit 3 của Core tương ứng với axit amin 11-25 của SEQ ID NO: 6, v.v. Tương tự, peptit 1 của PolN tương ứng với axit amin 1-15 của SEQ ID NO: 8 (tức là trình tự axit amin PolN được tối ưu hóa epitop), peptit 2 của PolN tương ứng với axit amin 6-20 của SEQ ID NO: 8, peptit 3 của PolN tương ứng với axit amin 11-25 của SEQ ID NO: 8, v.v. Tương tự, peptit 1 của PolC tương ứng với axit amin 1-15 của SEQ ID NO: 10 (tức là trình tự axit amin PolC được tối ưu hóa epitop),

peptit 2 của PolC tương ứng với axit amin 6-20 của SEQ ID NO: 10, peptit 3 của PolC tương ứng với axit amin 11-25 của SEQ ID NO: 10, v.v.

Fig. 6 minh họa tác dụng của việc chủng ngừa trên số lượng bản sao bộ gen HBV trong huyết thanh khi thử AAV-1.3HBV. Nhóm 3 con chuột được thử bằng $1x10^{10}$, $1x10^{11}$ hoặc $1,5x10^{11}$ bộ gen virut (vg - virus genome) của 8 vectơ (AAV8)-1.3HBV của virut liên quan đến adeno và 8 tuần sau đó được tiêm bằng AdC6-gDPolN. Các hiệu giá virut được kiểm tra 8 tuần sau khi chủng ngừa và được so sánh với hiệu giá trước khi chủng ngừa. Sự thay đổi của virut từ đường chuẩn đối với mỗi nhóm điều trị được thể hiện.

Fig. 7A, Fig. 7B, Fig. 7C, Fig. 7D, và Fig. 7E minh họa các thí nghiệm dịch chuyển epitop HBV được làm ví dụ. Fig. 7A - chuột được gây miễn dịch bằng vắc-xin AdC6-gDPolN. Bốn tuần sau đó tế bào lách được kiểm tra bằng cách nhuộm xytokin nội bào đối với đáp ứng IFN-γ với các phần gộp peptit đại diện cho trình tự PolN. Các tế bào T sau khi kích thích được nhuộm để lấy các dấu hiệu tế bào T. Fig. 7B - các kết quả thu được với cùng thử nghiệm bằng cách sử dụng tế bào lách từ chuột đã được thử bằng $1x10^{10}$ vg AAV8-1.3-HBV. Chuột được tiêm 4 tuần sau đó và các đáp ứng tế bào T được kiểm tra từ lá lách 10 tuần sau đó. Fig. 7C - các kết quả thu được với cùng thử nghiệm bằng cách sử dụng tế bào lách từ chuột đã được thử bằng $1,5x10^{11}$ vg AAV8-1.3-HBV. Chuột được tiêm 4 tuần sau đó và các đáp ứng tế bào T được kiểm tra từ lá lách 10 tuần sau đó. Fig. 7A, 7B, và 7C thể hiện tần suất IFN-γ tạo ra các tế bào T $CD44^+CD8^+$ trên tất cả các tế bào T $CD44^+CD8^+$. Các đáp ứng nền thu được bằng các tế bào lách được ủ mà không có các phần gộp peptit được trừ đi. Fig. 7D - các phần gộp peptit. Fig. 7E – Các trình tự peptit riêng biệt. Fig. 7E mô tả các SEQ ID NO: 55-68 và 189-233, tương ứng, theo thứ tự xuất hiện.

Fig. 8A, Fig. 8B, và Fig. 8C thể hiện dữ liệu từ cùng thí nghiệm được mô tả ở trên trên Fig. 7. Dựa trên các đáp ứng với các phần gộp peptit, người ta đã xác định được các peptit riêng biệt (cả phần gộp và peptit được thể hiện trên Fig. 7) là dương tính. Các đồ thị thể hiện các đáp ứng với tất cả các peptit. Mỗi peptit có mặt ở hai phần gộp và do đó hai giá trị đối với tần suất thu được đối với mỗi peptit; chỉ các điểm dữ liệu thấp hơn được thể hiện trên Fig. này.

Fig. 9A, Fig. 9B, và Fig. 9C minh họa các kết quả từ các thí nghiệm khả năng sinh miễn dịch làm ví dụ được thực hiện trên chuột C57Bl/6 (n=5 mỗi nhóm) được tiêm bằng các liều khác nhau của các vectơ AdC6-gDCore, AdC6-gDPolN, hoặc AdC6-gDPolC làm ví dụ và được tiêm tăng cường với vectơ AdC7 bao gồm cùng trình tự cài xen (tức là AdC7-gDCore, AdC7-gDPolN, hoặc AdC7-gDPolC các vectơ) hai tháng sau

liều tiêm thứ nhất. Fig. 9A minh họa khả năng sinh miễn dịch kháng nguyên, Fig. 9B minh họa khoảng thời gian đáp ứng, và Fig. 9C minh họa đáp ứng cơ bản-tăng cường.

Fig. 10 minh họa việc nhận diện peptit tế bào T $CD8^+$ của PolN epitop ở chuột chuyển gen BALB/c, C57Bl/6, và HLA-A2 sau khi chủng ngừa bằng liều cơ bản của AdC6-gDPolN và liều tăng cường của AdC7-gDPolN. Việc nhận diện peptit tế bào T CD8+ được tính là phần của các peptit dương tính được nhận diện hai tuần sau liều cơ bản hoặc liều tăng cường theo tổng số lượng 8 peptit chồng lên nhau từ PolN (tổng số 59 peptit).

Fig. 11A và Fig. 11B minh họa đáp ứng tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu với HBV gây ra bởi vắc-xin trong gan của chuột C57Bl/6 được tiêm bằng các vectơ được chỉ định. * giá trị p nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,05; *** giá trị p nằm trong khoảng từ 0,0001 đến 0,001; qua phân tích ANOVA một chiều.

Fig. 12A, Fig. 12B, Fig. 12C, Fig. 12D, Fig. 12E, và Fig. 12F minh họa việc nhuộm hematoxylin và eosin của các mẫu gan từ chuột C57Bl/6 được tiêm bằng các vectơ được chỉ định. Độ khuếch đại 20x. Các mũi tên chỉ các vùng thâm nhiễm tế bào lympho.

Fig. 13A và Fig. 13B minh họa chất đánh dấu gây ra bởi vắc-xin của sự hoạt hóa/sự cạn kiệt tế bào T $CD8^+$ trong gan của chuột C57Bl/6 được tiêm bằng các vectơ được chỉ định. ** giá trị p nằm trong khoảng từ 0,001 đến 0,01; *** giá trị p nằm trong khoảng từ 0,0001 đến 0,001; qua phân tích ANOVA một chiều.

Fig. 14A và Fig. 14B minh họa động lực học của virut HBV ở chuột C57Bl/6 được tiêm bằng vectơ AdC6-gDPolN làm ví dụ. ADN của HBV VL/ml trung bình ở tuần 4 - 7,3 log10 cps/mL được đề xuất. n=7; một con chuột bị loại trừ vì mất dữ liệu.

Fig. 15A và Fig. 15B minh họa tác động của HBV gây ra bởi AAV trên các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ ở chuột C57Bl/6 được tiêm lần thứ nhất với 10^{10} hoặc 10^{11} vg AAV-1.3HBV và sau đó bốn tuần sau đó được tiêm tăng cường với 10^{10} vp vectơ AdC6-gDPolN làm ví dụ. Trên Fig. 15B, mỗi lát là epitop riêng biệt với kích cỡ thể hiện tỷ lệ của tổng số; chỉ các đáp ứng > 0,1% được bao gồm. Các vết kéo ra là epitop chỉ được nhận diện ở con chuột bị nhiễm AAV8-1.3HBV.

Fig. 16 minh họa tần suất tế bào T CD8+ tạo ra IFN-γ đối với chuột C57Bl/6 riêng biệt được tiêm trong tĩnh mạch (i.v.) với 10^{10} vg vectơ AAV8-1.3HBV, được tiêm 4 tuần sau đó với $5x10^9$ vp vectơ AdC6-gDPolN, và được tiêm tăng cường 2 tháng sau đó với cùng liều vắc-xin AdC7-gDPolN. Chuột đối chứng chỉ được nhận vắc-xin. Các con chuột nguyên thể được đóng vai trò làm các đối chứng bổ sung.

Fig. 17A và Fig. 17B minh họa: A) % của các tế bào T $CD8^+$ trong vùng thâm nhiễm bạch huyết của gan của các con chuột riêng biệt; và B) tần suất của các tế bào T PolN-$tetrame^+CD8^+$ trong cùng vùng thâm nhiễm. Chuột C57Bl/6 được tiêm trong tĩnh mạch với 10^{10} hoặc 10^{11} vg vectơ AAV8-1.3HBV, được tiêm 4 tuần sau đó với $5x10^9$ vp vectơ AdC6-gDPolN, và được tiêm tăng cường 2 tháng sau đó với cùng liều vắc-xin AdC7-gDPolN. Chuột đối chứng chỉ được nhận vắc-xin. Các con chuột nguyên thể được đóng vai trò làm các đối chứng bổ sung.

Fig. 18A, Fig. 18B, Fig. 18C, Fig. 18D, Fig. 18E, và Fig. 18F minh họa các kiểu hình của các tế bào T $tetrame^+CD8^+$ thâm nhiễm so với các tế bào T chưa được xử lý (tức là, $tetrame^-CD44^-$ $CD8^+$) được phân tích với cường độ huỳnh quang trung bình (MFI - mean fluorescent intensity) của các chất đánh dấu được chỉ định. Các đường có dấu sao ở trên chỉ ra các khác biệt đáng kể bằng phép thử t-test đa biến (multiple t-test). (*) $p \leq 0,05$-$0,01$, (**) $p \leq 0,01$-$0,001$, (***) $p \leq 0,001$-$0,0001$, (****) $p \leq 0,0001$.

Fig. 19A, Fig. 19B, Fig. 19C, Fig. 19D, Fig. 19E, và Fig. 19F minh họa tỷ lệ phần trăm của các tế bào T Tet^+ hoặc CD8+ nguyên thể chưa được xử lý dương tính đối với các chất đánh dấu được chỉ định. Các đường có dấu sao ở trên chỉ ra các khác biệt đáng kể bằng t-test đa biến. (*) $p \leq 0,05$-$0,01$, (**) $p \leq 0,01$-$0,001$, (***) $p \leq 0,001$-$0,0001$, (****) $p \leq 0,0001$.

Fig. 20A, Fig. 20B, Fig. 20C, Fig. 20D, Fig. 20E, và Fig. 20F minh họa tế bào T $CD8^+$ đáp ứng với các peptit riêng biệt kéo dài trình tự PolN. Tổng số phần gộp – đáp ứng với các hỗn hợp của tất cả các peptit PolN; các đáp ứng của các con chuột nguyên thể với các hỗn hợp của tất cả các peptit PolN. Fig. 20A và Fig. 20D thể hiện các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ của chuột chỉ nhận vắc-xin AdC6-gDPolN. Fig. 20B và Fig. 20E thể hiện các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ của chuột được tiêm bằng 10^{10} vg AAV8-1.3HBV 4 tuần trước khi chủng ngừa bằng AdC6-gDPolN. Fig. 20C và Fig. 20F thể hiện các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ của chuột được tiêm bằng 10^{11} vg AAV8-1.3HBV 4 tuần trước khi chủng ngừa bằng AdC6-gDPolN. Fig. 20A, 20B và 20C có thể được sử dụng để tính độ rộng của đáp ứng miễn dịch bằng epitop riêng biệt bằng cách sử dụng các phần gộp peptit được thể hiện trên Fig. 7D và các trình tự peptit riêng biệt được nhận diện bằng cách sử dụng Fig. 7E.

Fig. 21A và Fig. 21B minh họa các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN trong lá lách hoặc gan của chuột. Ô bên trái của Fig. 21A thể hiện các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ trong lá lách của con chuột được tiêm AAV8-1.3HBV đã nhận hoặc không nhận vắc-xin AdC6-gDPolN ở $5x10^{10}$ vp sau đó. Ô giữa của Fig. 21A thể hiện tần suất tế bào T $CD8^+$ trong gan của chuột được điều trị bằng các liều khác nhau của AAV8-1.3HBV và sau

đó được nhận vắc-xin trong phác đồ tiêm cơ bản tăng cường. Ô bên phải của Fig. 21A thể hiện các mức độ biểu hiện của Tox-1 trong các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN hoặc các tế bào T $CD8^+$ nguyên thể chưa được xử lý từ cùng thí nghiệm. Fig. 21B minh họa % tế bào T IFN-γ^+CD8^+.

Fig. 22A và Fig. 22B minh họa A) tần suất tế bào T $CD8^+$ trong máu của chuột được tiêm bằng các vectơ AdC6 được chỉ định; và B) tần suất của các tế bào T tetrame$^+CD8^+$.

Fig. 23 minh họa tần suất tế bào T $CD8^+$ trong máu của chuột được tiêm bằng các vectơ AdC7 được chỉ định.

Fig. 24A, Fig. 24B, Fig. 24C, Fig. 24D, Fig. 24E, và Fig. 24F minh họa tần suất tế bào T $CD8^+$ (Fig. 24A-Fig. 24C) và $CD4^+$ (Fig. 24D-Fig. 24F) đối với các trình tự cài xen gDHBV2 và gDHBV3 trong máu của chuột được tiêm bằng các vectơ AdC7 được chỉ định ("sau liều cơ bản") và sau đó được tiêm tăng cường với vectơ AdC6 tương ứng ("sau liều tăng cường"). Các đồ thị thể hiện tần suất của các tế bào T tạo ra IFN-γ, tần suất của các tế bào T tạo ra TNF-α, và tổng tần suất của các tế bào T tạo ra xytokin.

Fig. 25A và Fig. 25B minh họa hiệu giá virut ADN HBV ở chuột C57Bl/6 được thử bằng $1x10^9$ vg AAV8-1.3HBV và được tiêm 4 tuần sau đó với $1x10^{10}$ vp AdC6-gDPolN ("gDPolN"), AdC6-gDHBV2 ("gDHBV2"), AdC6-gDHBV3 ("gDHBV3"), hoặc AdC6-HBV2 mà không có gD ("HBV2"); các con chuột được lây nhiễm AAV, không được tiêm ("nguyên thể"), và các con chuột không được lây nhiễm AAV, không được tiêm (dữ liệu không được thể hiện) được dùng làm mẫu đối chứng. Fig. 25A minh họa hiệu giá virut đối với mỗi nhóm ở tuần 4 và 8 sau khi thử AAV; Fig. 25B minh họa các kết quả của các con chuột riêng biệt ở tuần 4 và 8 sau khi thử AAV.

Fig. 26A, Fig. 26B, Fig. 26C, và Fig. 26D minh họa tỷ lệ phần trăm của IFN-γ và/hoặc TNF-α bố mẹ tạo ra các tế bào T $CD8^+$ (Fig. 26A), tế bào T $CD44^+CD8^+$ (Fig. 26B), tế bào T $CD4^+$ (Fig. 26C) hoặc tế bào T $CD44^+CD4^+$ (Fig. 26D) hai và tám tuần sau liều cơ bản và hai và bốn tuần sau liều tăng cường (dưới dạng trung bình) bằng cách sử dụng cấu trúc được chỉ định.

Fig. 27A, Fig. 27B, và Fig. 27C minh họa các tế bào T $CD8^+$ ở nhiều thời điểm: bốn tuần sau liều cơ bản (Fig. 27A); hai tuần sau liều tăng cường (Fig. 27B); và bốn tuần sau liều tăng cường (Fig. 27C) với các cấu trúc được chỉ định (PolN = gDPolN; HBV2 = gDHBV2; HBV3 = gDHBV3). Đồ thị thể hiện toàn bộ tần suất của các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ^+ như được đánh giá bằng ICS.

Fig. 28A, Fig. 28B, và Fig. 28C minh họa các tế bào T $CD4^+$ tạo ra xytokin ở nhiều thời điểm: bốn tuần sau liều cơ bản (Fig. 28A); hai tuần sau liều tăng cường (Fig. 28B); và bốn tuần sau liều tăng cường (Fig. 28C) với các cấu trúc được chỉ định (PolN = gDPolN; HBV2 = gDHBV2; HBV3 = gDHBV3) như được đánh giá bằng ICS. Đường nét đứt chỉ ra giới hạn đối với các đáp ứng dương tính, dựa trên các kết quả từ chuột nguyên thể.

Fig. 29A và Fig. 29B minh họa các kết quả của việc nhuộm tetrame được giám sát trên một trong hai tế bào T $CD8^+$ (Fig. 29A) hoặc tế bào T $CD44^+CD8^+$ (Fig. 29B) ở bốn tuần sau liều cơ bản với cấu trúc được chỉ định (PolN = gDPolN; HBV2 = gDHBV2).

Fig. 30A, Fig. 30B, Fig. 30C, Fig. 30D, Fig. 30E, và Fig. 30F minh họa các kiểu hình của các tế bào T $tetrame^+$ $CD8^+$ được thể hiện dưới dạng cường độ huỳnh quang trung bình của thuốc nhuộm được liên kết với kháng thể được chỉ định: Fig. 30A - kháng thể kháng PD1 được liên hợp với BV605; Fig. 30B - kháng thể kháng LAG3 được liên hợp với BV650; Fig. 30C - kháng thể kháng TIM3 được liên hợp với Pe-Cy7-A; Fig. 30D - kháng thể kháng CTLA4 được liên hợp với PE-A; Fig. 30E - kháng thể kháng EOMES được liên hợp với AF488; và Fig. 30F - kháng thể kháng T-bet được liên hợp với BV786.

Fig. 31 minh họa đáp ứng tế bào T $CD8^+$ sau khi tiêm liều cơ bản $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV2, tiếp theo là chủng ngừa hai tháng sau bằng $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV2. Các số trên trục X tương ứng với SEQ ID NO như được đề xuất ở đây.

Fig. 32 minh họa các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ sau khi tiêm liều cơ bản bằng $5x10^9$ vp AdC7-gDHBV2, tiếp theo là chủng ngừa hai tháng sau bằng $5x10^9$ vp AdC6-gDHBV2. Các số trên trục X tương ứng với SEQ ID NO như được đề xuất ở đây.

Fig. 33 thể hiện khả năng sinh miễn dịch sau khi tiêm liều cơ bản bằng $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV3, tiếp theo là chủng ngừa hai tháng sau bằng $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV3. Các số trên trục X tương ứng với SEQ ID NO như được đề xuất ở đây.

Fig. 34 minh họa khả năng sinh miễn dịch của vắc-xin AdC6-gDHBV2 và AdC7-gDHBV2 tương ứng với SEQ ID NO (trục X) như được đề xuất ở đây. Các vùng Core, PolC, và PolN ở cả hai cấu trúc HBV2 có tính sinh miễn dịch.

Fig. 35 minh họa khả năng sinh miễn dịch của vắc-xin AdC6-gDHBV3 và AdC7-gDHBV3 tương ứng với SEQ ID NO (trục X) như được đề xuất ở đây. Các vùng Core, PolC, và PolN ở cả hai cấu trúc HBV3 có tính sinh miễn dịch.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các protein, vắc-xin, và phương pháp được mô tả có thể được hiểu dễ dàng hơn bằng cách tham chiếu đến phần mô tả chi tiết sáng chế sau đây được thực hiện liên quan đến các hình vẽ kèm theo, tạo thành một phần của sáng chế này. Cần hiểu rằng các protein, vắc-xin, và phương pháp được mô tả không bị giới hạn ở các protein, vắc-xin, và phương pháp cụ thể được mô tả và/hoặc được thể hiện ở đây, và rằng thuật ngữ được sử dụng ở đây là nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể chỉ bằng cách làm ví dụ và không nhằm giới hạn protein, vắc-xin, và các phương pháp được yêu cầu bảo hộ.

Trừ khi có quy định khác, phần mô tả bất kỳ về cơ chế hoặc phương thức tác động hoặc lý do cải thiện chỉ nhằm mục đích minh họa, và các protein, vắc-xin, và phương pháp được mô tả không bị ràng buộc bởi tính đúng hoặc không đúng của cơ chế hoặc phương thức tác động hoặc lý do cải thiện bất kỳ được đề xuất như vậy.

Trong toàn bộ bản mô tả này, phần mô tả đề cập đến protein và các phương pháp sử dụng protein này. Trong trường hợp sáng chế mô tả hoặc yêu cầu bảo hộ dấu hiệu hoặc phương án liên quan đến protein, thì dấu hiệu hoặc phương án này có thể áp dụng được tương tự với các phương pháp sử dụng protein này. Tương tự, trong trường hợp sáng chế mô tả hoặc yêu cầu bảo hộ dấu hiệu hoặc phương án liên quan đến phương pháp sử dụng protein, thì dấu hiệu hoặc phương án này có thể áp dụng được tương tự với protein.

Khi một phạm vi các giá trị số được đề cập hoặc thiết lập ở đây, phạm vi đó bao gồm các điểm cuối của phạm vi đó và tất cả các số nguyên và phân số riêng lẻ trong phạm vi đó, và cũng bao gồm mỗi phạm vi hẹp hơn trong phạm vi đó được tạo thành bởi tất cả các kết hợp có thể khác nhau của các điểm cuối đó và các số nguyên và phân số nội bộ để tạo thành các nhóm con của nhóm giá trị lớn hơn trong phạm vi đã nêu ở cùng mức độ như thể mỗi phạm vi hẹp hơn đó được đề cập rõ ràng. Khi một phạm vi các giá trị số được nêu ở đây lớn hơn một giá trị đã nêu, thì phạm vi đó vẫn hữu hạn và bị giới hạn ở đầu trên của nó bởi một giá trị có thể hoạt động trong bối cảnh của sáng chế như được mô tả ở đây. Khi một phạm vi các giá trị số được nêu ở đây nhỏ hơn một giá trị đã nêu, phạm vi đó vẫn bị giới hạn ở đầu dưới của nó bởi một giá trị khác không. Người ta không dự định rằng phạm vi của sáng chế sẽ bị giới hạn ở các giá trị cụ thể được nêu khi xác định một phạm vi. Tất cả các phạm vi đều bao gồm và có thể kết hợp.

Khi các giá trị được biểu thị dưới dạng xấp xỉ, bằng cách sử dụng từ "khoảng" đứng trước, có thể hiểu rằng giá trị cụ thể tạo thành một phương án khác. Việc tham chiếu đến một giá trị số cụ thể bao gồm ít nhất giá trị cụ thể đó, trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ ràng là khác.

Cần hiểu rằng một số dấu hiệu nhất định của các protein, vắc-xin và phương pháp được bộc lộ, để rõ ràng, được mô tả ở đây trong ngữ cảnh của các phương án riêng biệt, cũng có thể được đề xuất kết hợp trong một phương án duy nhất. Ngược lại, các dấu hiệu khác nhau của các protein, vắc-xin và phương pháp được bộc lộ, để ngắn gọn, được mô tả trong ngữ cảnh của một phương án duy nhất, cũng có thể được đề xuất riêng biệt hoặc trong dạng kết hợp phụ bất kỳ.

Như được sử dụng ở đây, các danh từ dạng số ít "một" bao gồm cả nghĩa số nhiều.

Nhiều thuật ngữ khác nhau liên quan đến các khía cạnh của phần mô tả được sử dụng trong toàn bộ bản mô tả và yêu cầu bảo hộ. Các thuật ngữ này có nghĩa thông thường trong lĩnh vực này trừ khi có quy định khác. Các thuật ngữ được xác định cụ thể khác được hiểu theo cách phù hợp với các định nghĩa được đưa ra ở đây.

Như được sử dụng ở đây, "đoạn gây miễn dịch của nó" dùng để chỉ phần Core của HBV được mô tả, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV (PolN), hoặc miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV (PolC) có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch ở đối tượng.

Như được sử dụng ở đây, "việc cung cấp cho đối tượng" và các thuật ngữ tương tự chỉ quy trình mà theo đó các protein dung hợp, các phân tử axit nucleic, các vectơ, hoặc các vắc-xin được phân phối đến đối tượng sao cho các tế bào, các mô, hoặc các đoạn đích của cơ thể đối tượng được tiếp xúc với các protein dung hợp, các phân tử axit nucleic, các vectơ, hoặc các vắc-xin. "Việc cung cấp cho đối tượng" bao gồm các đường dùng ngoài đường phân cắt và không phải ngoài đường phân cắt.

Thuật ngữ "sản phẩm tương tự sinh học" (của sản phẩm tham chiếu/dược chất sinh học đã được phê duyệt, tức là dược chất được liệt kê tham khảo) đề cập đến sản phẩm sinh học có độ tương tự cao với sản phẩm tham chiếu, bất kể có sự khác biệt nhỏ về các thành phần không có hoạt tính lâm sàng, và không có sự khác biệt có ý nghĩa lâm sàng giữa sản phẩm tương tự sinh học và sản phẩm tham chiếu về độ an toàn, độ tinh khiết và hiệu lực, dựa trên dữ liệu thu được từ (a) các nghiên cứu phân tích chứng minh rằng sản phẩm sinh học có độ tương tự cao với sản phẩm tham chiếu bất kể có sự khác biệt nhỏ về các thành phần không có hoạt tính lâm sàng; (b) các nghiên cứu trên động vật (bao gồm đánh giá độc tính); và/hoặc (c) một hoặc nhiều nghiên cứu lâm sàng (bao gồm đánh giá tính sinh miễn dịch và dược động học hoặc dược lực học) đủ để chứng minh độ an toàn, độ tinh khiết, và hiệu lực trong một hoặc nhiều điều kiện sử dụng thích hợp để sản phẩm tham chiếu được cấp phép và được dự định để được sử dụng và để yêu cầu cấp giấy phép cho sản phẩm tương tự sinh học. Sản phẩm tương tự sinh học có thể là sản phẩm có thể thay thế cho nhau mà có thể được thay thế cho sản phẩm tham chiếu ở lĩnh vực dược phẩm mà không có sự can thiệp của chuyên gia chăm sóc sức khỏe quy

định. Để đáp ứng tiêu chuẩn bổ sung của "có thể thay thế cho nhau," sản phẩm tương tự sinh học được mong đợi tạo ra cùng kết quả lâm sàng như sản phẩm tham chiếu ở bệnh nhân nhất định bất kỳ và, nếu sản phẩm tương tự sinh học được dùng nhiều hơn một lần cho cá thể thì rủi ro về độ an toàn hoặc giảm hiệu quả của việc thay đổi hoặc việc chuyển đổi giữa việc sử dụng sản phẩm tương tự sinh học và sản phẩm tham chiếu không lớn hơn rủi ro của việc sử dụng sản phẩm tham chiếu mà không có thay đổi hoặc chuyển đổi này. Sản phẩm tương tự sinh học sử dụng cùng cơ chế tác động đối với các điều kiện sử dụng được đề xuất với phạm vi cơ chế là đã biết đối với sản phẩm tham chiếu. Điều kiện hoặc các điều kiện sử dụng được quy định, được khuyến cáo, hoặc được đề nghị trong việc đánh dấu được đưa ra đối với sản phẩm tương tự sinh học đã được chấp thuận trước đó đối với sản phẩm tham chiếu. Đường dùng, dạng liều, và/hoặc độ mạnh của sản phẩm tương tự sinh học là tương tự với đường dùng, dạng liều, và/hoặc độ mạnh của sản phẩm tham chiếu và sản phẩm tương tự sinh học được sản xuất, được chế biến, được đóng gói hoặc được lưu giữ trong thiết bị đáp ứng các tiêu chuẩn được thiết kế để đảm bảo rằng sản phẩm tương tự sinh học tiếp tục an toàn, tinh khiết và hiệu quả. Sản phẩm tương tự sinh học có thể bao gồm các biến đổi nhỏ trong trình tự axit amin khi được so sánh với sản phẩm tham chiếu, chẳng hạn như các cắt cụt đầu tận cùng N hoặc C mà không được kỳ vọng sẽ thay đổi hiệu suất sản phẩm tương tự sinh học. Các sản phẩm tương tự sinh học của các protein được mô tả và các protein dung hợp nằm trong phạm vi của sáng chế.

Thuật ngữ "đối tượng" như được sử dụng ở đây được dự định có nghĩa là động vật bất kỳ, cụ thể là động vật có vú. Mặc dù việc gây ra đáp ứng miễn dịch ở chuột được lấy ví dụ ở đây, nhưng loại động vật có vú bất kỳ có thể được điều trị bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả. Do đó, các phương pháp có thể áp dụng cho người và các động vật không phải là người, mặc dù tốt hơn là được sử dụng với chuột và người, và tốt nhất là với người.

Thuật ngữ "bao gồm" được dự định để bao gồm các ví dụ được bao hàm bởi các thuật ngữ "về cơ bản bao gồm" và "bao gồm"; tương tự, thuật ngữ "về cơ bản bao gồm" được dự định để bao gồm các ví dụ được bao hàm bởi thuật ngữ "bao gồm".

Các chữ viết tắt sau đây được sử dụng ở đây: virut viêm gan B (HBV); adenovirut (Ad); virut gây bệnh mụn giộp (herpes simplex virus - HSV); glycoprotein (gD); và bộ gen virut (vg).

Sáng chế đề xuất biến thể của protein Core của virut viêm gan B (HBV) không có trong tự nhiên. Protein Core của HBV được mô tả có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Các đoạn gây miễn dịch làm

ví dụ của SEQ ID NO: 6 bao gồm các SEQ ID NO: 20-54 được đề xuất trong bảng 3, bên dưới. Theo một số phương án, đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180. Theo một số phương án, đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183.

Các phân tử axit nucleic mã hóa protein Core của HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó cũng được đề cập. Phân tử axit nucleic có thể mã hóa protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7. Các phân tử axit nucleic có thể mã hóa các đoạn Core được đề xuất trong bảng 3. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183.

Các vectơ bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa protein Core của HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó cũng được đề cập. Các vectơ thích hợp bao gồm các vectơ virut, chẳng hạn như vectơ lentivirut, vectơ retrovirut, vectơ adenovirut, vectơ virut liên quan đến adeno, đơn vị sao chép alphavirut, vectơ virut gây bệnh mụn giộp, vectơ virut gây bệnh đậu mùa, và vectơ rhabdovirut. Theo một số phương án, vectơ virut là vectơ adenovirut. Vectơ adenovirut có thể là vectơ adenovirut có nguồn gốc tinh tinh. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC68 như được mô tả trong Farina SF, Gao GP, Xiang ZQ, Rux JJ, Burnett RM, Alvira MR, Marsh J, Ertl HC, Wilson JM. "Replication-defective vector based on a chimpanzee adenovirus." *J Virol.* 2001 Dec; 75(23):11603-13. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7 như được mô tả trong Reyes-Sandoval A, Fitzgerald JC, Grant R, Roy S, Xiang ZQ, Li Y, Gao GP, Wilson JM, Ertl HC. "Human immunodeficiency virus type 1-specific immune responses in primates upon sequential immunization with adenoviral vaccine carriers of human and simian serotypes" *J Virol.* 2004 Jul; 78(14):7392-9. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6 như được mô tả trong Pinto AR, Fitzgerald JC, Giles-Davis W, Gao GP, Wilson JM, Ertl HC. "Induction of $CD8^+$ T cells to an HIV-1 antigen through a prime boost regimen with heterologous E1-deleted adenoviral vaccine carriers" *J Immunol.* 2003 Dec 15; 171(12):6774-9.

Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7. Theo một số phương án, vectơ là vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7. Theo một số phương án, vectơ là vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7.

Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7. Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7.

Vắc-xin bao gồm các vectơ bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa protein Core của HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó cũng được mô tả. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183.

Vắc-xin có thể còn bao gồm chất mang dược dụng hoặc tá dược dược dụng. Như được sử dụng ở đây, "chất mang dược dụng" hoặc "tá dược dược dụng" bao gồm vật liệu bất kỳ mà, khi được kết hợp với các protein dung hợp, các axit nucleic, hoặc các vectơ được mô tả, cho phép các protein dung hợp, các axit nucleic, hoặc các vectơ giữ hoạt tính sinh học và không phản ứng với hệ thống miễn dịch của đối tượng. Các ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các chất mang dược tiêu chuẩn bất kỳ, chẳng hạn như dung dịch nước muối được tạo đệm phosphat, nước, nhũ tương, chẳng hạn như nhũ tương dầu/nước, và các loại chất thấm ướt khác nhau. Chất pha loãng được ưu tiên để dùng dưới dạng sol khí hoặc ngoài đường phân cắt là nước muối được tạo đệm phosphat hoặc nước muối thông thường (0,9%). Các chế phẩm bao gồm các chất mang này được bào chế bằng các phương pháp thông thường đã biết (xem, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990; and Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing, 2000).

Cũng được mô tả ở đây là các biến thể không có trong tự nhiên của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV (PolN) và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV (PolC). Miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV được mô tả có thể bao gồm trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Các đoạn gây miễn dịch làm ví dụ của SEQ ID NO: 8 bao gồm các SEQ ID NO: 55-113 được đề xuất trong bảng 4, bên dưới. Theo một số phương án, đoạn gây miễn dịch của PolN HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178. Theo một số phương án, đoạn gây miễn dịch của PolN HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181. Miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV được mô tả có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Các đoạn gây miễn dịch làm ví dụ của SEQ ID NO: 10 bao gồm các SEQ ID NO: 114-172 được đề xuất trong bảng 5, bên dưới. Theo một số phương án, đoạn gây miễn dịch của PolC HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179. Theo một số phương án, đoạn gây miễn dịch của PolC HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182.

Các phân tử axit nucleic mã hóa miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, cũng được đề cập. Phân tử axit nucleic có thể mã hóa miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9. Các phân tử axit nucleic có thể mã hóa các đoạn miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV được đề xuất trong bảng 4. Phân tử axit nucleic có thể mã hóa miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11. Các phân tử axit nucleic có thể mã hóa các đoạn miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV được đề xuất trong bảng 5. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182.

Các vectơ bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó hoặc miền đầu tận cùng C hoặc đoạn gây miễn dịch của nó cũng được đề cập. Các vectơ thích hợp bao gồm các vectơ được mô tả ở trên. Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9. Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ adenovirut. Các vectơ adenovirut thích hợp bao gồm, ví dụ, vectơ AdC6

hoặc vectơ AdC7. Theo một số phương án, vectơ là vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9. Theo một số phương án, vectơ là vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9. Theo một số phương án, vectơ là vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11. Theo một số phương án, vectơ là vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11. Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7. Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7. Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7. Theo một số phương án, vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7.

Vắc-xin bao gồm các vectơ bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó hoặc miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó cũng được mô tả. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9. Vắc-xin có thể bao gồm vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9. Vắc-xin có thể bao gồm vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11. Vắc-xin có thể bao gồm vectơ AdC6 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11. Vắc-xin có thể bao gồm vectơ AdC7 chứa phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11. Vắc-xin có thể còn bao gồm chất mang dược dụng hoặc tá dược dược dụng như được mô tả ở trên. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179. Theo

một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7. Theo một số phương án, vắc-xin bao gồm vectơ chứa phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6. Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7.

Các protein dung hợp bao gồm dạng kết hợp của protein Core của HBV được mô tả hoặc các đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV hoặc các đoạn gây miễn dịch của nó, và/hoặc miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV hoặc các đoạn gây miễn dịch của nó cũng được đề cập ở đây. Ví dụ, protein dung hợp có thể bao gồm:

(1) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(2) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 được đề xuất trong bảng 3 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 được đề xuất trong bảng 4 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8);

(3) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(4) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 được đề xuất trong bảng 3 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 được đề xuất trong bảng 5 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(5) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng

C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(6) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 được đề xuất trong bảng 4 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 được đề xuất trong bảng 5 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(7) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(8) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8, và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 được đề xuất trong bảng 3 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6), một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 được đề xuất trong bảng 4 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8), và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 được đề xuất trong bảng 5 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(9) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; hoặc

(10) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:

182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Protein dung hợp có thể bao gồm miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174.

Protein dung hợp có thể bao gồm miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175.

Sáng chế cũng đề xuất các protein dung hợp bao gồm trình tự glycoprotein (gD) virut gây bệnh mụn giộp (herpes simplex virus - HSV) và protein Core của HBV được mô tả, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV, hoặc các dạng kết hợp khác nhau của chúng.

gD HSV là glycoprotein liên kết thụ thể của HSV. Miền ngoại bào gD được sắp xếp ở hai vùng khác nhau về cấu trúc và chức năng: đầu tận cùng amino, bao gồm trình tự tín hiệu và các vị trí liên kết với thụ thể; và đầu tận cùng carboxy, bao gồm miền tiền dung hợp và miền xuyên màng. gD tương tác với thụ thể trung gian gây ra sự nhiễm herpesvirut (HVEM - herpesvirus entry mediator) và các thụ thể nectin. Tương tác của gD với các thụ thể dẫn đến sự điều hòa giảm của các thụ thể HVEM liên kết với BTLA hoặc CD160, là các phân tử ức chế miễn dịch mà được biểu hiện trên các tế bào T. Theo một số phương án, các protein dung hợp được mô tả bao gồm gD và protein Core của HBV được mô tả, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV (được gọi là "gDCore," "gDPolN" hoặc "gDPolC," tương ứng), hoặc các dạng kết hợp của nó được kỳ vọng là làm tăng cường đáp ứng miễn dịch của đối tượng chống lại HBV ở mức độ lớn hơn so với chỉ riêng kháng nguyên Core HBV và/hoặc polymeraza (tức là không có gD).

Protein gD HSV thích hợp để sử dụng ở các protein dung hợp được mô tả bao gồm gD kiểu dại hoặc đột biến vẫn giữ lại được khả năng: 1) làm gia tăng kích thích đáp ứng tế bào T $CD8^+$ với kháng nguyên; và/hoặc 2) phá vỡ hoạt tính của con đường HVEM-BTLA.

Các protein dung hợp có thể bao gồm protein Core của HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV hoặc đoạn gây miễn dịch của nó được mô tả ở đây, hoặc dạng kết hợp bất kỳ của nó, trình tự protein gD HSV đầu tận cùng N, và trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C. Protein Core của HBV, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV có thể là protein Core của HBV, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV được đề xuất trong bảng 9 hoặc các đoạn gây miễn dịch được đề xuất trong các bảng từ 3 đến 5. Protein Core của HBV, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV, hoặc các đoạn gây miễn dịch của nó có thể được cài xen vào giữa trình tự protein gD HSV đầu tận cùng N và trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C. Theo một số khía cạnh, trình tự protein gD HSV đầu tận cùng N bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12 và trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 13. Theo một số phương án, trình tự protein gD HSV đầu tận cùng N bao gồm các gốc axit amin 26-269 của SEQ ID NO: 12.

Protein dung hợp có thể bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV có thể bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 20-54, 180, hoặc 183.

Protein dung hợp có thể bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc SEQ ID NO: 183; và

trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Protein dung hợp có thể bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV có thể bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 55-113, 178, hoặc 181.

Protein dung hợp có thể bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc SEQ ID NO: 181; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Protein dung hợp có thể bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV có thể bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 114-172, 179, hoặc 182.

Protein dung hợp có thể bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc SEQ ID NO: 182; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Protein dung hợp có thể bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

trình tự HBV bao gồm:

(1) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(2) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 được đề xuất trong bảng 3 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 được đề xuất trong bảng 4 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8);

(3) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(4) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 được đề xuất trong bảng 3 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 được đề xuất trong bảng 5 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(5) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(6) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 được đề xuất trong bảng 4 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 được đề xuất trong bảng 5 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(7) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dich của nó; hoặc

(8) một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8, và một hoặc nhiều đoạn gây miễn dịch của miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10. Ví dụ, một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 được đề xuất trong bảng 3 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6), một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 được đề xuất trong bảng 4 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8), và một

hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 được đề xuất trong bảng 5 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(9) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; hoặc

(10) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Theo một số phương án, trình tự gD HSV đầu tận cùng N có thể bao gồm ít nhất các axit amin 1-269 của gD HSV. Trình tự gD HSV đầu tận cùng N, ví dụ, có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12. Theo một số phương án, trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm các gốc axit amin 26-269 của SEQ ID NO: 12.

Theo một số phương án, trình tự gD HSV đầu tận cùng C bao gồm miền xuyên màng của gD HSV. Trình tự gD HSV đầu tận cùng C, ví dụ, có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 13.

Protein dung hợp có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14 (tương ứng với gDCore) hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Protein dung hợp có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16 (tương ứng với gDPolN) hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Protein dung hợp có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 18 (tương ứng với gDPolC) hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N.

Protein dung hợp có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 (gDHBV2). Protein dung hợp có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187 (gDHBV3).

Các phân tử axit nucleic mã hóa các protein dung hợp được mô tả bất kỳ cũng được đề cập. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 15 (tương ứng với gDCore). Theo một số phương án, phân tử

axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 17 (tương ứng với gDPolN). Theo một số phương án, phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 19 (tương ứng với gDPolC).

Phân tử axit nucleic có thể bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184 (gDHBV2). Phân tử axit nucleic có thể bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186 (gDHBV3).

Các vectơ bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa các protein dung hợp cũng được mô tả. Các vectơ thích hợp bao gồm các vectơ được mô tả ở trên bao gồm, ví dụ, vectơ adenovirut. Theo một số phương án, vectơ adenovirut là vectơ AdC6. Theo một số phương án, vectơ adenovirut là vectơ AdC7. Vectơ có thể bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184 (gDHBV2). Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184 (gDHBV2). Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184 (gDHBV2). Vectơ có thể bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186 (gDHBV3). Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC6 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186 (gDHBV3). Theo một số khía cạnh, vectơ là vectơ AdC7 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186 (gDHBV3).

Các vắc-xin bao gồm các vectơ được mô tả bất kỳ cũng được đề cập. Vắc-xin có thể còn bao gồm chất mang dược dụng hoặc tá dược dược dụng như được mô tả ở trên. Vắc-xin có thể bao gồm vectơ bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184 (gDHBV2). Theo một số khía cạnh, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184 (gDHBV2). Theo một số khía cạnh, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184 (gDHBV2). Vắc-xin có thể bao gồm vectơ bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186 (gDHBV3). Theo một số khía cạnh, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186 (gDHBV3). Theo một số khía cạnh, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186 (gDHBV3).

Sáng chế mô tả các phương pháp gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV ở đối tượng, các phương pháp bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng hữu hiệu của protein dung hợp được mô tả bất kỳ, các phân tử axit nucleic được mô tả bất kỳ, các vectơ được mô tả bất kỳ, hoặc các vắc-xin được mô tả bất kỳ để nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV. Theo một số phương án, các phương pháp bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng hữu hiệu của protein dung hợp được mô tả bất kỳ để nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV. Theo một số phương án, các phương pháp bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng hữu hiệu của các phân tử axit nucleic được mô tả bất kỳ để nhờ đó

gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV. Theo một số phương án, các phương pháp bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng hữu hiệu của các vectơ được mô tả bất kỳ để nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV. Theo một số phương án, các phương pháp bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng hữu hiệu của các vắc-xin được mô tả bất kỳ để nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV.

Các phương pháp có thể bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng vắc-xin hữu hiệu bao gồm vectơ AdC6, trong đó vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, các phương pháp còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC6, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Các phương pháp cơ bản-tăng cường này có thể bao gồm:

- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N;
- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N; hoặc
- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N.

Các phương pháp có thể bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng vắc-xin hữu hiệu bao gồm vectơ AdC7, trong đó vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, các phương pháp còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC7, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Các phương pháp cơ bản-tăng cường này có thể bao gồm:

- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N;
- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 16, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N; hoặc
- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N.

Các phương pháp có thể bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng vắc-xin hữu hiệu bao gồm vectơ AdC6, trong đó vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 hoặc 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, các phương pháp còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC6, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 hoặc 187,

hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Các phương pháp cơ bản-tăng cường này có thể bao gồm:

- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N; hoặc
- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N.

Các phương pháp có thể bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng vắc-xin hữu hiệu bao gồm vectơ AdC7, trong đó vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 hoặc 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, các phương pháp còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC7, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 hoặc 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Các phương pháp cơ bản-tăng cường này có thể bao gồm:

- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N; hoặc
- Cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và sau đó cung cấp cho đối tượng vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, hoặc đoạn gây

miễn dịch của nó. Theo một số phương án, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N.

Đáp ứng miễn dịch được gây ra bằng các phương pháp được mô tả bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các đáp ứng tế bào T, các đáp ứng tế bào B, hoặc cả hai (tức là các đáp ứng miễn dịch tế bào và/hoặc dịch thể). Đáp ứng miễn dịch có thể là đáp ứng miễn dịch nguyên phát hoặc đáp ứng miễn dịch thứ phát. Các phương pháp được mô tả có thể gây ra đáp ứng miễn dịch của đối tượng chống lại HBV ở mức độ lớn hơn so với với chỉ riêng kháng nguyên Core HBV hoặc polymeraza (tức là không có gD).

Các phương pháp được mô tả có thể được sử dụng cho cả liệu pháp điều trị và các biện pháp phòng bệnh hoặc ngăn ngừa và có thể làm giảm mức độ nghiêm trọng và/hoặc tần suất của các triệu chứng, loại bỏ các triệu chứng và/hoặc nguyên nhân cơ bản của các triệu chứng, làm giảm tần suất hoặc khả năng xảy ra của các triệu chứng và/hoặc nguyên nhân cơ bản của chúng, và cải thiện hoặc khắc phục thiệt hại được gây ra, trực tiếp hoặc gián tiếp, bằng HBV. Việc điều trị cũng bao gồm việc kéo dài sự sống so với thời gian sống dự kiến của đối tượng không nhận điều trị. Các đối tượng được điều trị bao gồm các đối tượng mắc HBV cũng như các đối tượng có xu hướng mắc HBV hoặc các đối tượng trong đó HBV cần được ngăn ngừa.

Lượng protein dung hợp, các phân tử axit nucleic, các vectơ, hoặc các vắc-xin được mô tả cần thiết để nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV (ví dụ "lượng hữu hiệu") có thể thay đổi theo các yếu tố chẳng hạn như tình trạng bệnh, độ tuổi, giới tính, và trọng lượng của đối tượng, và khả năng của các protein dung hợp, các phân tử axit nucleic, các vectơ, hoặc các vắc-xin gây ra đáp ứng mong muốn ở đối tượng. Các chỉ số làm ví dụ của lượng hữu hiệu bao gồm, ví dụ, sức khỏe của đối tượng được cải thiện và giảm, loại bỏ, hoặc ngăn ngừa của các triệu chứng HBV.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng các protein dung hợp được mô tả, các phân tử axit nucleic, các vectơ, hoặc các vắc-xin bất kỳ trong việc sản xuất thuốc gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV ở đối tượng.

Các protein dung hợp, các phân tử axit nucleic, các vectơ, hoặc các vắc-xin được mô tả để sử dụng trong việc gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV ở đối tượng cũng được đề xuất.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau được cung cấp để mô tả thêm một số phương án được mô tả ở đây. Các ví dụ được dự định để minh họa, không làm giới hạn, các phương án được mô tả.

Tạo thành trình tự Core được tối ưu hóa epitop

Virut viêm gan B (HBV) có thể được nhóm thành một vài kiểu gen, dựa trên sự tạo nhóm phát sinh loài. Để hỗ trợ sự phát triển của trình tự cài xen kháng nguyên đối với vắc-xin HBV đa kiểu gen đối với bệnh nhân nhiễm bệnh mãn tính, đánh giá tin sinh học cơ bản các gen mã hóa Core HBV và polymeraza HBV qua các kiểu gen A, B, C và D được tiến hành.

Các trình tự axit amin Core từ bốn nhóm HBV chính được tải xuống dưới dạng trình tự ClustalW được điều chỉnh từ cơ sở dữ liệu virut viêm gan B (HBVdb - Hepatitis B Virus database) (phiên bản phát hành 45.0; được cập nhật lần cuối vào ngày 02 tháng 08, 2018). Các trình tự axit amin được đại diện cho hàng nghìn bộ gen HBV được nhập từ người dùng trên khắp châu Âu, như được tóm tắt trong bảng dưới đây.

Bảng 1. Số lượng bộ gen Core duy nhất được phân tích

Kiểu gen	Gen HBV	Các bộ gen duy nhất được phân tích
HBV kiểu gen A	Core	1.482
HBV kiểu gen B		2.800
HBV kiểu gen C		2.768
HBV kiểu gen D		1.579

Các trình tự Core "liên ứng" lần đầu tiên được xác định đối với mỗi kiểu gen bằng cách sử dụng công cụ Shannon Entropy được tổ chức bởi Phòng thí nghiệm quốc gia Los Alamos (www.hiv.lanl.gov/content/sequence/ENTROPY/entropy), được tính độ biến thiên và tần suất ở mỗi vị trí axit amin. Các phép tính này được lặp lại đối với mỗi kiểu gen, tạo ra bốn trình tự Core "liên ứng", một trình tự đối với mỗi kiểu gen được phân tích (các SEQ ID NO: 1-4):

Trình tự liên ứng kiểu gen A (SEQ ID NO: 1)

MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHC
SPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLeDPASRDLVVNYVNTNMGLK
IRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLP
ETTVVRRRDRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC-

Trình tự liên ứng kiểu gen B (SEQ ID NO: 2)

MDIDpYKEFGASvELLSFLPSDFFPSiRDLLDTAsALYREALESPEHC
SPHHTALRQAIlCWGELMNLATWVGSNLeDPASRELVVsYVNVNMGLK
iRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPpAYRPpNAPILSTLP
ETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSREsQC-

Trình tự liên ứng kiểu gen C (SEQ ID NO: 3)

MDIDpYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEHC
SPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVVsYVNVNMGLK
iRQlLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPpAYRPPNAPILSTLP
ETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRSQSRESQC -

Trình tự liên ứng kiểu gen D (SEQ ID NO: 4)

MDIDPYKEFGAtVELLSFLPsDFFPSVRDLLDTASALYReALESPEHC
SPHHTALRQAILCWGeLMtLATWVGgNLEDPaSRDLVVSYVNTNmGLK
FRQLLWFHISCLTFGReTViEYLVSFGVWIRTPpAYRPPNAPILSTLP
ETTVvRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC-

(Các gốc in đậm, được gạch dưới là các axit amin có tần suất thấp hơn 90%).

Trình tự Core "liên ứng" ở trên được kết hợp để tạo ra trình tự Core được tối ưu hóa epitop. Các axit amin được bảo toàn được xác định ở mỗi gốc axit amin của protein Core từ mỗi kiểu gen (A, B, C và D) và tần suất và sự biến thiên trong mẫu nhất định của các bộ gen có kiểu gen được xác định. Để chọn các axit amin tại các vị trí biến thiên, mỗi giá trị biến thiên được kiểm tra bằng cách sử dụng các thuật toán dự đoán epitop qua nhiều loại HLA và hầu hết trình tự gây miễn dịch được chọn. Cụ thể là:

(1) Mỗi gốc qua bốn kiểu gen đồng nhất được duy trì. Tần suất có trọng số của bộ gen cũng được tính để thông báo sự biến thiên với khoảng đệm được bổ sung, trong đó có thể áp dụng, để điều chỉnh các trình tự cho đa dạng.

(2) Các gốc không đồng nhất qua bốn kiểu gen được xác định và sự đa dạng axit amin được ghi lại (xem bảng 2). Trình tự Core ban đầu (SEQ ID NO: 5) được đề xuất bên dưới, với các gốc không đồng nhất qua bốn kiểu gen được đánh dấu là $X_1 - X_{11}$ và các gốc có tần suất thấp hơn 90% trong phông chữ in đậm, được gạch dưới:

MDIDPYKEFGAX1VELLSFLPSDFFPSX2DLLDTASALYREALESPEH
CSPHHTALRQAILCWGELMX3LATWVGX4NLeDPASRX5LVVX6YVNX
7NMGLKX8RQLLWFHISCLTFGRETVX9EYLVSFGVWIRTPPAYRPPN
APILSTLPETTVVRRRX10X11GRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQS
RESQC

Bảng 2. Các gốc không đồng nhất qua bốn kiểu gen

Gốc #	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}
Trình tự liên ứng của kiểu gen A	T	V	T	N	D	N	T	I	L	D	R

A - Tần suất liên ứng	95,4%	98,2%	96,0%	94,0%	99,5%	98,9%	98,3%	98,8%	98,2%	95,8%	99,5%
Trình tự liên ứng của kiểu gen B	S	i	N	S	E	s	V	i	L	-	-
B - Tần suất liên ứng	97,1%	89,7%	93,5%	90,1%	91,5%	75,2%	93,6%	80,1%	99,4%	-	-
Trình tự liên ứng của kiểu gen C	S	I	N	S	E	s	V	i	L	-	-
C - Tần suất liên ứng	99,4%	90,3%	97,3%	96,3%	97,0%	83,7%	97,8%	78,7%	98,8%	-	-
Trình tự liên ứng của kiểu gen D	t	V	t	g	D	S	T	F	i	-	-
D - Tần suất liên ứng	75,7%	97,0%	87,5%	58,7%	98,4%	93,7%	96,5%	99,1%	77,8%	-	-

(3) Để xác định axit amin cuối cùng ở các vị trí này, các thuật toán dự đoán epitop được sử dụng để chọn axit amin thích hợp. Đối với axit amin cho thấy sự biến thiên giữa các kiểu gen, axit amin có mặt ở 3 trong số các kiểu gen được chọn hoặc phần mềm dự đoán epitop MHC lớp I được sử dụng để chọn hầu hết các axit amin gây miễn dịch. Phương thức tiếp cận này được tối đa hóa khả năng sinh miễn dịch tiềm năng qua số lượng lớn nhất của các loại HLA. Trình tự Core được tối ưu hóa epitop qua tất cả các kiểu gen và trong các kiểu gen được thể hiện bên dưới (SEQ ID NO: 6):

DIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALESPEHCS
PHHTALRQAILCWGELMTLATWVGSNLEDPASRELVVSYVNVNMGLKI
RQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPE
TTVVRRRDRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC

Biến thiên trung bình ở mỗi vị trí qua tất cả các bộ gen, được tính trọng số bằng số bộ gen cụ thể theo nhóm được phân tích, được tính và được thể hiện các vùng và các gốc bảo toàn ngày càng cao hơn và tốt hơn. Fig. 1.

Tạo thành các trình tự polymeraza được tối ưu hóa epitop

Trình tự polymeraza được tối ưu hóa epitop được tạo ra từ bốn nhóm HBV chính như được thảo luận ở trên đối với trình tự Core. Do polymeraza dài, hai đoạn - đoạn đầu tận cùng N (từ các đoạn có thể biến đổi cao giữa các kiểu gen được loại bỏ) và đoạn đầu

tận cùng C - được tạo ra. Cả hai đoạn có độ dài xấp xỉ 300 axit amin. Các trình tự axit amin polymeraza được tối ưu hóa epitop được thể hiện bên dưới và trong bảng 9:

Trình tự axit amin đầu tận cùng N của polymeraza HBV được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 8):

PLSYQHFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLNVS
IPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPKIHLQEDIVDRCKQFVG
PLTVNEKRRLKLIMPARFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTR
HYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSK
PCSEYCLTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNP
HNTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSL
DVSAAFYHIPLHPAAMP

Trình tự axit amin đầu tận cùng C của polymeraza HBV được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 10):

HLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIINHQHGTMQNLHDSCSRNLYVSLLLL
YKTFGRKLHLYSHPIILKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGSLPQDHIIQKI
KECFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQS
KQAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAMG
HQRMRGTFVAPLPIHTAELLAACFARSRSGAKILGTDNSVVLSRKYTS
FPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLSRPLLRLPFR
PTTGRTSLYAVSPSV

Tạo thành AdC6 và vectơ AdC7 biểu hiện các trình tự Core và polymeraza được tối ưu hóa epitop

Các gen mã hóa các trình tự axit amin Core hoặc polymeraza được tối ưu hóa epitop được tách dòng vô tính vào các vectơ thể truyền bao gồm trình tự glycoprotein D (gD) của virut gây bệnh mụn giộp (herpes simplex virus - HSV) dưới sự kiểm soát của trình tự khởi động CMV. Sau đó, các gen được tách dòng vô tính vào vectơ adenovirut không có khả năng sao chép bị mất đoạn E1, bị mất đoạn E3 ORF 3, 4, 5, 6, và 7 (như được mô tả trong PCT/US2017/043315) để tạo ra các vectơ sau:

- AdC6 bao gồm trình tự Core được tối ưu hóa epitop được dung hợp với gD (AdC6-gDCore);
- AdC6 bao gồm trình tự đầu tận cùng N của polymeraza được tối ưu hóa epitop được dung hợp với gD (AdC6-gDPolN);
- AdC6 bao gồm trình tự đầu tận cùng C của polymeraza được tối ưu hóa epitop được dung hợp với gD (AdC6-gDPolC);

- AdC7 bao gồm trình tự Core được tối ưu hóa epitop được dung hợp với gD (AdC7-gDCore);
- AdC7 bao gồm trình tự đầu tận cùng N của polymeraza được tối ưu hóa epitop được dung hợp với gD (AdC7-gDPolN); và
- AdC7 bao gồm trình tự đầu tận cùng C của polymeraza được tối ưu hóa epitop được dung hợp với gD (AdC7-gDPolC).

Các dòng vô tính chính xác được xác định bằng việc phân cắt bằng enzym giới hạn và các vị trí tách dòng vô tính được giải trình tự. Các vectơ được phục hồi và mở rộng ở các tế bào HEK 293, được tinh chế bằng cách ly tâm gradien xesi clorua (CsCl), và nồng độ vectơ (vp) được xác định bằng quang phổ kế. Các vectơ được chuẩn độ đối với các đơn vị lây nhiễm khi mở rộng chúng qua các độ pha loãng tuần tự ở các tế bào HEK 293, tiếp theo là phân lập và phiên mã ngược ARN và phản ứng PCR đặc hiệu hexon được lồng vào trong. Tính toàn vẹn di truyền của các vectơ được xác định bằng việc phân cắt bằng enzym giới hạn, tiếp theo là điện di gel ADN virut đã tinh chế. Sự biểu hiện của protein được xác định bằng thẩm tách Tây bằng cách sử dụng các kháng thể đặc hiệu gD. Độ ổn định di truyền được xác định bằng các cấy chuyển liên tiếp (12-15) của các vectơ ở các tế bào HEK 293, tiếp theo là phân cắt bằng enzym giới hạn ADN virut đã tinh chế và điện di gel.

Kiểm tra khả năng sinh miễn dịch của vắc-xin ở chuột

Chuột C57Bl/6, BALB/c, và tg HLA-A2 (n = 5 mỗi nhóm) được tiêm bằng các nồng độ khác nhau của mỗi vectơ ở trên. Các con chuột nguyên thể được dùng làm mẫu đối chứng. Chuột được lấy máu ở các thời điểm khác nhau sau khi tiêm và tần suất của các tế bào T $CD8^+$ và $CD4^+$ đặc hiệu cài xen được xác định bằng cách nhuộm xytokin nội bào (ICS) đối với IFN-γ. Hai tháng sau liều tiêm thứ nhất, các con chuột miễn dịch với AdC6 được tiêm tăng cường với vectơ khác loại (AdC7) biểu hiện cùng trình tự cài xen. Tần suất của các tế bào T đặc hiệu HBV được kiểm tra lại. Kết quả sau khi mồi được thể hiện trên Fig. 2A-2F và Fig. 3A (chuột C57Bl/6), Fig. 3B (chuột BALB/c) và Fig. 3C (chuột HLA-A2). Kết quả sau khi tiêm liều tăng cường được thể hiện trên các Fig. 4A-4C và 5A-5B.

Chuột C57Bl/6 cho thấy đáp ứng tế bào T $CD8^+$ rất mạnh mẽ với trình tự đầu tận cùng N của polymeraza được tối ưu hóa epitop và các đáp ứng thấp hơn với trình tự đầu tận cùng C của polymeraza được tối ưu hóa epitop và trình tự Core được tối ưu hóa epitop, trong khi các đáp ứng $CD4^+$ tốt hơn đối với trình tự Core được tối ưu hóa epitop và trình tự đầu tận cùng C của polymeraza được tối ưu hóa epitop (Fig. 2A – Fig. 2F).

Việc lập bản đồ epitop ở chuột C57Bl/6 cho thấy các đáp ứng với PolN cao hơn và rộng hơn so với PolC (Fig. 3A). Trong PolN, tổng số 14 peptit được nhận diện bằng các tế bào T $CD8^+$ trong khi trong PolC chỉ có hai peptit liền kề, có khả năng phản ánh một epitop, được nhận diện. Các tế bào T $CD4^+$ bị thất bại trong đáp ứng với PolN hoặc PolC. Mô hình này được phản ánh phần lớn ở chuột BALB/c, trong đó các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ chống lại PolN cao nhất với sự nhận diện 12 peptit, tiếp theo là PolC với sự nhận diện 4 peptit (Fig. 3B). Các đáp ứng với Core thấp nhưng rộng một cách đáng ngạc nhiên với sự nhận diện 10 peptit (Fig. 3B). Các tế bào T $CD4^+$ BALB/c đáp ứng tốt nhất với Core với sự nhận diện 15 peptit với sự nhận diện PolC (4 peptit) hoặc PolN (2 peptit) thấp hơn. Các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ cũng được kiểm tra ở chuột tg HLA-A2 trong đó PolN được khởi động một lần nữa đáp ứng cao nhất bao gồm 12 peptit (Fig. 3C). Đáp ứng với PolC thấp hơn nhưng rộng hơn (16 peptit) trong khi chỉ một peptit của Core được phát hiện (Fig. 3C). Các trình tự của các peptit được kiểm tra trong các thí nghiệm mồi được đề xuất trong bảng 3 (peptit Core), bảng 4 (peptit PolN), và bảng 5 (peptit PolC). Chế phẩm peptit của các phần gộp peptit từ các thí nghiệm mồi được đề xuất trong các bảng từ 6 đến 8. Nhìn chung, các dữ liệu này cho thấy rằng trình tự cài xen gây ra các đáp ứng tế bào T có thể dự đoán được mà trong hầu hết các trường hợp được dẫn hướng đến nhiều epitop trong mỗi trình tự.

Bảng 3. Peptit Core được tối ưu hóa epitop

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
1	DIDPYKEFGATVELL	20	CD8 (B/c)
2	KEFGATVELLSFLPS	21	CD8 (B/c)
3	TVELLSFLPSDFFPS	22	CD8 (B/c)
4	SFLPSDFFPSIRDLL	23	CD8 (B/c)
5	DFFPSIRDLLDTASA	24	CD8 (B/c)
6	IRDLLDTASALYREA	25	
7	DTASALYREALESPE	26	CD4 (B/c)
8	LYREALESPEHCSPH	27	CD4 (Bl/6); CD4 (B/c)
9	LESPEHCSPHHTALR	28	CD4 (B/c)
10	HCSPHHTALRQAILC	29	CD4 (B/c)
11	HTALRQAILCWGELM	30	CD4 (B/c)
12	QAILCWGELMTLATW	31	
13	WGELMTLATWVGSNL	32	CD8 (B/c); CD4 (B/c); CD8 (HLA)
14	TLATWVGSNLEDPAS	33	CD8 (B/c); CD4 (B/c)
15	VGSNLEDPASRELVV	34	CD8 (B/c); CD4 (B/c)

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
16	EDPASRELVVSYVNV	35	CD8 (B/c); CD4 (B/c)
17	RELVVSYVNVNMGLK	36	CD8 (B/c); CD4 (B/c)
18	SYVNVNMGLKIRQLL	37	
19	NMGLKIRQLLWFHIS	38	CD4 (B/c)
20	IRQLLWFHISCLTFG	39	CD4 (B/c)
21	WFHISCLTFGRETVI	40	CD4 (B/c)
22	CLTFGRETVIEYLVS	41	CD4 (B/c)
23	RETVIEYLVSFGVWI	42	CD4 (B/c)
24	EYLVSFGVWIRTPPA	43	
25	FGVWIRTPPAYRPPN	44	
26	RTPPAYRPPNAPILS	45	CD8 (Bl/6)
27	YRPPNAPILSTLPET	46	
28	APILSTLPETTVVRR	47	CD4 (Bl/6)
29	TLPETTVVRRRDRGR	48	CD8 (Bl/6)
30	TVVRRRDRGRSPRRR	49	
31	RDRGRSPRRRTPSPR	50	
32	SPRRRTPSPRRRRSQ	51	
33	TPSPRRRRSQSPRRR	52	
34	RRRSQSPRRRRRSQSR	53	
35	SPRRRRRSQSRESQC	54	

B/c = BALB/c; Bl/6 = C57Bl/6; HLA = HLA-A2

Bảng 4. Peptit PolN được tối ưu hóa epitop

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
1	PLSYQHFRKLLLLDE	55	
2	HFRKLLLLDEEAGPL	56	
3	LLLDEEAGPLEEELP	57	
4	EAGPLEEELPRLADE	58	
5	EEELPRLADEGLNRR	59	
6	RLADEGLNRRVAEDL	60	
7	GLNRRVAEDLNLGNL	61	
8	VAEDLNLGNLNVSIP	62	
9	NLGNLNVSIPWTHKV	63	
10	NVSIPWTHKVGNFTG	64	CD4 (B/c)
11	WTHKVGNFTGLYSST	65	

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
12	GNFTGLYSSTVPVFN	66	
13	LYSSTVPVFNPEWQT	67	
14	VPVFNPEWQTPSFPK	68	CD4 (B/c)
15	PEWQTPSFPKIHKLQE	69	
16	PSFPKIHKLQEDIVDR	70	
17	IHKLQEDIVDRCKQFV	71	
18	EDIVDRCKQFVGPLTV	72	
19	RCKQFVGPLTVNEKRR	73	
20	VGPLTVNEKRRLKLIM	74	
21	VNEKRRLKLIMPARFY	75	
22	RLKLIMPARFYPNVTK	76	
23	MPARFYPNVTKYLPLD	77	
24	YPNVTKYLPLDKGIKP	78	
25	KYLPLDKGIKPYYPEH	79	
26	DKGIKPYYPEHAVNHY	80	
27	PYYPEHAVNHYFQTRH	81	
28	HAVNHYFQTRHYLHTL	82	
29	YFQTRHYLHTLWKAGI	83	
30	HYLHTLWKAGILYKRE	84	
31	LWKAGILYKRETTRSA	85	
32	ILYKRETTRSASFCGS	86	
33	ETTRSASFCGSPYSWE	87	
34	ASFCGSPYSWEQELQH	88	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
35	SPYSWEQELQHGSCWW	89	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
36	EQELQHGSCWWLQFRN	90	
37	HGSCWWLQFRNSKPCS	91	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
38	WLQFRNSKPCSEYCLT	92	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
39	NSKPCSEYCLTHLVNL	93	CD8 (Bl/6)
40	SEYCLTHLVNLLEDWG	94	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
41	THLVNLLEDWGPCDEH	95	
42	LLEDWGPCDEHGEHHI	96	
43	GPCDEHGEHHIRIPRT	97	
44	HGEHHIRIPRTPARVT	98	
45	IRIPRTPARVTGGVFL	99	

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
46	TPARVTGGVFLVDKNP	100	
47	TGGVFLVDKNPHNTAE	101	
48	LVDKNPHNTAESRLVV	102	
49	PHNTAESRLVVDFSQF	103	
50	ESRLVVDFSQFSRGIT	104	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c)' CD8 (HLA)
51	VDFSQFSRGITRVSWP	105	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
52	FSRGITRVSWPKFAVP	106	
53	TRVSWPKFAVPNLQSL	107	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
54	PKFAVPNLQSLTNLLS	108	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
55	PNLQSLTNLLSSNLSW	109	CD8 (Bl/6)
56	LTNLLSSNLSWLSLDV	110	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
57	SSNLSWLSLDVSAAFY	111	
58	WLSLDVSAAFYHIPLH	112	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)
59	VSAAFYHIPLHPAAMP	113	CD8 (Bl/6); CD8 (B/c); CD8 (HLA)

B/c = BALB/c; Bl/6 = C57Bl/6; HLA = HLA-A2

Bảng 5. Peptit PolC được tối ưu hóa epitop

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
1	HLLVGSSGLSRYVAR	114	
2	SSGLSRYVARLSSNSR	115	
3	RYVARLSSNSRIINHQ	116	
4	LSSNSRIINHQHGTMQ	117	
5	RIINHQHGTMQNLHDS	118	
6	QHGTMQNLHDSCSRNL	119	
7	QNLHDSCSRNLYVSLL	120	
8	SCSRNLYVSLLLLYKT	121	
9	LYVSLLLLYKTFGRKL	122	
10	LLLYKTFGRKLHLYSH	123	CD8 (HLA)
11	TFGRKLHLYSHPIILK	124	
12	LHLYSHPIILKTKRWG	125	CD8 (B/c); CD8 (HLA)
13	HPIILKTKRWGYSLNF	126	CD8 (HLA)
14	KTKRWGYSLNFMGYVI	127	
15	GYSLNFMGYVIGSWGS	128	CD8 (HLA)
16	FMGYVIGSWGSLPQDH	129	

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
17	IGSWGSLPQDHIIQKI	130	
18	SLPQDHIIQKIKECFR	131	
19	HIIQKIKECFRKLPVN	132	
20	IKECFRKLPVNRPIDW	133	
21	RKLPVNRPIDWKVCQR	134	
22	NRPIDWKVCQRIVGLL	135	
23	WKVCQRIVGLLGFAAP	136	
24	RIVGLLGFAAPFTQCG	137	
25	LGFAAPFTQCGYPALM	138	
26	PFTQCGYPALMPLYAC	139	CD8 (HLA)
27	GYPALMPLYACIQSKQ	140	
28	MPLYACIQSKQAFTFS	141	CD8 (B/c); CD8 (HLA)
29	CIQSKQAFTFSPTYKA	142	CD8 (HLA)
30	QAFTFSPTYKAFLSKQ	143	
31	SPTYKAFLSKQYLNLY	144	CD8 (Bl/6); CD8 (HLA)
32	AFLSKQYLNLYPVARQ	145	CD8 (Bl/6)
33	QYLNLYPVARQRPGLC	146	
34	YPVARQRPGLCQVFAD	147	CD8 (HLA)
35	QRPGLCQVFADATPTG	148	CD4 (B/c)
36	CQVFADATPTGWGLAM	149	CD8 (B/c); CD8 (HLA)
37	DATPTGWGLAMGHQRM	150	CD8 (HLA)
38	GWGLAMGHQRMRGTFV	151	
39	MGHQRMRGTFVAPLPI	152	CD4 (B/c); CD8 (HLA)
40	MRGTFVAPLPIHTAEL	153	
41	VAPLPIHTAELLAACF	154	
42	IHTAELLAACFARSRS	155	CD8 (HLA)
43	LLAACFARSRSGAKIL	156	
44	FARSRSGAKILGTDNS	157	CD8 (B/c); CD8 (HLA)
45	SGAKILGTDNSVVLSR	158	CD8 (HLA)
46	LGTDNSVVLSRKYTSF	159	
47	SVVLSRKYTSFPWLLG	160	
48	RKYTSFPWLLGCAANW	161	CD8 (HLA)
49	FPWLLGCAANWILRGT	162	
50	GCAANWILRGTSFVYV	163	

Peptit	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:	Đoạn mồi
51	WILRGTSFVYVPSALN	164	CD4 (B/c)
52	TSFVYVPSALNPADDP	165	
53	VPSALNPADDPSRGRL	166	
54	NPADDPSRGRLGLSRP	167	
55	PSRGRLGLSRPLLRLP	168	CD4 (B/c)
56	LGLSRPLLRLPFRPTT	169	
57	PLLRLPFRPTTGRTSL	170	
58	PFRPTTGRTSLYAVSP	171	
59	TGRTSLYAVSPSV	172	

B/c = BALB/c; Bl/6 = C57Bl/6; HLA = HLA-A2

Bảng 6. Phần gộp Core được tối ưu hóa epitop

Ma trận Core	A	B	C	D	E	F
G	1	2	3	4	5	6
H	7	8	9	10	11	12
I	13	14	15	16	17	18
J	19	20	21	22	23	24
K	25	26	27	28	29	30
L	31	32	33	34	35	

Bảng 7. Phần gộp PolN được tối ưu hóa epitop

Ma trận Pol N	A	B	C	D	E	F	G	H
I	1	2	3	4	5	6	7	8
J	9	10	11	12	13	14	15	16
K	17	18	19	20	21	22	23	24
L	25	26	27	28	29	30	31	32
M	33	34	35	36	37	38	39	40
N	41	42	43	44	45	46	47	48
O	49	50	51	52	53	54	55	56
P	57	58	59					

Bảng 8. Phần gộp PolC được tối ưu hóa epitop

Ma trận Pol C	A	B	C	D	E	F	G	H
I	1	2	3	4	5	6	7	8
J	9	10	11	12	13	14	15	16
K	17	18	19	20	21	22	23	24
L	25	26	27	28	29	30	31	32
M	33	34	35	36	37	38	39	40
N	41	42	43	44	45	46	47	48
O	49	50	51	52	53	54	55	56
P	57	58						

Sau khi tiêm liều tăng cường, được thử nghiệm trên chuột C57Bl/6, BALB/c và tg HLA-A2, sự gia tăng trong các đáp ứng được nhìn thấy chủ yếu đối với trình tự cài xen và ở các liều vectơ mà khi mồi gây ra các đáp ứng dưới mức tối ưu, tức l, đối với Core được thử nghiệm ở liều vectơ là $1x10^9$ vp (Fig. 4A-4C). Mặc dù việc gây miễn dịch tăng cường không làm tăng đáp ứng với PolN hoặc PolC khi các vectơ được tiêm ở liều cao, nhưng việc tăng cường này làm mở rộng các đáp ứng tế bào T (Fig. 5A-5C).

Tóm tắt về khả năng sinh miễn dịch

Các kết quả ở trên minh họa rằng:

- Các vắc-xin có tính sinh miễn dịch: PolN > PolC > Core đối với các tế bào T $CD8^+$; Core > PolC > PolN đối với các đáp ứng tế bào T $CD4^+$;
- Các đáp ứng miễn dịch có thể được tiêm tăng cường bằng chất mang vắc-xin khác loại;
- Các đáp ứng miễn dịch rộng; và
- Độ rộng của các đáp ứng tế bào T tăng sau khi tiêm liều tăng cường.

Tác động của việc chủng ngừa đối với hiệu giá HBV trong thử thách AAV-1.3HBV liều thấp

Nhóm gồm 3 con chuột được thử thách với $1x10^{10}$, $1x10^{11}$ hoặc $1,5x10^{11}$ vg AAV-1.3HBV và được tiêm bằng AdC6-gDPolN 8 tuần sau đó. Hiệu giá virut được thử nghiệm 8 tuần sau khi chủng ngừa và được so sánh với hiệu giá trước khi chủng ngừa. Fig. 6 cho thấy sự thay đổi của virut so với đường chuẩn đối với mỗi nhóm điều trị.

Sự dịch chuyển epitop

Tế bào T CD8+ đối với kháng nguyên HBV bị cạn kiệt trong quá trình nhiễm HBV mạn tính. Tiến triển đến tình trạng cạn kiệt nhanh hơn và rõ rệt hơn đối với tế bào

T CD8+ đối với các epitop chiếm ưu thế, so với epitop dưới mức chiếm ưu thế. Lý do cơ bản là tình trạng cạn kiệt được thúc đẩy bởi sự kích thích quá mức do kháng nguyên thúc đẩy thông qua thụ thể tế bào T; các epitop chiếm ưu thế được trình diện ở mức cao hơn trên các kháng nguyên MHC lớp I được biểu hiện bởi các tế bào trình diện kháng nguyên so với các epitop dưới mức chiếm ưu thế với ái lực thấp hơn đối với các yếu tố hạn chế của chúng. Các phương pháp tiếp cận vắc-xin điển hình chủ yếu gây ra phản ứng miễn dịch đối với các epitop chiếm ưu thế. Vắc-xin điều trị nên tính đến tình trạng mất tế bào T thành các epitop chiếm ưu thế trong quá trình nhiễm virut mãn tính và nên được thiết kế để thúc đẩy sự mở rộng của tế bào T CD8+ thành các epitop dưới mức chiếm ưu thế, có khả năng chống lại tình trạng cạn kiệt do bệnh tật cao hơn, giúp kiểm soát bệnh tốt hơn.

Profil epitop ở chuột nguyên thể được gây miễn dịch bằng vectơ adenovirut bao gồm trình tự axit nucleic mã hóa miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV (PolN) được dung hợp với glycoprotein D của virut herpes simplex ("AdC6-gDPolN", trong đó trình tự axit amin của gDPolN là SEQ ID NO: 16) được xác định. Các đáp ứng ở chuột không được điều trị sơ bộ bằng vectơ AAV8-1.3HBV được so sánh với các đáp ứng thu được ở chuột được lây nhiễm với vectơ AAV8 biểu hiện bộ gen 1.3HBV trước khi chủng ngừa bằng AdC6-gDPolN. Vectơ AAV8-1.3HBV gây ra các hiệu giá HBV cao trong huyết thanh, mà có thể điều khiển sự cạn kiệt tế bào T $CD8^+$.

Trong loạt thí nghiệm thứ nhất, ma trận phần gộp peptit được sử dụng để xác định epitop ở chuột được tiêm bằng vectơ AdC6-gDPolN, nhưng không được thử bằng vectơ AAV-1.3HBV. Số vùng ở các con chuột nguyên thể này được xác định là gây ra các đáp ứng mạnh (ví dụ, lớn hơn 1% tế bào T $CD8^+CD44^+$ sản xuất IFN-γ. Fig. 7A và Fig. 8A. Trong thí nghiệm thứ hai, các con chuột được thử thách với $1x10^{10}$ bộ gen virut (vg) của vectơ AAV-1.3HBV, được tiêm 4 tuần sau đó với vectơ AdC6 biểu hiện cùng trình tự polymeraza HBV (gDPolN) như trong thí nghiệm ban đầu ở các con chuột không được thử, và mười tuần sau đó profil epitop tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN HBV được xác định bằng cách sử dụng các ma trận phần gộp peptit trên tế bào lách từ các chuột đã được thử trước khi chủng ngừa. Fig. 7B và Fig. 8B. Thí nghiệm được lặp lại bằng cách sử dụng các điều kiện nghiêm ngặt hơn bằng cách thử các con chuột với liều $1,5x10^{11}$ vg vectơ AAV8-1.3HBV. Chuột được tiêm lại 4 tuần sau đó và được kiểm tra xấp xỉ 10 tuần sau khi chủng ngừa đối với các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ với các ma trận phần gộp peptit. Fig. 7C và Fig. 8C. Ở cả hai thí nghiệm, so sánh với các kết quả thu được từ các con chuột không được sử dụng vắc-xin, sự dịch chuyển quan sát được trong profil epitop ở chuột được tiêm AAV8-1.3HBV, tại thời điểm chủng ngừa có tải lượng virut cao nằm

trong khoảng từ 10^7 đến 10^9 vg trong mỗi ml huyết thanh. Tác dụng rõ ràng hơn ở chuột đã được thử bằng liều cao của vectơ AAV8-1.3HBV. Ở cả hai thí nghiệm, đã quan sát được việc giảm các đáp ứng. Ngoài ra, đặc biệt là ở chuột được thử thách với liều cao của AAV8-1.3HBV, các kết quả cho thấy việc mất các tế bào T $CD8^+$ với nhiều epitop đã cho thấy ưu thế miễn dịch ở chuột chưa bị lây nhiễm được tiêm (ví dụ, trong vùng được đại diện bởi peptit từ 50 đến 59, Fig. 8), bảo toàn tốt hơn các epitop dưới mức chiếm ưu thế (chẳng hạn như các epitop nằm trong vùng được đại diện bởi peptit từ 2 đến 8) cũng như các epitop mới, chẳng hạn như trong vùng được đại diện bởi peptit từ 10 đến 29. Các dữ liệu này xác nhận sự dịch chuyển từ việc nhận diện epitop chiếm ưu thế đến việc nhận diện epitop dưới mức chiếm ưu thế.

Dựa trên các dữ liệu này, trình tự cài xen miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV (v2 PolN HBV) được tạo ra (SEQ ID NO: 173):

HFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLPEWQTPSFPKIHLQEDIV
DRCKQFVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHY
LHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSKPCSEYCLTHLVN
LLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVT

Trình tự cài xen này gây ra các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ chủ yếu với các epitop dưới mức chiếm ưu thế mà các đáp ứng vẫn còn nguyên vẹn ở chuột với tải lượng virut HBV cao.

Khả năng sinh miễn dịch và hiệu quả của các vắc-xin gDCore, gDPolN, và gDPolC

Khả năng sinh miễn dịch và hiệu quả của các vắc-xin AdC6-gDCore, AdC6-gDPolN, AdC6-gDPolC, AdC7-gDCore, AdC7-gDPolN, và AdC7-gDPolC ở mô hình chuột AAV8-HBV được phân tích.

Phương pháp - khả năng sinh miễn dịch

Chuột C57Bl/6 (n=5 mỗi nhóm) được tiêm bằng các liều khác nhau của: AdC6-gDCore (trình tự axit nucleic gDCore tương ứng với SEQ ID NO: 15); AdC6-gDPolN (Trình tự axit nucleic gDPolN tương ứng với SEQ ID NO: 17); hoặc AdC6-gDPolC (trình tự axit nucleic gDPolC tương ứng với SEQ ID NO: 19). Hai tháng sau liều tiêm thứ nhất, chuột được gây miễn dịch bằng vectơ AdC6 được tiêm tăng cường với vectơ AdC7 bao gồm cùng trình tự cài xen (ví dụ, AdC7-gDCore, AdC7-gDPolN, hoặc AdC7-gDPolC). Chuột được lấy máu ở 14 ngày và 56 ngày sau khi tiêm và tần suất tế bào T đối với các trình tự cài xen HBV khác nhau được phân tích bằng cách nhuộm xytokin nội bào (ICS) đối với interferon (IFN)-γ khi kích thích các tế bào với các peptit chồng lên nhau biểu hiện các trình tự HBV. Các tế bào đối chứng được nuôi cấy mà không có peptit. Tần suất và kiểu hình của các tế bào T $CD8^+$ với một epitop có tính ưu thế miễn

dịch trong PolN được thử nghiệm bằng cách nhuộm bằng tetrame MHC I. Độ rộng và tính đặc hiệu của các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ với peptit riêng biệt trong trình tự đích được thực hiện bằng cách lập bản đồ epitop của tế bào lách (các tế bào T $CD8^+$ được thử nghiệm bằng ICS đối với IFN-γ).

Để đánh giá các tế bào T $CD8^+$ trong gan, chuột C57Bl/6 (n=8 mỗi nhóm) được nhận bằng cách tiêm tĩnh mạch $1x10^{10}$ bộ gen virut (vg) của AAV8-1.3HBV, $1x10^{11}$ vg AAV8-1.3HBV, hoặc không tiêm gì qua tĩnh mạch đuôi của chúng, và 4 tuần sau đó được nhận một liều tiêm bắp (IM) $5x10^9$ hạt virut (vp) của AdC6-gDPolN. Tám tuần sau khi tiêm IM, chuột được an tử, gan được lấy ra, và các tế bào lympho được phân lập và được nhuộm bằng các chất đánh dấu tế bào T và tetrame nhận diện thụ thể tế bào T với epitop có tính ưu thế miễn dịch có mặt trong trình tự PolN.

Trong một thí nghiệm riêng biệt, ba nhóm chuột C57Bl/6 (n=4 mỗi nhóm) được tiêm bắp đơn liều $5x10^9$ hạt virut (vp) của AdC6-gDPolN ở tuần thứ tư (-), hoặc được tiêm tĩnh mạch $1x10^{11}$ bộ gen virut (vg) của AAV8-1.3HBV qua tĩnh mạch đuôi, có hoặc không có tiêm bắp đơn liều $5x10^9$ vp của AdC6-gDPolN bốn tuần sau đó. Khoảng 2 tháng sau khi tiêm AAV8-1.3HBV, chuột được an tử, gan được lấy ra và các lát gan được chuẩn bị từ mỗi nhóm trong ba nhóm, được nhuộm hematoxylin và eosin và đánh giá sự xâm nhập của tế bào lympho. Từ cùng một thí nghiệm, các tế bào được nhuộm với tetrame đặc hiệu và các kháng thể gắn chất có huỳnh quang đối với T-bet (dòng vô tính 4B10, nhuộm BV785) hoặc các kháng thể đối với PD-1 (dòng vô tính 29F.1A12, nhuộm BF605), TIM-3 (dòng vô tính RMT3-23, nhuộm Pe/Cy7), CTLA-4 (dòng vô tính UC10-4B9, nhuộm PE), hoặc LAG-3 (dòng vô tính C9B7W, nhuộm BV650). Các tế bào được phân tích bằng phương pháp đo tế bào theo dòng chảy và được chọn lọc trên các tế bào $CD44^+CD8$ tetrame dương tính, sau đó được chọn lọc trên các dấu hiệu. Tỷ lệ phần trăm tế bào dương tính với dấu hiệu được xác định từ các biểu đồ so sánh với các tế bào T nguyên thể chưa được xử lý.

Phương pháp – Hiệu lực

Nghiên cứu vectơ AAV8-1.3HBV - Để đánh giá tác động của AdC6-gDPolN đối với sự phơi nhiễm virut HBV mãn tính, chuột C57Bl/6 (n=8 mỗi nhóm) được thử thách tiêm tĩnh mạch qua tĩnh mạch đuôi với $1x10^{10}$ bộ gen virut (vg) của AAV8-1.3HBV và bốn tuần sau đó được gây miễn dịch một lần bằng cách tiêm bắp $5x10^9$ hạt virut (vp) của AdC6-gDPolN. Nồng độ virut DNA HBV được đánh giá bằng qPCR; những thay đổi trước và sau khi chủng ngừa vắc-xin so với đường cơ sở (log_{10} bản sao/mL) đã được báo cáo. Số lượng bản sao bộ gen virut được đánh giá ở tuần thứ tư, sáu, tám, mười và mười hai sau thử thách AAV8. Động lực học virut được đánh giá bằng PCR theo thời

gian và sự thay đổi log_{10} trong số lượng bản sao HBV trên mL được đánh giá. Số lượng chuột cho thấy sự giảm một, hai hoặc ba log tại các thời điểm khác nhau sau khi điều trị đã được đánh giá.

Tác động của sự phơi nhiễm virut HBV mãn tính đối với sự nhận diện kháng nguyên tế bào T $CD8^+$ theo thời gian - Ảnh hưởng của AAV8-1.3HBV đối với tế bào T $CD8^+$ của gan do vắc-xin gây ra đã được đánh giá. Profil epitop trong tế bào lách của chuột nguyên thể chưa được xử lý được gây miễn dịch một lần bằng cách tiêm bắp $5x10^9$ hạt virut (vp) của AdC6-gDPolN được xác định 4 tuần sau khi chủng ngừa vắc-xin. Chuột được thử thách với $1x10^{10}$ và $1,5x10^{11}$ bộ gen virut (vg) của AAV8-1.3HBV và sau đó được chủng ngừa vắc-xin với $5x10^9$ hạt virut (vp) của AdC6-gDPolN 4 tuần sau đó đã có profil epitop tế bào T $CD8^+$ trong tế bào lách được thực hiện 10 tuần sau khi chủng ngừa vắc-xin (14 tuần sau khi tiêm AAV). Profil epitop giữa chuột được chủng ngừa vắc-xin nguyên thể chưa được xử lý với AAV và chuột được điều trị AAV được so sánh. Tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN từ gan được phân tích các dấu hiệu biệt hóa.

Kết quả

Khả năng sinh miễn dịch - Việc chủng ngừa gây ra các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ mạnh và kéo dài với PolN (tần suất trung bình trên tất cả các tế bào T $CD8^+$ lưu thông: 6,0%) và các đáp ứng thấp hơn với PolC và Core (tần suất trung bình: 1,0% và 0,4%, tương ứng; Fig. 9A và Fig. 9B). Việc tăng cường ở 8 tuần làm tăng các đáp ứng với tất cả các vùng với những thay đổi đáng kể quan sát được đối với Core ($p=0,007$) (Fig. 9C). Các Fig. 9A-9C thể hiện % tế bào T $CD8^+$ trên tất cả các tế bào T $CD8^+$ đối với các con chuột riêng biệt với các trung vị được chỉ ra bằng các đường. Chủng ngừa gây ra việc nhận diện epitop rộng bằng các tế bào T $CD8^+$ được tiêm tăng cường thêm sau khi tiêm tăng cường (từ 27% đến 34%; Fig. 10).

Ở tuần 12 sau khi chủng ngừa bằng AdC6-gDPolN, các con chuột đã tiêm được lây nhiễm AAV8-1.3HBV cho thấy sự gia tăng ưu tiên trong việc thâm nhiễm $CD8^+$ ở tế bào gan (Fig. 11A-11B và Fig. 12A-12F), sự có mặt của các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HBV do vắc-xin gây ra bị giảm (Fig. 11A và Fig. 11B) và mức độ giảm nhẹ của T-bet (gợi ý về việc mất các chức năng hiệu ứng) (Fig. 13A-13B). Fig. 11A thể hiện % các tế bào T $CD8^+$ trên tất cả các tế bào lympho được phục hồi từ các gan riêng biệt. Fig. 11B thể hiện phần trăm các tế bào $CD8^+$ dương tính với tetrame, được xác định từ các biểu đồ so với các tế bào T nguyên thể chưa được xử lý. Tuy nhiên, không có mô hình rõ ràng của các chất đánh dấu tế bào gợi ý về sự biệt hóa tế bào T với kiểu hình cạn kiệt quan sát được giữa chuột được lây nhiễm và không được lây nhiễm AAV1.3HBV được chủng ngừa (Fig. 13A-13B).

Hiệu quả - Sau một lần tiêm IM duy nhất của vectơ AdC6-gDPolN, các con chuột bị nhiễm AAV8-1.3HBV có sự suy giảm ADN HBV đa log trong huyết thanh kéo dài trong suốt thời gian 8 tuần sau khi chủng ngừa vắc-xin (Fig. 14). Sau khi chủng ngừa vắc-xin, mức giảm trung bình tải lượng virut ADN HBV trong huyết thanh ở tuần thứ tư và thứ tám lần lượt là 0,86 và 2,69 $\log_{10}$ cps/mL (Fig. 14A). Vào tuần thứ 8, tất cả các con vật đều có > 1 $\log_{10}$ cps/mL, 6/7 (86%) có > 2 $\log_{10}$ cps/mL và 2/7 (29%) có > 3 $\log_{10}$ cps/mL giảm so với ban đầu (Fig. 14B).

Sau một lần tiêm vectơ AdC6-gDPolN duy nhất, các kiểu nhận diện tế bào T $CD8^+$ riêng biệt đối với các peptit PolN trong tế bào lách đã được quan sát thấy khi so sánh chuột bị nhiễm AAV-HBV và chuột chưa bị nhiễm. Fig. 15A và Fig. 15B minh họa kết quả từ các thí nghiệm trong đó chuột lần đầu tiên được tiêm AAV-1.3HBV và sau đó bốn tuần sau được tiêm tăng cường bằng 10^{10} vp vectơ AdC6-gDPolN, tế bào lách được thu hoạch 8 tuần sau khi tiêm chủng và được thử nghiệm bằng ICS để tìm IFN-γ sau một thời gian kích thích ngắn *in vitro* với các peptit riêng lẻ trải dài trên trình tự PolN. Các tần suất nền thu được mà không có peptit được trừ đi. Fig. 15A cho thấy profil nhận diện peptit của các con chuột chỉ được chủng ngừa vắc-xin AdC6-gDPolN tiếp theo là các con chuột lần đầu tiên được tiêm các liều lượng đã chỉ định của vectơ AAV8-1.3HBV. Biểu đồ hình tròn trên Fig. 15B cho thấy các phản ứng tương ứng với các peptit đạt ngưỡng 0,1% của tất cả các tế bào $CD44^+CD8^+$ (dữ liệu tương ứng với dữ liệu trên Fig. 15A). Mỗi lát cắt/màu sắc biểu thị tần suất phản ứng với một peptit riêng lẻ với kích thước biểu thị tỷ lệ của tổng số; chỉ những phản ứng lớn hơn 0,1% mới được đưa vào. Việc mở rộng chỉ ra các epitop chỉ được nhận diện ở các con chuột bị nhiễm AAV8-1.3HBV. Người ta thấy rằng việc xử lý sơ bộ bằng AAV làm giảm cả số lượng các epitop được nhận diện sau một lần tiêm IM mồi duy nhất và cường độ của phản ứng miễn dịch dưới dạng tổng số tế bào T $CD8^+$ sản xuất IFN-γ trên nhóm tế bào T $CD8^+$. Xử lý sơ bộ bằng AAV đã chuyển sự nhận diện tế bào T sang các epitop mới, chiếm khoảng một phần ba đáp ứng tế bào T $CD8^+$ có thể phát hiện được. Tỷ lệ đáp ứng tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu HBV chức năng cao nhất ở chuột chưa bị nhiễm (4,4%, Fig. 15B) nhưng giảm khi có AAV8-1.3HBV liều thấp và liều cao (lần lượt là 2,0% và 0,6%, Fig. 15B). Chuột không bị nhiễm AAV8-1.3HBV cho thấy đáp ứng tế bào T $CD8^+$ mạnh đối với một số epitop, những đáp ứng này giảm và chuyển dịch ở chuột bị nhiễm AAV-HBV để bao gồm khả năng nhận diện epitop mới của tế bào T.

Thảo luận

Vắc-xin trị liệu HBV nhắm đích hoạt hóa tế bào T $CD8^+$ sớm bằng cách sử dụng gD làm chất ức chế điểm kiểm soát mã hóa di truyền được tạo ra và cho thấy là:

- Gây ra các đáp ứng tế bào T CD8$^+$ hiệu quả và bền vững đối với các kháng nguyên HBV chính (Fig. 9);
- Kích thích các đáp ứng tế bào T CD8$^+$ rất rộng (Fig. 10) bao gồm việc nhận diện các epitop dưới mức chiếm ưu thế (Fig. 15); và
- Đạt được mức giảm tải lượng virut ADN HBV đa log kéo dài ở mô hình chuột AAV (Fig. 14) với việc vận chuyển ưu tiên của các tế bào T CD8$^+$ chức năng đến gan (các Fig. 11 và 12).

Trong các nghiên cứu AAV được bộc lộ, việc nhiễm HBV do AAV gây ra đã gây mất khả năng nhận diện tế bào T CD8$^+$ đối với các epitop chiếm ưu thế của PolN sau khi chủng ngừa vắc-xin AdC6-gDPolN (Fig. 15). Không có ý định bị ràng buộc bởi lý thuyết, người ta tin rằng chính phạm vi của các tế bào T CD8$^+$ được gD tạo ra và khả năng nhận diện các epitop dưới mức chiếm ưu thế của chúng đã dẫn đến phản ứng miễn dịch kéo dài và ức chế HBV đa logarit.

Khả năng sinh miễn dịch của AdC6/7-gDPolN trong máu và gan sau khi chủng ngừa ở chuột nhiễm HBV gây ra bởi AAV

Các nghiên cứu sau đây đã được thực hiện để đánh giá đáp ứng của tế bào T CD8$^+$ đối với vắc-xin AdC6-gDPolN trong máu, lá lách và gan của động vật khi có nhiễm HBV do AAV gây ra từ trước.

Thí nghiệm #1- Đáp ứng tế bào T CD8$^+$ ở chuột bị nhiễm AAV8-1.3HBV: động học phản ứng trong máu

Mục đích - Đánh giá hiệu quả của nồng độ kháng nguyên HBV liên tục đối với đáp ứng của tế bào T CD8$^+$ đối với kháng nguyên gDPolN được biểu hiện trong vectơ AdC6.

Phương pháp - Chuột C57Bl/6 được tiêm tĩnh mạch 10^{10} vectơ AAV8-1.3HBV. Bốn tuần sau, chúng được chủng ngừa vắc-xin $5x10^9$ vp vectơ AdC6-gDPolN. Chuột đối chứng chỉ được tiêm vectơ AdC6-gDPolN. Chuột chưa chủng ngừa vắc-xin được dùng làm mẫu đối chứng bổ sung. Chuột được tiêm tăng cường 2 tháng sau đó với cùng liều vắc-xin AdC7-gDPolN. Máu được lấy vào nhiều thời điểm khác nhau sau lần tiêm cơ bản và lần tiêm tăng cường và PBMC được xét nghiệm để tìm tế bào T CD8$^+$ sản xuất IFN-γ.

Kết quả - Như thể hiện trên Fig. 16, chuột đã tăng cường đáp ứng với tế bào T CD8$^+$ đặc hiệu PolN mạnh mẽ 2 tuần sau khi chủng ngừa vắc-xin, đáp ứng này giảm dần vào tuần thứ 8 và sau đó tăng trở lại sau khi tiêm liều tăng cường. Đáp ứng tế bào T CD8$^+$ ổn định hơn sau khi tiêm liều tăng cường so với sau khi tiêm liều cơ bản. Tại hầu

hết các thời điểm, thử nghiệm được thử nghiệm thấp hơn ở các con chuột đã được tiêm vectơ AAV8-1.3HBV so với các con chuột đối chứng không được tiêm vectơ AAV.

Thí nghiệm #2 - các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ ở chuột được tiêm AAV8-1.3HBV: các đáp ứng trong gan

Mục đích – Đánh giá đáp ứng tế bào T $CD8^+$ bao gồm các dấu hiệu chỉ ra sự cạn kiệt tế bào T trong gan của chuột đã được chủng ngừa vắc-xin AAV8-1.3HBV bị nhiễm AAV8-1.3.

Phương pháp - Chuột C57Bl/6 được tiêm tĩnh mạch 10^{10} hoặc 10^{11} vg vectơ AAV8-1.3HBV. Bốn tuần sau, chúng được chủng ngừa vắc-xin $5x10^9$ vp vectơ AdC6-gDPolN. Chuột đối chứng chỉ được tiêm vectơ AdC6-gDPolN. Chuột chưa được chủng ngừa vắc-xin được dùng làm mẫu đối chứng bổ sung. Chuột được tiêm tăng cường 2 tháng sau đó với cùng liều vắc-xin AdC7-gDPolN.

Để thu được tế bào lympho gan, gan được cắt thành các mảnh nhỏ và xử lý bằng 2 mg/ml Colagenaza P, 1 mg/ml DNaza I (tất cả đều từ Roche, Basel Thụy Sĩ) và FBS 2% (Tissue Culture Biologicals, Tulare, CA) trong L15 trong quá trình khuấy trong 1 giờ. Các mảnh gan được đồng nhất hóa, lọc qua bộ lọc 70 µm và tế bào lympho được tinh chế bằng phương pháp ly tâm Percoll-gradien và rửa bằng DMEM bổ sung FBS 10%. Tế bào lympho được nhuộm bằng thuốc nhuộm sống/chết màu tím (Thermo Fisher Scientific), kháng thể kháng CD8-APC (dòng vô tính 53-6.7, BioLegend), kháng thể kháng CD44-Alexa Flour 700 (dòng vô tính IM7, BioLegend), kháng thể kháng EOMES-Alexa Fluor 488 (dòng vô tính Dan11mag, eBioscience), kháng thể kháng PD1-BV605 (dòng vô tính 29F.1A12, BioLegend), kháng thể kháng LAG3-BV650 (dòng vô tính C9B7W, BioLegend), kháng thể kháng T-bet-BV786 (dòng vô tính 4B10, BioLegend), kháng thể kháng CTLA-4-PE-A (dòng vô tính UC10-4B9, BioLegend), kháng thể kháng TIM-3-Pe-Cy7-A (dòng vô tính RMT3-23, BioLegend) và tetrame MHC lớp I được gắn nhãn APC (NIH tetramer Facility, Emory University, Atlanta GA) tương ứng với các axit amin 396-404 FAVPNLQSL (SEQ ID NO: 188) (peptit 55) của polymeraza HBV ở +4°C trong 30 phút trong bóng tối. Các tế bào được rửa sạch và được phân tích bằng phần mềm BD FACS Celesta (BD Biosciences, San Jose, CA) và DiVa. Các phân tích sau khi thu thập được thực hiện bằng FlowJo (TreeStar, Ashland, OR).

Kết quả - Tần suất tế bào T $CD8^+$ trong thâm nhiễm gan tế bào lympho được phân tích. Tần suất tế bào T $CD8^+$ trong thâm nhiễm gan tế bào lympho đã tăng lên ở chuột đã được chủng ngừa vắc-xin so với chuột chưa được chủng ngừa vắc-xin, và sự gia tăng hơn nữa đã được thấy ở các con chuột đã được tiêm vectơ AAV8-1.3HBV trước

khi chủng ngừa vắc-xin (Fig. 17A). Tần suất tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN được xác định bằng cách nhuộm với một tetrame đặc hiệu cho một epitop có trong phần cài xen PolN đã giảm ở các con chuột được tiêm AAV-1.3HBV (Fig. 17B).

Kiểu hình của tế bào T $tetrame^+CD8^+$ xâm nhập so với tế bào T nguyên thể (tức là tế bào T $tetrame^-CD44^-CD8^+$) được đánh giá bằng cách xác định cường độ huỳnh quang trung bình của thuốc nhuộm liên kết với kháng thể nhất định (Fig. 18A-Fig. 18F) và bằng cách đánh giá tỷ lệ phần trăm (Fig. 19A-Fig. 19F) của tế bào T $CD8^+$ dương tính với các dấu hiệu đã chỉ định.

T-bet kiểm soát một số chức năng của tế bào T $CD8^+$, đã giảm trên tế bào T $CD8^+$ gan từ các con chuột đã được tiêm AAV8-1.3HBV trước khi chủng ngừa vắc-xin khi so sánh với nhóm chỉ chủng ngừa vắc-xin. Các dấu hiệu suy kiệt không tăng lên trong các nhóm được điều trị trước bằng AAV8-1.3HBV, điều này cho thấy tình trạng mất tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN được quan sát thấy khi có HBV không có khả năng là do tình trạng suy kiệt tế bào T $CD8^+$ cổ điển (Fig. 18A-Fig. 18F và Fig. 19A-Fig. 19F).

Thí nghiệm #3 - Độ rộng của đáp ứng tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN ở chuột được tiêm AAV8-1.3HBV

Mục đích - Đánh giá xem sự có mặt của HBV có ảnh hưởng đến phạm vi đáp ứng của tế bào T $CD8^+$ đối với PolN được biểu hiện trong gD bởi vắc-xin AdC hay không.

Phương pháp - Chuột được tiêm tĩnh mạch 10^{10} hoặc 10^{11} vg vectơ AAV8-1.3HBV và được tiêm tăng cường 2 tháng sau đó bằng vectơ AdC7 tương ứng. Chuột đối chứng chỉ được tiêm vectơ AdC6-gDPolN. Chuột được an tử 10 tuần sau đó và các tế bào lách gộp được thử nghiệm với các nhóm peptit trong nghiên cứu trên chuột không bị nhiễm AAV. Kết quả được cung cấp trên Fig. 20A-Fig. 20C.

Trong một thí nghiệm thứ hai, chuột được tiêm tĩnh mạch 10^{10} hoặc 10^{11} vg vectơ AAV8-1.3HBV. Bốn tuần sau, chúng được chủng ngừa vắc-xin với $5x10^{10}$vp vectơ AdC6-gDPolN. Chuột đối chứng chỉ được tiêm vectơ AdC6-gDPolN. Chuột chưa được chủng ngừa vắc-xin được dùng làm mẫu đối chứng bổ sung. Các tế bào lách được phân tích 6 tuần sau đó để tìm tế bào T $CD8^+$ sản xuất IFN-γ để đáp ứng với các peptit riêng lẻ trải dài trên trình tự PolN. Kết quả được cung cấp trên Fig. 20D-Fig. 20F.

Kết quả - Sự có mặt của HBV, đặc biệt là nồng độ HBV cao như sau khi tiêm liều 1011 vg của AAV8-HBV1.3, không chỉ làm giảm đáp ứng tổng thể của tế bào T $CD8^+$ đối với trình tự PolN như được trình diện bởi vắc-xin AdC6-gDPolN mà còn gây ra sự thay đổi trong profil nhận diện epitop.

Thí nghiệm #4 – Chức năng của các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN ở chuột được tiêm AAV8-1.3HBV

Mục đích – Đánh giá xem tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN xâm nhập gan có còn có hoạt tính ở chuột bị nhiễm AAV8-1.3HBV hay không.

Phương pháp - Trong thí nghiệm đầu tiên, chuột C57BL/6 được tiêm tĩnh mạch 3×10^{11} vg AAV8-1.3HBV. Một nhóm được chủng ngừa vắc-xin 8 tuần sau đó với $5x10^{10}$ vp vectơ AdC6-gDPolN. Nhóm còn lại không được chủng ngừa vắc-xin. Chuột được an tử 4,5 tháng sau đó và các tế bào lách được kiểm tra tần suất tế bào T $CD8^+$ sản xuất IFN-γ để đáp ứng với nhóm peptit PolN.

Trong thí nghiệm thứ hai, chuột được tiêm các nồng độ AAV8-1.3HBV được phân loại ($1x10^{10}$, $4x10^{10}$ hoặc $1x10^{11}$). Tất cả chuột đều được chủng ngừa vắc-xin 4 tuần sau đó với 5×10^{10} vp vectơ AdC6-gDPolN. Chuột được tiêm tăng cường 2 tháng sau đó với cùng liều vectơ AdC7-gDPolN. Chuột được an tử 2 tháng sau đó và các tế bào lympho được phân lập từ gan và được thử nghiệm để tìm tế bào T $CD8^+$ sản xuất IFN-γ để đáp ứng với nhóm peptit PolN. Các tế bào cũng được nhuộm bằng kháng thể Tox, một yếu tố phiên mã tăng lên ở các tế bào T cạn kiệt.

Kết quả - Như thể hiện trên Fig. 21, các tế bào T $CD8^+$ do vắc-xin tạo ra vẫn hoạt động ở các con chuột đã được tiêm vectơ AAV8-1.3HBV.

Thí nghiệm #5 - Tác dụng của việc chủng ngừa ở chuột được tiêm AAV8-1.3HBV trên mô gan

Mục đích - Đánh giá xem việc chủng ngừa vắc-xin AdC6/7-gDPolN cho chuột đã chủng ngừa vắc-xin AAV.8-1.3HBV có gây tổn thương gan kéo dài hay không.

Phương pháp - Chuột được tiêm 10^{10} vg AAV8-1.3HPV theo đường tĩnh mạch. Một tháng sau, chúng được chủng ngừa vắc-xin $5x10^9$ vp vectơ AdC6-gDPolN. Chuột được tiêm tăng cường 2 tháng sau đó với cùng liều vectơ AdC7-gDPolN được tiêm ở cùng liều. Chuột được an tử ~ 2 tháng sau đó. Các lát cắt gan được thu thập và cố định trong formaldehyt 10%. Các lát cắt (~ độ dày 3 µm) được chuẩn bị và nhuộm bằng Hematoxylin Eosin (H&E). Chúng được quan sát dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 20 lần.

Kết quả - Một trong 33 phần từ chuột đã nhận được cả vectơ AAV và vắc-xin cho thấy thâm nhiễm tế bào lympho nhỏ ở rìa phần gan.

Như thể hiện trên Fig. 21B, sau một lần chủng ngừa vắc-xin gDPolN duy nhất ở chuột HLA-A2-tg, tần suất tế bào T $CD8^+$ gan sản xuất IFN-γ giảm ở chuột được tiêm AAV so với các con chỉ được chủng ngừa vắc-xin.

Kết luận

- Đáp ứng tế bào T $CD8^+$ đối với PolN giảm ở chuột bị nhiễm AAV8-1.3HBV. Tuy nhiên, chúng vẫn có thể phát hiện được.
- Các dấu hiệu suy kiệt không tăng ở chuột được xử lý sơ bộ bằng AAV8-1.3HBV, điều này cho thấy tình trạng mất tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu PolN khi có HBV không có khả năng là do tình trạng suy kiệt tế bào T CD8+ cổ điển.
- Nhiễm HBV do AAV gây ra đã làm thay đổi cấu hình nhận diện epitop của đáp ứng tế bào T $CD8^+$ đối với PolN.
- Tế bào T $CD8^+$ do vắc-xin gây ra vẫn hoạt động ở các con chuột đã từng bị nhiễm vectơ AAV8-1.3HBV.
- Vắc-xin được sử dụng trong phác đồ tăng cường cơ bản không gây tổn thương gan rõ ràng ở các con chuột dương tính với HBV.

Sự tạo thành các cấu trúc PolN-PolC-Core HBV

Hai trình tự cài xen đa kháng nguyên (PolN-PolC-Core thế hệ thứ hai và PolN-PolC-Core thế hệ thứ ba) được tạo ra. Các trình tự của các trình tự cài xen này được thể hiện bên dưới:

Trình tự cài xen vắc-xin HBV thế hệ thứ 2 ("HBV2") (Pol N (in nghiêng)-Pol C (được gạch dưới)-Core) (SEQ ID NO: 174)

*YLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQEL QHGSCWWLQFRNSKPCSEYCLTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLV DKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDV*QAFT FSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIH TAELLAACFARSRSGAKILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSAL NPADDVGSNLEDPASRELVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGV WIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGR

Trình tự cài xen vắc-xin HBV thế hệ thứ 3 ("HBV3") (Pol N (in nghiêng)-Pol C (được gạch dưới)-Core) (SEQ ID NO: 175)

*HFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLPEWQTPSFPKIHLQEDIV DRCKQFVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHY LHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSKPCSEYCLTHLVN LLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVT*QAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQ VFADATPTGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIHTAELLAACFARSRSGAKILGTDNSVVLS RKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDVGSNLEDPASRELVVSYVNVNMG LKIRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRR DRGR

Trình tự cài xen HBV thế hệ thứ hai ("HBV2") bao gồm epitop PolN chiếm ưu thế miễn dịch được xác định từ chuột không được lây nhiễm với vectơ AAV8-1.3HBV trước khi chủng ngừa. Nhiều epitop trong số các epitop này được tìm thấy bị mất ở mô hình chuột nhiễm HBV mạn tính do việc dùng trước vectơ AAV8-1.3HBV (như được xác định trong "dịch chuyển epitop" ở trên). Trình tự cài xen HBV thế hệ thứ ba ("HBV3") chọn đối với các vùng liền kề của PolN ưu tiên nhận diện bằng các con chuột với tải lượng HBV cao (xem ở trên). Các vùng Core và PolC được chọn cho cả hai cấu trúc sử dụng công thức chung sau: các vùng với các đáp ứng miễn dịch cao nhất trên các vùng cơ bản (Fig. 3) hoặc tăng cường (Fig. 5) ở chuột C57Bl/6, BALBc và tg HLA-A2, và với mục đích chọn vùng liền kề lớn thay vì chọn epitop duy nhất và cài xen các trình tự đệm vào giữa chúng.

Tính toàn vẹn và độ ổn định di truyền của các trình tự cài xen HBV thế hệ thứ 2 và 3 (HBV2 và HBV3)

Thẩm tách Tây - Các chế phẩm vectơ virut tái tổ hợp tinh khiết (AdC6-gDHBV2, AdC6-gDHBV3, AdC7-gDHBV2 và AdC7-gDHBV3) đã được đánh giá về khả năng gây ra biểu hiện sản phẩm gen chuyển *in vitro*. Để đạt được mục đích đó, các thử nghiệm thẩm tách Tây đã được thực hiện để đánh giá biểu hiện của protein gD trong dịch phân hủy tế bào sau khi lây nhiễm môi trường nuôi cấy tế bào bằng vectơ quan tâm. Các lớp tế bào HEK293 bám dính đã bị nhiễm một lượng vectơ tinh khiết đã biết và thu hoạch sau 48 giờ lây nhiễm, được tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm phân hủy và chiết xuất chứa chất ức chế proteaza và bị phân hủy bằng sóng siêu âm. Chiết xuất protein tổng số bị biến tính bằng cách sử dụng dithiothreitol làm tác nhân oxy hóa khử và được đưa vào điện di trong gel polyacrylamit Bis-Tris 12% (PAGE). Sau khi phân tách protein bằng SDS-PAGE, các mẫu được chuyển lên màng polyvinyliden diflorua đã hoạt hóa bằng phương pháp chuyển điện di ướt. Màng được nhuộm miễn dịch để phát hiện protein gD bằng kháng thể chính đối với gD pha loãng thành 1:1000 trong nước muối (bản sao PA1-30233, Invitrogen, Carlsbad, CA) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Màng được rửa bằng 1X TBS-T trước khi ủ với kháng thể IgG thứ cấp kháng thỏ gắn HRP (ab6721, Abcam, Cambridge, Anh) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, thêm ma trận phát quang hóa học gốc luminol. Màng nhuộm được tiếp xúc với phim chụp tự động và phát xạ tín hiệu được đánh giá sau khi xử lý bằng máy tráng phim tự động. Sau khi ghi lại biểu hiện protein gD trong dịch phân hủy tế bào HEK293 bị nhiễm bệnh, màng được tách ra và thăm dò lại để phát hiện sự có mặt của β-actin trong các mẫu chiết protein tổng số. Bước nhuộm này được sử dụng để đánh giá tính nhất quán của bước nạp mẫu PAGE và do đó

hỗ trợ tốt hơn cho phân tích bán định lượng về sự kích thích *in vitro* của biểu hiện protein gD bởi vectơ virut tái tổ hợp.

Độ ổn định - Để đảm bảo tính toàn vẹn về mặt di truyền của cấu trúc virut, tính ổn định về mặt di truyền của từng lô vectơ virut tái tổ hợp được đánh giá thông qua các lần cấy chuyển virut tuần tự trong các nuôi cấy tế bào HEK293 bám dính. Nhóm virut tái tổ hợp thu được từ mỗi lần chuyển gen được nuôi cấy trong điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn trong tổng số 12 lần cấy chuyển. Trong lần cấy chuyển cuối cùng, nhóm virut được mở rộng và thu hoạch thô được tinh chế bằng građien xesi clorua. Sau khi tinh chế vectơ, ADN virut được phân lập bằng bộ dụng cụ máu và mô QIAGEN DNeasy và được đánh giá bằng phương pháp phân cắt bằng enzym giới hạn với Ase I và Bgl II, hai enzym giới hạn phân cắt khuôn ADN theo các kiểu băng được xác định trước đặc hiệu cho từng cấu trúc. Sau khi phân cắt, các mẫu được đưa vào điện di trên gel agaroza 1% chứa ethidi bromua để có thể quan sát các băng đã phân cắt, sau đó ghi lại kết quả bằng hệ thống hình ảnh gel kỹ thuật số. Các chế phẩm virut thể hiện kiểu băng giống hệt với kiểu băng của virut cấy chuyển ban đầu được coi là duy trì cấu trúc bản sao phân tử ban đầu và do đó được coi là ổn định sau 12 lần cấy chuyển virut.

Kết quả - Các kiểu tạo dải của các ADN vectơ virut vẫn ổn định sau 12 lần cấy chuyển so với sau 5 lần cấy chuyển chỉ ra vectơ bộ gen là ổn định (dữ liệu không được thể hiện).

Khả năng sinh miễn dịch của các trình tự cài xen HBV thế hệ thứ 2 và 3 (HBV2 và HBV3) như được biểu hiện bằng các vectơ AdC6 hoặc AdC7

Mục đích - Để đánh giá các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ với các trình tự cài xen HBV2 và HBV3 được biểu hiện bằng vectơ AdC6 hoặc vectơ AdC7.

Phương pháp - Nhóm chuột C57Bl/6 được tiêm bằng $5x10^9$ hoặc $5x10^{10}$ vp vectơ AdC6-gDHBV2 hoặc AdC6-gDHBV3. Chuột được tiêm với cùng liều vectơ AdC6-gDPolN được dùng làm mẫu đối chứng dương tính; các con chuột chưa được tiêm được dùng làm mẫu đối chứng âm tính. Chuột được lấy máu 14 ngày sau đó và PBMC được kiểm tra về tần suất của các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ trong phản ứng với các phần gộp peptit tương ứng với các trình tự cài xen HBV. Bốn tuần sau đó (6 tuần sau khi chủng ngừa) các con chuột được lấy máu lại và được kiểm tra với tetrame đặc hiệu PolN. Các con chuột được gây miễn dịch AdC6-gDHBV3 được loại trừ vì trình tự cài xen này thiếu epitop tương ứng với tetrame.

Nhóm chuột C57Bl/6 được tiêm bằng $5x10^9$ hoặc $5x10^{10}$ vp vectơ AdC7-gDHBV2 hoặc $5x10^{10}$ vp vectơ AdC7-gDHBV3. Các con chuột chưa được tiêm được dùng làm mẫu đối chứng âm tính. Chuột được lấy máu 14 ngày sau đó và PBMC được

kiểm tra về tần suất của các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ trong phản ứng với các phần gộp peptit tương ứng với các trình tự cài xen HBV.

Khả năng sinh miễn dịch của liều cơ bản AdC7 /liều tăng cường AdC6

Chuột được lấy máu ~ 4 tuần sau đó và PBMC được kiểm tra lại bằng ICS đối với các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ và/hoặc TNF-α trong phản ứng với các peptit đối với các trình tự cài xen. Chuột được tiêm tăng cường hai tháng sau liều cơ bản với cùng liều vectơ khác loại biểu hiện cùng trình tự cài xen. PBMC được kiểm tra bằng ICS 2 tuần sau đó và trước và sau liều tăng cường các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ và $CD4^+$ được so sánh. Vectơ AdC7-gDHBV2 gây ra tần suất mạnh của các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ và/hoặc TNF-α sau liều cơ bản. Tần suất tăng sau khi AdC6-gDHBV2 tăng cường và điều này đặc biệt rõ ràng sau các liều vectơ thấp và đối với các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ. Vectơ AdC7-gDHBV3 có tính sinh miễn dịch kém nhưng các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ trở lên dương tính sau khi AdC6-gDHBV3 tăng cường. Trong cùng biểu hiện của các đáp ứng tế bào T $CD4^+$ ở giới hạn sau liều cơ bản nhưng tăng sau liều tăng cường. Không có sự khác biệt rõ rệt ở các đáp ứng $CD4^+$ với trình tự cài xen HBV2 hoặc HBV3.

Kết luận

- Cả hai vectơ AdC6-gDHBV2 và AdC7-gDHBV2 đều có tính sinh miễn dịch cao (Fig. 22A, Fig. 22B, và Fig. 23) và các đáp ứng tăng sau khi tiêm liều tăng cường với vectơ AdC khác loại biểu hiện cùng trình tự cài xen (Fig. 24).
- Các vectơ AdC7-gDHBV2 và AdC7-gDHBV3 thể hiện tính sinh miễn dịch giáp biên phù hợp với thiết kế của chúng vì chúng thiếu epitop tương ứng với tetrame đang được sử dụng (Fig. 22A và Fig. 23).
- Việc tăng cường AdC7-gDHBV2 với AdC6-gDHBV2 gia tăng các đáp ứng tế bào T $CD8^+$.

So sánh hiệu giá virut ADN HBV ở các con chuột được lây nhiễm AdC6-gDPolN, AdC6-gDHBV2, AdC6-gDHBV3, hoặc AdC6-HBV2 AAV

Phương pháp

Năm nhóm chuột C57Bl/6 được thử thách với $1x10^9$ vg AAV8-1.3HBV và được tiêm 4 tuần sau đó với $1x10^{10}$ vp ở mỗi AdC6-gDPolN (n=10), AdC6-gDHBV2 (n=10), AdC6-gDHBV3 (n=10), hoặc AdC6-HBV2 mà không có gD (n=10); chuột được lây nhiễm AAV, không được tiêm ("chưa được tiêm") (n=10) và chuột không được lây nhiễm AAV, không được tiêm (n=2-5) được dùng làm mẫu đối chứng. Hiệu giá virut được kiểm tra 4 tuần sau khi tiêm AAV (trước khi chủng ngừa) và được so sánh với các mức độ 4 tuần sau khi chủng ngừa (tuần 8 sau khi tiêm AAV).

Kết quả

Ở tuần 8, hiệu giá virut HBV trung vị làm tăng 0,98 log_{10} cps/mL ở chuột không được điều trị, vẫn có sự không thay đổi ở các con chuột được tiêm AdC6-HBV2, và bị giảm -0,04, -1,09 và -2,13 log_{10} cps/mL ở chuột được tiêm AdC6-gDHBV3, AdC6-gDPolN và AdC6-gDHBV2, tương ứng (Fig. 25A). Các kết quả đối với các con chuột riêng biệt được thể hiện trên Fig. 25B – tất cả chuột được tiêm AdC6-gDPolN và AdC6-gDHBV2 giảm nhiều hơn 1 và 2 lần log_{10} bản sao/mL, tương ứng; ngược lại, không có chuột chưa được tiêm, chuột được tiêm AdC6-HBV2, hoặc AdC6-gDHBV3 có 1 log_{10} bản sao/mL hoặc giảm nhiều hơn ở tuần 8.

Nghiên cứu khả năng sinh miễn dịch đối với đáp ứng tế bào T $CD8^+$ và phạm vi của chúng đối với các đoạn Core HBV và polymeraza chứa trong gDHBV2 hoặc gDHBV3 sau khi tiêm một liều cơ bản hoặc mồi tiếp theo là tiêm liều tăng cường bằng vectơ khác loại bao gồm cùng một trình tự cài xen.

Thí nghiệm 1

Mục đích: Đánh giá các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ IFN-γ^+ sau khi tiêm liều cơ bản và tăng cường với gD-HBV2 và gD-HBV3 được biểu hiện bằng các vectơ adenovirut tinh tinh khác loại (AdC6 và AdC7) ở chuột C57Bl/6.

Phương pháp: Bốn nhóm gồm năm con chuột C57Bl/6 được gây miễn dịch bằng cách tiêm trong cơ như sau: (a) $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV2 sau hai tháng, tiếp theo là $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV2; (b) $5x10^9$ vp AdC7-gDHBV2 sau hai tháng, tiếp theo là $5x10^9$ vp AdC6-gDHBV2; (c) $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV3 sau hai tháng, tiếp theo là $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV3; hoặc (d) không được tiêm vắc-xin. Máu được đánh giá bằng ICS về các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ IFN-γ^+ 2 và 6 tuần sau liều cơ bản, trước liều tăng cường, và sau đó 2 và 4 tuần sau liều tăng cường.

Kết quả: Tại tất cả các thời điểm được kiểm tra mỗi cấu trúc vắc-xin được tìm thấy đều tạo ra các tế bào T $CD8^+$ IFN-γ^+. Fig. 26 cho thấy tỷ lệ phần trăm các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ và/hoặc TNF-α mẹ (Fig. 26A), tế bào T $CD44^+CD8^+$ (Fig. 26B), tế bào T $CD4^+$ (Fig. 26C) hoặc tế bào T $CD44^+CD4^+$ (Fig. 26D). Các đáp ứng miễn dịch như được đánh giá bằng ICS từ PBMC của các con chuột riêng biệt được thể hiện ở hai và tám tuần sau liều cơ bản, cũng như hai và bốn tuần sau liều tăng cường dưới dạng giá trị trung bình.

Thí nghiệm 2

Mục đích: So sánh các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ IFN-γ^+ sau các liều tiêm cơ bản và tiêm tăng cường khác nhau với gD-HBV2 và gD-HBV3 với gD-PolN bằng cách sử dụng các vectơ adenovirut tinh tinh khác loại (AdC6 và AdC7) ở chuột C57Bl/6.

Phương pháp: Nhóm chuột C57Bl/6 (n=5 con chuột/nhóm) được gây miễn dịch như sau:

Nhóm gDPolN

(a) $5x10^9$ vp AdC6-gDPolN sau ba tháng, tiếp theo là $5x10^9$ vp AdC7-gDPolN; và (b) $5x10^{10}$ vp AdC6-gDPolN sau ba tháng, tiếp theo là $5x10^{10}$ vp AdC7-gDPolN

Nhóm gDHBV2

(c) $5x10^9$ vp AdC6-gDHBV2 sau ba tháng, tiếp theo là $5x10^9$ vp AdC7- gDHBV2 và;

(d) $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV2 sau ba tháng, tiếp theo là $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV2

Nhóm gDHBV3

(e) $5x10^9$ vp AdC6-gDHBV3 sau ba tháng, tiếp theo là $5x10^9$ vp AdC7- gDHBV3 và;

(f) $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV3 sau ba tháng, tiếp theo là $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV3

Nhóm không được điều trị được dùng làm mẫu đối chứng

Đối với tất cả các nhóm điều trị, các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ có khả năng sinh miễn dịch từ máu được đánh giá bằng ICS đối với IFN-γ^+ ở hai và sáu tuần sau liều cơ bản, trước liều tăng cường, và sau đó hai và sáu tuần sau liều tăng cường. Khả năng sinh miễn dịch cũng được đánh giá bằng cách nhuộm tetrame sử dụng tetrame MHC lớp I được đánh dấu APC (NIH tetramer Facility, Emory University, Atlanta GA) tương ứng với axit amin 396-404 FAVPNLQSL (peptit 55) của polymeraza HBV ở tuần bốn sau liều cơ bản. HBV3 không chứa peptit FAVPNLQSL.

Kết quả: Tại tất cả các thời điểm, mỗi vắc-xin được kiểm tra được tìm thấy đều tạo ra các tế bào T $CD8^+$ IFN-γ^+. Kết quả thu được với vắc-xin gDHBV2 tương tự với kết quả thu được với vắc-xin gDPolN; vắc-xin gDHBV3 ít gây miễn dịch hơn. Khi nhuộm tetrame, tần suất của các tế bào T $CD8^+$ đặc hiệu có thể so sánh được giữa hai loại vắc-xin; số lượng chất đánh dấu hoạt hóa có xu hướng biểu hiện nhiều hơn trên các tế bào T tetrame$^+$ $CD8^+$ từ nhóm được gây miễn dịch gDHBV2. Fig. 27 thể hiện các tế bào T $CD8^+$ ở nhiều thời điểm: bốn tuần sau liều cơ bản (Fig. 27A); hai tuần sau liều

tăng cường (Fig. 27B); và bốn tuần sau liều tăng cường (Fig. 27C). Đồ thị thể hiện toàn bộ tần suất của các tế bào T $CD8^+$ tạo ra IFN-γ^+ như được đánh giá bằng ICS.

Fig. 28 thể hiện các tế bào T $CD4^+$ tạo ra xytokin ở nhiều thời điểm: bốn tuần sau liều cơ bản (Fig. 28A); hai tuần sau liều tăng cường (Fig. 28B); và bốn tuần sau liều tăng cường (Fig. 28C) như được đánh giá bằng ICS. Đường nét đứt chỉ ra giới hạn đối với các đáp ứng dương tính, dựa trên các kết quả từ chuột không được điều trị.

Fig. 29 thể hiện các kết quả của việc nhuộm tetrame được giám sát trên các tế bào T $CD8^+$ (Fig. 29A) hoặc tế bào T $CD44^+CD8^+$ (Fig. 29B) ở bốn tuần sau liều cơ bản.

Fig. 30 thể hiện các kiểu hình của các tế bào T tetrame$^+$ $CD8^+$ được thể hiện dưới dạng cường độ huỳnh quang trung bình của thuốc nhuộm được liên kết với kháng thể được chỉ định: Fig. 30A kháng thể kháng PD1 được liên hợp với BV605; Fig. 30B kháng thể kháng LAG3 được liên hợp với BV650; Fig. 30C kháng thể kháng TIM3 được liên hợp với Pe-Cy7-A; Fig. 30D kháng thể kháng CTLA4 được liên hợp với PE-A; Fig. 30E kháng thể kháng EOMES được liên hợp với AF488; và Fig. 30F kháng thể kháng T-bet được liên hợp với BV786.

Thí nghiệm 3

Độ rộng của các đáp ứng được đánh giá từ các tế bào lách được gộp của chuột C57Bl/6 được tiêm mà được kiểm tra bằng ICS đối với peptit riêng biệt có mặt ở trình tự cài xen vắc-xin HBV.

Phương pháp: Bốn nhóm gồm năm con chuột C57Bl/6 được gây miễn dịch bằng cách tiêm trong cơ như sau: (a) $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV2 sau hai tháng, tiếp theo là $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV2; (b) $5x10^9$ vp AdC7-gDHBV2 sau hai tháng, tiếp theo là $5x10^9$ vp AdC6-gDHBV2; (c) $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV3 sau hai tháng, tiếp theo là $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV3; hoặc (3) không được tiêm vắc-xin. Chuột được an tử tám tuần sau liều tăng cường và các tế bào lách được gộp được đánh giá bằng ICS về các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ IFN-γ^+ đối với các peptit HBV2 hoặc HBV3 riêng lẻ (giới hạn đối với các đáp ứng dương tính được thiết lập ở 0,1%).

Kết quả: Việc không phụ thuộc vào liều, phác đồ cơ bản tăng cường với vắc-xin gDHBV2 gây ra các đáp ứng với một số epitop trong Core và polymeraza. Fig. 31 thể hiện các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ sau khi tiêm liều cơ bản $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV2. tiếp theo là chủng ngừa hai tháng sau bằng $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV2. Các số trên trục X tương ứng với SEQ ID NO như được đề xuất ở đây. Fig. 32 thể hiện các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ sau khi tiêm liều cơ bản bằng $5x10^9$ vp AdC7-gDHBV2, tiếp theo là chủng

ngừa hai tháng sau bằng $5x10^9$ vp AdC6-gDHBV2. Các số trên trục X tương ứng với SEQ ID NO như được đề xuất ở đây. Fig. 33 thể hiện khả năng sinh miễn dịch sau khi tiêm liều cơ bản bằng $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV3, tiếp theo là chủng ngừa hai tháng sau bằng $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV3. Các số trên trục X tương ứng với SEQ ID NO như được đề xuất ở đây.

Thí nghiệm 4

Độ rộng của các đáp ứng được đánh giá từ các tế bào lách được gộp của chuột BALB/c được tiêm mà được kiểm tra bằng ICS đối với peptit riêng biệt có mặt ở trình tự cài xen vắc-xin HBV.

Phương pháp: Năm nhóm gồm năm con chuột BALB/c được gây miễn dịch bằng cách tiêm trong cơ như sau: (a) $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV2; (b) $5x10^{10}$ vp AdC6-gDHBV3; (c) $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV2; (d) $5x10^{10}$ vp AdC7-gDHBV3; hoặc (e) không được tiêm vắc-xin. 12 tuần sau khi chủng ngừa chuột được an tử, lá lách được thu thập và các tế bào lách được gộp được đánh giá bằng ICS về các đáp ứng tế bào T $CD8^+$ IFN-γ^+ đối với các peptit HBV2 hoặc HBV3 riêng lẻ (giới hạn đối với các đáp ứng dương tính được thiết lập ở 0,1%).

Kết quả: Ở tuần 12, mỗi cấu trúc vắc-xin được tìm thấy đều gây miễn dịch qua nhiều vùng của các gen Core và polymeraza được phân phối bằng vắc-xin. Fig. 34 thể hiện khả năng sinh miễn dịch của vắc-xin AdC6-gDHBV2 và AdC7-gDHBV2 tương ứng với SEQ ID NO (trục X) như được đề xuất ở đây. Các vùng Core, PolC, và PolN ở cả hai cấu trúc HBV2 có tính sinh miễn dịch. Fig. 35 thể hiện khả năng sinh miễn dịch của vắc-xin AdC6-gDHBV3 và AdC7-gDHBV3 tương ứng với SEQ ID NO (trục X) như được đề xuất ở đây. Các vùng Core, PolC, và PolN ở cả hai cấu trúc HBV3 đều có tính sinh miễn dịch.

Thí nghiệm 5

Phương pháp: Năm nhóm chuột C57Bl/6 được thử thách với $1x10^9$ vg AAV8-1.3HBV và được tiêm 4 tuần sau đó ("tiêm liều cơ bản") với $1x10^{10}$ vp ở mỗi AdC6-gDPolN (n=10), AdC6-gDHBV2 (n=10), AdC6-gDHBV3 (n=10), hoặc AdC6-HBV2 mà không có gD (n=10); chuột được lây nhiễm AAV, không được tiêm (n=10) và chuột không được lây nhiễm AAV, không được tiêm (n=2-5) được dùng làm mẫu đối chứng. Chuột được lấy máu ở các thời điểm khác nhau sau khi tiêm và tần suất của các tế bào T $CD8^+$ và $CD4^+$ đặc hiệu cài xen sẽ được xác định bằng cách nhuộm xytokin nội bào (ICS) đối với IFN-γ. PCR sẽ được thực hiện ở 2 tuần, 6 tuần, và 8 tuần sau khi tiêm liều cơ bản, và thử nghiệm tế bào T sẽ được thực hiện ở 4 tuần sau khi tiêm liều cơ bản.

Ở 8 tuần sau khi tiêm liều cơ bản, các con chuột sẽ được tiêm tăng cường với vectơ AdC7 chứa cùng trình tự cài xen kháng nguyên được sử dụng trong tiêm liều cơ bản ("tiêm liều tăng cường") và máu và huyết thanh sẽ được kiểm tra đối với tế bào T $CD8^+/CD4^+$ như được mô tả trước đó ở các thời điểm khác nhau sau khi chủng ngừa. PCR sẽ được thực hiện ở 2 tuần, 6 tuần, và 10 tuần sau khi tiêm liều tăng cường, và thử nghiệm tế bào T sẽ được thực hiện ở 4 tuần và 12 tuần sau khi tiêm liều tăng cường.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng nhiều thay đổi và cải biến có thể được thực hiện theo các phương án được ưu tiên của sáng chế và các thay đổi và cải biến này có thể được thực hiện mà không vượt ra khỏi tinh thần của sáng chế. Do đó, các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo được dự định bao hàm tất cả các biến thể tương đương nằm trong tinh thần và phạm vi thực sự của sáng chế.

Phần mô tả của mỗi patent, đơn yêu cầu cấp patent, và công bố được trích dẫn hoặc được mô tả ở tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Bảng 9. Trình tự

	Trình tự
Trình tự liên ứng của kiểu gen A (SEQ ID NO: 1)	MDIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTA SALYREALESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMTL ATWVGNNLeDPASRDLVVNYVNTNMGLKIRQLLW FHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPPAYRPPN APILSTLPETTVVRRRDRGRSPRRRTPSPRRRRS QSPRRRRSQSRESQC
Trình tự liên ứng của kiểu gen B (SEQ ID NO: 2)	MDIDpYKEFGASvELLSFLPSDFFPSiRDLLDTA sALYREALESPEHCSPHHTALRQAIlCWGELMNL ATWVGSNLeDPASRELVVsYVNVNMGLKiRQLLW FHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPpAYRPpN APILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQS PRRRRSQSREsQC
Trình tự liên ứng của kiểu gen C (SEQ ID NO: 3)	MDIDpYKEFGASVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTA SALYREALESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMNL ATWVGSNLEDPASRELVVsYVNVNMGLKiRQlLW FHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTPpAYRPPN APILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQS PRRRSQSRESQC

Trình tự liên ứng của kiểu gen D (SEQ ID NO: 4)	MDIDPYKEFGAtVELLSFLPsDFFPSVRDLLDTASALYR eALESPEHCSPHHTALRQAILCWGeLMtLATWVGgNLED PaSRDLVVSYVNTNmGLKFRQLLWFHISCLTFGReTViE YLVSFGVWIRTPpAYRPPNAPILSTLPETTVvRRRGRSP RRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
Trình tự Core ban đầu (SEQ ID NO: 5)	MDIDPYKEFGAX1VELLSFLPSDFFPSX2DLLDTASALYR EALESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMX3LATWVGX4NLe DPASRX5LVVX6YVNX7NMGLKX8RQLLWFHISCLTFGRE TVX9EYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRR RX10X11GRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
Trình tự axit amin Core được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 6)	DIDPYKEFGATVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYRE ALESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGSNLEDP ASRELVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVIEY LVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRS PRRRTPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC
Trình tự nucleotit Core được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 7)	GACATCGACCCCTACAAGGAGTTCGGCGCCACCGTGGAG CTGCTGAGCTTCCTGCCCAGCGACTTCTTCCCCAGCATC AGGGACCTGCTGGACACCGCCAGCGCCCTGTACAGGGAG GCCCTGGAGAGCCCCGAGCACTGCAGCCCCCACCACACC GCCCTGAGGCAGGCCATCCTGTGCTGGGGCGAGCTGATG ACCCTGGCCACCTGGGTGGGCAGCAACCTGGAGGACCCC GCCAGCAGGGAGCTGGTGGTGAGCTACGTGAACGTGAAC ATGGGCCTGAAGATCAGGCAGCTGCTGTGGTTCCACATC AGCTGCCTGACCTTCGGCAGGGAGACCGTGATCGAGTAC CTGGTGAGCTTCGGCGTGTGGATCAGGACCCCCCCCGCC TACAGGCCCCCCAACGCCCCCATCCTGAGCACCCTGCCC GAGACCACCGTGGTGAGGAGGAGGGACAGGGGCAGGAGC CCCAGGAGGAGGACCCCCAGCCCCAGGAGGAGGAGGAGC CAGAGCCCCAGGAGGAGGAGGAGCCAGAGCAGGGAGAGC CAGTGC
Trình tự axit amin đầu tận cùng N của polymeraza	PLSYQHFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAED LNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSF PKIHLQEDIVDRCKQFVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPN VTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGIL YKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSKPCS

được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 8)	EYCLTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVF LVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQ SLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPAAMP
Trình tự nucleotit đầu tận cùng N của polymeraza được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 9)	CCCCTGAGCTACCAGCACTTCAGGAAGCTGCTGCTGCTG GACGAGGAGGCCGGCCCCCTGGAGGAGGAGCTGCCCAGG CTGGCCGACGAGGGCCTGAACAGGAGGGTGGCCGAGGAC CTGAACCTGGGCAACCTGAACGTGAGCATCCCCTGGACC CACAAGGTGGGCAACTTCACCGGCCTGTACAGCAGCACC GTGCCCGTGTTCAACCCCGAGTGGCAGACCCCCAGCTTC CCCAAGATCCACCTGCAGGAGGACATCGTGGACAGGTGC AAGCAGTTCGTGGGCCCCCTGACCGTGAACGAGAAGAGG AGGCTGAAGCTGATCATGCCCGCCAGGTTCTACCCCAAC GTGACCAAGTACCTGCCCCTGGACAAGGGCATCAAGCCC TACTACCCCGAGCACGCCGTGAACCACTACTTCCAGACC AGGCACTACCTGCACACCCTGTGGAAGGCCGGCATCCTG TACAAGAGGGAGACCACCAGGAGCGCCAGCTTCTGCGGC AGCCCCTACAGCTGGGAGCAGGAGCTGCAGCACGGCAGC TGCTGGTGGCTGCAGTTCAGGAACAGCAAGCCCTGCAGC GAGTACTGCCTGACCCACCTGGTGAACCTGCTGGAGGAC TGGGGCCCCTGCGACGAGCACGGCGAGCACCACATCAGG ATCCCCAGGACCCCCGCCAGGGTGACCGGCGGCGTGTTC CTGGTGGACAAGAACCCCCACAACACCGCCGAGAGCAGG CTGGTGGTGGACTTCAGCCAGTTCAGCAGGGGCATCACC AGGGTGAGCTGGCCCAAGTTCGCCGTGCCCAACCTGCAG AGCCTGACCAACCTGCTGAGCAGCAACCTGAGCTGGCTG AGCCTGGACGTGAGCGCCGCCTTCTACCACATCCCCCTG CACCCCGCCGCCATGCCC
Trình tự axit amin đầu tận cùng C của polymeraza được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 10)	HLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIINHQHGTMQNLHDSCSR NLYVSLLLLYKTFGRKLHLYSHPIILKTKRWGYSLNFMG YVIGSWGSLPQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWKVCQRI VGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQSKQAFTFSPTYKA FLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAMGHQR MRGTFVAPLPIHTAELLAACFARSRSGAKILGTDNSVVL SRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSR GRLGLSRPLLRLPFRPTTGRTSLYAVSPSV

Trình tự nucleotit đầu tận cùng C của polymeraza được tối ưu hóa epitop (SEQ ID NO: 11)	CACCTGCTGGTGGGCAGCAGCGGCCTGAGCAGGTACGTG GCCAGGCTGAGCAGCAACAGCAGGATCATCAACCACCAG CACGGCACCATGCAGAACCTGCACGACAGCTGCAGCAGG AACCTGTACGTGAGCCTGCTGCTGCTGTACAAGACCTTC GGCAGGAAGCTGCACCTGTACAGCCACCCCATCATCCTG AAGACCAAGAGGTGGGGCTACAGCCTGAACTTCATGGGC TACGTGATCGGCAGCTGGGGCAGCCTGCCCCAGGACCAC ATCATCCAGAAGATCAAGGAGTGCTTCAGGAAGCTGCCC GTGAACAGGCCCATCGACTGGAAGGTGTGCCAGAGGATC GTGGGCCTGCTGGGCTTCGCCGCCCCCTTCACCCAGTGC GGCTACCCCGCCCTGATGCCCCTGTACGCCTGCATCCAG AGCAAGCAGGCCTTCACCTTCAGCCCCACCTACAAGGCC TTCCTGAGCAAGCAGTACCTGAACCTGTACCCCGTGGCC AGGCAGAGGCCCGGCCTGTGCCAGGTGTTCGCCGACGCC ACCCCCACCGGCTGGGGCCTGGCCATGGGCCACCAGAGG ATGAGGGGCACCTTCGTGGCCCCCCTGCCCATCCACACC GCCGAGCTGCTGGCCGCCTGCTTCGCCAGGAGCAGGAGC GGCGCCAAGATCCTGGGCACCGACAACAGCGTGGTGCTG AGCAGGAAGTACACCAGCTTCCCCTGGCTGCTGGGCTGC GCCGCCAACTGGATCCTGAGGGGCACCAGCTTCGTGTAC GTGCCCAGCGCCCTGAACCCCGCCGACGACCCCAGCAGG GGCAGGCTGGGCCTGAGCAGGCCCCTGCTGAGGCTGCCC TTCAGGCCCACCACCGGCAGGACCAGCCTGTACGCCGTG AGCCCCAGCGTG
Trình tự gD HSV đầu tận cùng N (SEQ ID NO: 12) Peptit tín hiệu ở phần in nghiêng	*MGGAAARLGAVILFVVIVGLHGVRG*KYALADASLKMADP NRFRGKDLPVLDQLTDPPGVRRVYHIQAGLPDPFQPPSL PITVYYAVLERACRSVLLNAPSEAPQIVRGASEDVRKQP YNLTIAWFRMGGNCAIPITVMEYTECSYNKSLGACPIRT QPRWNYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKI NDWTEITQFILEHRAKGSCKYALPLRIPPSACLSPQAYQ QGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVAVYSLKIAGWHGP

Trình tự gD HSV đầu tận cùng C (SEQ ID NO: 13)	GPKAPYTSTLLPPELSETPNATQPELAPEDPEDSALLED PVGTVAPQIPPNWHIPSIQDAATPYHPPATPNNMGLIAG AVGGSLLAALVICGIVYWMHRRTRKAPKRIRLPHIREDD QPSSHQPLFY
Core của trình tự axit amin gDCore được gạch dưới (SEQ ID NO: 14) Peptit tín hiệu ở phần in nghiêng	*MGGAAARLGAVILFVVIVGLHGVRG*KYALADASLKMADP NRFRGKDLPVLDQLTDPPGVRRVYHIQAGLPDPFQPPSL PITVYYAVLERACRSVLLNAPSEAPQIVRGASEDVRKQP YNLTIAWFRMGGNCAIPITVMEYTECSYNKSLGACPIRT QPRWNYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKI NDWTEITQFILEHRAKGSCKYALPLRIPPSACLSPQAYQ QGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVAVYSLKIAGWHGPDIDP YKEFGATVELLSFLPSDFFPSIRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGSNLEDPASRE LVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSF GVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRSPRRR TPSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQCGPKAPYTSTLLPPEL SETPNATQPELAPEDPEDSALLEDPVGTVAPQIPPNWHI PSIQDAATPYHPPATPNNMGLIAGAVGGSLLAALVICGI VYWMHRRTRKAPKRIRLPHIREDDQPSSHQPLFY
Core của trình tự axit nucleic gDCore được gạch dưới (SEQ ID NO: 15)	atgggggggctgccgccaggttgggggccgtgattttg tttgtcgtcatagtgggcctccatggggtccgcggcaaa tatgccttggcggatgcctctctcaagatggccgacccc aatcgctttcgcggcaaagaccttccggtcctggaccag ctgaccgaccctccgggggtccggcgcgtgtaccacatc caggcgggcctaccggacccgttccagccccccagcctc ccgatcacggtttactacgccgtgttggagcgcgcctgc cgcagcgtgctcctaaacgcaccgtcggaggcccccag attgtccgcggggcctccgaagacgtccggaaacaaccc tacaacctgaccatcgcttggtttcggatgggaggcaac tgtgctatccccatcacggtcatggagtacaccgaatgc tcctacaacaagtctctgggggcctgtcccatccgaacg cagccccgctggaactactatgacagcttcagcgccgtc agcgaggataacctggggttcctgatgcacgccccgcg tttgagaccgccggcacgtacctgcggctcgtgaagata

	aacgactggacggagattacacagtttatcctggagcac cgagccaagggctcctgtaagtacgccctcccgctgcgc atccccccgtcagcctgcctctccccccaggcctaccag caggggtgacggtggacagcatcgggatgctgccccgc ttcatccccgagaaccagcgcaccgtcgccgtatacagc ttgaagatcgccgggtggcacgggcccgacatcgacccc tacaaggagttcggcgccaccgtggagctgctgagcttc ctgcccagcgacttcttccccagcatcagggacctgctg gacaccgccagcgccctgtacagggaggccctggagagc cccgagcactgcagcccccaccacaccgccctgaggcag gccatcctgtgctggggcgagctgatgaccctggccacc tgggtgggcagcaacctggaggaccccgccagcagggag ctggtggtgagctacgtgaacgtgaacatgggcctgaag atcaggcagctgctgtggttccacatcagctgcctgacc ttcggcagggagaccgtgatcgagtacctggtgagcttc ggcgtgtggatcaggacccccccgcctacaggcccccc aacgcccccatcctgagcaccctgcccgagaccaccgtg gtgaggaggagggacaggggcaggagccccaggaggagg acccccagccccaggaggaggaggagccagagccccagg aggaggaggagccagagcagggagagccagtgcgggccc aaggccccatacacgagcaccctgctgcccccggagctg tccgagacccccaacgccacgcagccagaactcgccccg gaagaccccgaggattcggccctcttggaggaccccgtg gggacggtggcgccgcaaatcccaccaaactggcacatc ccgtcgatccaggacgccgcgacgccttaccatcccccg gccaccccgaacaacatgggcctgatcgccggcgcggtg ggcggcagtctcctggcagccctggtcatttgcggaatt gtgtactggatgcaccgccgcactcggaaagccccaaag cgcatacgcctcccccacatccgggaagacgaccagccg tcctcgcaccagcccttgttttactag
Trình tự axit amin gDPolN PolN được gạch dưới	*MGGAAARLGAVILFVVIVGLHGVRG*KYALADASLKMADP NRFRGKDLPVLDQLTDPPGVRRVYHIQAGLPDPFQPPSL PITVYYAVLERACRSVLLNAPSEAPQIVRGASEDVRKQP YNLTIAWFRMGGNCAIPITVMEYTECSYNKSLGACPIRT QPRWNYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKI

(SEQ ID NO: 16) Peptit tín hiệu ở phần in nghiêng	NDWTEITQFILEHRAKGSCKYALPLRIPPSACLSPQAYQ QGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVAVYSLKIAGWHGPPLSY QHFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLG NLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPKIH LQEDIVDRCKQFVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNVTKY LPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRE TTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSKPCSEYCL THLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDK NPHNTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQSLTN LLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPAAMPGPKAPYTSTLL PPELSETPNATQPELAPEDPEDSALLEDPVGTVAPQIPP NWHIPSIQDAATPYHPPATPNNMGLIAGAVGGSLLAALV ICGIVYWMHRRTRKAPKRIRLPHIREDDQPSSHQPLFY*
Trình tự axit nucleic gDPolN PolN được gạch dưới (SEQ ID NO: 17)	atgggggggctgccgccaggttgggggccgtgattttg tttgtcgtcatagtgggcctccatggggtccgcggcaaa tatgccttggcggatgcctctctcaagatggccgacccc aatcgctttcgcggcaaagaccttccggtcctggaccag ctgaccgaccctccgggggtccggcgcgtgtaccacatc caggcgggcctaccggacccgttccagccccccagcctc ccgatcacggtttactacgccgtgttggagcgcgcctgc cgcagcgtgctcctaaacgcaccgtcggaggcccccag attgtccgcggggcctccgaagacgtccggaaacaaccc tacaacctgaccatcgcttggtttcggatgggaggcaac tgtgctatccccatcacggtcatggagtacaccgaatgc tcctacaacaagtctctgggggcctgtcccatccgaacg cagccccgctggaactactatgacagcttcagcgccgtc agcgaggataacctggggttcctgatgcacgccccgcg tttgagaccgccggcacgtacctgcggctcgtgaagata aacgactggacggagattacacagtttatcctggagcac cgagccaagggctcctgtaagtacgccctcccgctgcgc atccccccgtcagcctgcctctcccccaggcctaccag caggggtgacggtggacagcatcgggatgctgccccgc ttcatccccgagaaccagcgcaccgtcgccgtatacagc ttgaagatcgccgggtggcacgggcccccctgagctac cagcacttcaggaagctgctgctgctggacgaggaggcc

	ggcccctggaggaggagctgcccaggctggccgacgag ggcctgaacaggagggtggccgaggacctgaacctgggc aacctgaacgtgagcatcccctggacccacaaggtgggc aacttcaccggcctgtacagcagcaccgtgcccgtgttc aaccccgagtggcagacccccagcttccccaagatccac ctgcaggaggacatcgtggacaggtgcaagcagttcgtg ggtcccctgaccgtgaacgagaagaggaggctgaagctg atcatgcccgccaggttctaccccaacgtgaccaagtac ctgcccctggacaagggcatcaagccctactaccccgag cacgccgtgaaccactacttccagaccaggcactacctg cacaccctgtggaaggccggcatcctgtacaagagggag accaccaggagcgccagcttctgcggcagcccctacagc tgggagcaggagctgcagcacggcagctgctggtggctg cagttcaggaacagcaagccctgcagcgagtactgcctg acccacctggtgaacctgctggaggactggggtccctgc gacgagcacggcgagcaccacatcaggatccccaggacc cccgccagggtgaccggcggcgtgttcctggtggacaag aacccccacaacaccgccgagagcaggctggtggtggac ttcagccagttcagcaggggcatcaccagggtgagctgg cccaagttcgccgtgcccaacctgcagagcctgaccaac ctgctgagcagcaacctgagctggctgagcctggacgtg agcgccgccttctaccacatccccctgcaccccgccgcc atgcccgggcccaaggccccatacacgagcaccctgctg cccccggagctgtccgagaccccaacgccacgcagcca gaactcgccccggaagaccccgaggattcggccctcttg gaggaccccgtggggacggtggcgccgcaaatcccacca aactggcacatcccgtcgatccaggacgccgcgacgcct taccatcccccggccaccccgaacaacatgggcctgatc gccggcgcggtgggcggcagtctcctggcagccctggtc atttgcggaattgtgtactggatgcaccgccgcactcgg aaagccccaaagcgcatacgcctcccccacatccgggaa gacgaccagccgtcctcgcaccagcccttgttttactag
Trình tự axit amin gDPolC	*MGGAAARLGAVILFVVIVGLHGVRG*KYALADASLKMADP NRFRGKDLPVLDQLTDPPGVRRVYHIQAGLPDPFQPPSL PITVYYAVLERACRSVLLNAPSEAPQIVRGASEDVRKQP

PolC được gạch dưới (SEQ ID NO: 18) Peptit tín hiệu ở phần in nghiêng	YNLTIAWFRMGGNCAIPITVMEYTECSYNKSLGACPIRT QFRWNYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKI NDWTEITQFILEHRAKGSCKYALPLRIPPSACLSPQAYQ QGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVAVYSLKIAGWHGPHLLV GSSGLSRYVARLSSNSRIINHQHGTMQNLHDSCSRNLYV SLLLLYKTFGRKLHLYSHPIILKTKRWGYSLNFMGYVIG SWGSLPQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLL GFAAPFTQCGYPALMPLYACIQSKQAFTFSPTYKAFLSK QYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAMGHQRMRGT FVAPLPIHTAELLAACFARSRSGAKILGTDNSVVLSRKY TSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLG LSRPLLRLPFRPTTGRTSLYAVSPSVGPKAPYTSTLLPP ELSETPNATQPELAPEDPEDSALLEDPVGTVAPQIPPNW HIPSIQDAATPYHPPATPNNMGLIAGAVGGSLLAALVIC GIVYWMHRRTRKAPKRIRLPHIREDDQPSSHQPLFY
Trình tự axit nucleic gDPolC PolC được gạch dưới (SEQ ID NO: 19)	atgggggggctgccgccaggttgggggccgtgattttg tttgtcgtcatagtgggcctccatggggtccgcggcaaa tatgccttggcggatgcctctctcaagatggccgacccc aatcgctttcgcggcaaagaccttccggtcctggaccag ctgaccgaccctccgggggtccggcgcgtgtaccacatc caggcgggcctaccggacccgttccagccccccagcctc ccgatcacggtttactacgccgtgttggagcgcgcctgc cgcagcgtgctcctaaacgcaccgtcggaggcccccag attgtccgcggggcctccgaagacgtccggaaacaaccc tacaacctgaccatcgcttggtttcggatgggaggcaac tgtgctatccccatcacggtcatggagtacaccgaatgc tcctacaacaagtctctgggggcctgtcccatccgaacg cagccccgctggaactactatgacagcttcagcgccgtc agcgaggataacctggggttcctgatgcacgcccccgcg tttgagaccgccggcacgtacctgcggctcgtgaagata aacgactggacggagattacacagtttatcctggagcac cgagccaagggctcctgtaagtacgccctcccgctgcgc atccccccgtcagcctgcctctcccccccaggcctaccag caggggtgacggtggacagcatcgggatgctgccccgc ttcatccccgagaaccagcgcaccgtcgccgtatacagc

	ttgaagatcgccgggtggcacgggcccc<u>acctgctggtg</u> <u>ggcagcagcggcctgagcaggtacgtggccaggctgagc</u> <u>agcaacagcaggatcatcaaccaccagcacggcaccatg</u> <u>cagaacctgcacgacagctgcagcaggaacctgtacgtg</u> <u>agcctgctgctgctgtacaagaccttcggcaggaagctg</u> <u>cacctgtacagccaccccatcatcctgaagaccaagagg</u> <u>tggggctacagcctgaacttcatgggctacgtgatcggc</u> <u>agctggggcagcctgccccaggaccacatcatccagaag</u> <u>atcaaggagtgcttcaggaagctgcccgtgaacaggccc</u> <u>atcgactggaaggtgtgccagaggatcgtgggcctgctg</u> <u>ggcttcgccgccccttcacccagtgcggctaccccgcc</u> <u>ctgatgcccctgtacgcctgcatccagagcaagcaggcc</u> <u>ttcaccttcagccccacctacaaggccttcctgagcaag</u> <u>cagtacctgaacctgtaccccgtggccaggcagaggccc</u> <u>ggcctgtgccaggtgttcgccgacgccacccccaccggc</u> <u>tggggcctggccatgggccaccagaggatgaggggcacc</u> <u>ttcgtggcccccctgcccatccacaccgccgagctgctg</u> <u>gccgcctgcttcgccaggagcaggagcggcgccaagatc</u> <u>ctgggcaccgacaacagcgtggtgctgagcaggaagtac</u> <u>accagcttcccctggctgctgggctgcgccgccaactgg</u> <u>atcctgaggggcaccagcttcgtgtacgtgcccagcgcc</u> <u>ctgaaccccgccgacgaccccagcaggggcaggctgggc</u> <u>ctgagcaggcccctgctgaggctgcccttcaggcccacc</u> <u>accggcaggaccagcctgtacgccgtgagccccagcgtg</u> gggcccaaggccccatacacgagcaccctgctgcccccg gagctgtccgagacccccaacgccacgcagccagaactc gccccggaagaccccgaggattcggccctcttggaggac cccgtggggacggtggcgccgcaaatcccaccaaactgg cacatcccgtcgatccaggacgccgcgacgccttaccat cccccggccaccccgaacaacatgggcctgatcgccggc gcggtgggcggcagtctcctggcagccctggtcatttgc ggaattgtgtactggatgcaccgccgcactcggaaagcc ccaaagcgcatacgcctcccccacatccgggaagacgac cagccgtcctcgcaccagcccttgttttactag

Trình tự axit amin v2 PolN HBV (SEQ ID NO: 173)	HFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGN LPEWQTPSFPKIHLQEDIVDRCKQFVGPLTVNEKRRLKL IMPARFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYL HTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWL QFRNSKPCSEYCLTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRT PARVT
Trình tự axit amin HBV2 (SEQ ID NO: 174) (Pol N (in nghiêng)-Pol C (được gạch dưới)-Core)	*YLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKR ETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSKPCSEYC LTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVD KNPHNTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQSLT NLLSSNLSWLSLDV*QAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVAR QRPGLCQVFADATPTGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIHTA ELLAACFARSRSGAKILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCA ANWILRGTSFVYVPSALNPADDVGSNLEDPASRELVVSY VNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIR TPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGR
Trình tự axit amin HBV3 (SEQ ID NO: 175) (Pol N (in nghiêng)-Pol C (được gạch dưới)-Core)	*HFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGN LPEWQTPSFPKIHLQEDIVDRCKQFVGPLTVNEKRRLKL IMPARFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYL HTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWL QFRNSKPCSEYCLTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRT PARVT*QAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVF ADATPTGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIHTAELLAACFAR SRSGAKILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTS FVYVPSALNPADDVGSNLEDPASRELVVSYVNVNMGLKI RQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPN APILSTLPETTVVRRRDRGR
Trình tự axit nucleic HBV2 (SEQ ID NO: 176)	tatctgccgctggataaaggcattaaaccgtattatccg gaacatgcggtgaaccattattttcagacccgccattat ctgcataccctgtggaaagcgggcattctgtataaacgc gaaaccacccgcagcgcgagcttttgcggcagcccgtat agctgggaacaggaactgcagcatggcagctgctggtgg ctgcagtttcgcaacagcaaaccgtgcagcgaatattgc ctgacccatctggtgaacctgctggaagattggggaccg tgcgatgaacatggcgaacatcatattcgcattccgcgc

	accccggcgcgcgtgaccggcggcgtgtttctggtggat aaaaacccgcataacaccgcggaaagccgcctggtggtg gattttagccagtttagccgcggcattacccgcgtgagc tggccgaaatttgcggtgccgaacctgcagagcctgacc aacctgctgagcagcaacctgagctggctgagcctggat gtgcaggcgtttacctttagcccgacctataaagcgttt ctgagcaaacagtatctgaacctgtatccggtggcgcgc cagcgcccgggcctgtgccaggtgtttgcggatgcgacc ccgaccggctggggcctggcgatgggccatcagcgcatg cgcggcacctttgtggcgccgctgccgattcataccgcg gaactgctggcggcgtgctttgcgcgcagccgcagcggc gcgaaaattctgggcaccgataacagcgtggtgctgagc cgcaaatataccagctttccgtggctgctgggctgcgcg gcgaactggattctgcgcggcaccagctttgtgtatgtg ccgagcgcgctgaacccggcggatgatgtgggcagcaac ctggaagatccggcgagccgcgaactggtggtgagctat gtgaacgtgaacatgggcctgaaaattcgccagctgctg tggtttcatattagctgcctgacctttggccgcgaaacc gtgattgaatatctggtgagctttggcgtgtggattcgc accccgccggcgtatcgcccgccgaacgcgccgattctg agcaccctgccggaaaccaccgtggtgcgccgccgcgat cggggccgc
Trình tự axit nucleic HBV3 (SEQ ID NO: 177)	cattttcgcaaactgctgctgctggatgaagaagcggga ccgctggaagaagaactgccgcgcctggcggatgaaggc ctgaaccgccgcgtggcggaagatctgaacctgggcaac ctgccggaatggcagaccccgagctttccgaaaattcat ctgcaggaagatattgtggatcgctgcaaacagtttgtg ggaccgctgaccgtgaacgaaaaacgccgcctgaaactg attatgccggcgcgcttttatccgaacgtgaccaaatat ctgccgctggataaaggcattaaaccgtattatccggaa catgcggtgaaccattattttcagacccgccattatctg cataccctgtggaaagcgggcattctgtataaacgcgaa accacccgcagcgcgagcttttgcggcagcccgtatagc tgggaacaggaactgcagcatggcagctgctggtggctg cagtttcgcaacagcaaaccgtgcagcgaatattgcctg

	acccatctggtgaacctgctggaagattggggaccgtgc gatgaacatggcgaacatcatattcgcattccgcgcacc ccggcgcgcgtgacccaggcgtttacctttagcccgacc tataaagcgtttctgagcaaacagtatctgaacctgtat ccggtggcgcgccagcgcccgggcctgtgccaggtgttt gcggatgcgaccccgaccggctggggcctggcgatgggc catcagcgcatgcgcggcacctttgtggcgccgctgccg attcataccgcggaactgctggcggcgtgctttgcgcgc agccgcagcggcgcgaaaattctgggcaccgataacagc gtggtgctgagccgcaaatataccagctttccgtggctg ctgggctgcgcggcgaactggattctgcgcggcaccagc tttgtgtatgtgccgagcgcgctgaacccggcggatgat gtgggcagcaacctggaagatccggcgagccgcgaactg gtggtgagctatgtgaacgtgaacatgggcctgaaaatt cgccagctgctgtggtttcatattagctgcctgaccttt ggccgcgaaaccgtgattgaatatctggtgagctttggc gtgtggattcgcaccccgccggcgtatcgcccgccgaac gcgccgattctgagcaccctgccggaaaccaccgtggtg cgccgccgagatcgaggccgc
Trình tự axit amin PolN HBV2 (SEQ ID NO: 178)	YLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKR ETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSKPCSEYC LTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVD KNPHNTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQSLT NLLSSNLSWLSLDV
Trình tự axit amin PolC HBV2 (SEQ ID NO: 179)	QAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATP TGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIHTAELLAACFARSRSGA KILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVP SALNPADD
Trình tự axit amin Core HBV2 (SEQ ID NO: 180)	VGSNLEDPASRELVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTF GRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVV RRRDRGR
Trình tự axit amin PolN HBV3	HFRKLLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGN LPEWQTPSFPKIHLQEDIVDRCKQFVGPLTVNEKRRLKL IMPARFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYL

(SEQ ID NO: 181)	HTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWL QFRNSKPCSEYCLTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRT PARVT
Trình tự axit amin PolC HBV3 (SEQ ID NO: 182)	QAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATP TGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIHTAELLAACFARSRSGA KILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVP SALNPADD
Trình tự axit amin Core HBV3 (SEQ ID NO: 183)	VGSNLEDPASRELVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTF GRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVV RRRDRGR
Trình tự axit nucleic gD-HBV2 (SEQ ID NO: 184)	atgggggggctgccgccaggttgggggccgtgattttg tttgtcgtcatagtgggcctccatggggtccgcggcaaa tatgccttggcggatgcctctctcaagatggccgacccc aatcgctttcgcggcaaagaccttccggtcctggaccag ctgaccgaccctccgggggtccggcgcgtgtaccacatc caggcgggcctaccggacccgttccagccccccagcctc ccgatcacggtttactacgccgtgttggagcgcgcctgc cgcagcgtgctcctaaacgcaccgtcggaggcccccag attgtccgcggggcctccgaagacgtccggaaacaaccc tacaacctgaccatcgcttggtttcggatgggaggcaac tgtgctatccccatcacggtcatggagtacaccgaatgc tcctacaacaagtctctgggggcctgtcccatccgaacg cagccccgctggaactactatgacagcttcagcgccgtc agcgaggataacctggggttcctgatgcacgccccgcg tttgagaccgccggcacgtacctgcggctcgtgaagata aacgactggacggagattacacagtttatcctggagcac cgagccaagggctcctgtaagtacgccctcccgctgcgc atccccccgtcagcctgcctctcccccaggcctaccag caggggtgacggtggacagcatcgggatgctgccccgc ttcatccccgagaaccagcgcaccgtcgccgtatacagc ttgaagatcgccgggtggcacgggccctatctgccgctg gataaaggcattaaaccgtattatccggaacatgcggtg aaccattattttcagacccgccattatctgcataccctg tggaaagcgggcattctgtataaacgcgaaaccacccgc

	agcgcgagcttttgcggcagcccgtatagctgggaacag gaactgcagcatggcagctgctggtggctgcagtttcgc aacagcaaaccgtgcagcgaatattgcctgacccatctg gtgaacctgctggaagattggggaccgtgcgatgaacat ggcgaacatcatattcgcattccgcgcaccccggcgcgc gtgaccggcggcgtgtttctggtggataaaaacccgcat aacaccgcggaaagccgcctggtggtggattttagccag tttagccgcggcattacccgcgtgagctggccgaaattt gcggtgccgaacctgcagagcctgaccaacctgctgagc agcaacctgagctggctgagcctggatgtgcaggcgttt acctttagcccgacctataaagcgtttctgagcaaacag tatctgaacctgtatccggtggcgcgccagcgcccgggc ctgtgccaggtgtttgcggatgcgaccccgaccggctgg ggcctggcgatgggccatcagcgcatgcgcggcaccttt gtggcgccgctgccgattcataccgcggaactgctggcg gcgtgctttgcgcgcagccgcagcggcgcgaaaattctg ggcaccgataacagcgtggtgctgagccgcaaatatacc agctttccgtggctgctgggctgcgcggcgaactggatt ctgcgcggcaccagctttgtgtatgtgccgagcgcgctg aacccggcggatgatgtgggcagcaacctggaagatccg gcgagccgcgaactggtggtgagctatgtgaacgtgaac atgggcctgaaaattcgccagctgctgtggtttcatatt agctgcctgacctttggccgcgaaaccgtgattgaatat ctggtgagctttggcgtgtggattcgcaccccgccggcg tatcgcccgccgaacgcgccgattctgagcaccctgccg gaaaccaccgtggtgcgccgccgcgatcggggccgcggg cccaaggccccatacacgagcaccctgctgcccccggag ctgtccgagaccccaacgccacgcagccagaactcgcc ccggaagaccccgaggattcggccctcttggaggacccc gtggggacggtggcgccgcaaatcccaccaaactggcac atcccgtcgatccaggacgccgcgacgccttaccatccc ccggccaccccgaacaacatgggcctgatcgccggcgcg gtgggcggcagtctcctggcagccctggtcatttgcgga attgtgtactggatgcaccgccgcactcggaaagcccca

	aagcgcatacgcctcccccacatccgggaagacgaccag ccgtcctcgcaccagcccttgttttactag
Trình tự axit amin gD-HBV2 (SEQ ID NO: 185)	MGGAAARLGAVILFVVIVGLHGVRGKYALADASLKMADP NRFRGKDLPVLDQLTDPPGVRRVYHIQAGLPDPFQPPSL PITVYYAVLERACRSVLLNAPSEAPQIVRGASEDVRKQP YNLTIAWFRMGGNCAIPITVMEYTECSYNKSLGACPIRT QPRWNYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKI NDWTEITQFILEHRAKGSCKYALPLRIPPSACLSPQAYQ QGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVAVYSLKIAGWHGPYLPL DKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTR SASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRNSKPCSEYCLTHL VNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPH NTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLS SNLSWLSLDVQAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPG LCQVFADATPTGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIHTAELLA ACFARSRSGAKILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWI LRGTSFVYVPSALNPADDVGSNLEDPASRELVVSYVNVN MGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPA YRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRGPKAPYTSTLLPPE LSETPNATQPELAPEDPEDSALLEDPVGTVAPQIPPNWH IPSIQDAATPYHPPATPNNMGLIAGAVGGSLLAALVICG IVYWMHRRTRKAPKRIRLPHIREDDQPSSHQPLFY*
Trình tự axit amin gD-HBV3 (SEQ ID NO: 186)	atgggggggctgccgccaggttgggggccgtgattttg tttgtcgtcatagtgggcctccatggggtccgcggcaaa tatgccttggcggatgcctctctcaagatggccgacccc aatcgctttcgcggcaaagaccttccggtcctggaccag ctgaccgaccctccgggggtccggcgcgtgtaccacatc caggcgggcctaccggacccgttccagcccccagcctc ccgatcacggtttactacgccgtgttggagcgcgcctgc cgcagcgtgctcctaaacgcaccgtcggaggcccccag attgtccgcggggcctccgaagacgtccggaaacaaccc tacaacctgaccatcgcttggtttcggatgggaggcaac tgtgctatccccatcacggtcatggagtacaccgaatgc tcctacaacaagtctctgggggcctgtcccatccgaacg cagccccgctggaactactatgacagcttcagcgccgtc

	agcgaggataacctggggttcctgatgcacgccccgcg
	tttgagaccgccggcacgtacctgcggctcgtgaagata
	aacgactggacggagattacacagtttatcctggagcac
	cgagccaagggctcctgtaagtacgccctcccgctgcgc
	atccccccgtcagcctgcctctcccccaggcctaccag
	caggggggtgacggtggacagcatcgggatgctgccccgc
	ttcatccccgagaaccagcgcaccgtcgccgtatacagc
	ttgaagatcgccgggtggcacgggccccattttcgcaaa
	ctgctgctgctggatgaagaagcgggaccgctggaagaa
	gaactgccgcgcctggcggatgaaggcctgaaccgccgc
	gtggcggaagatctgaacctgggcaacctgccggaatgg
	cagaccccgagctttccgaaaattcatctgcaggaagat
	attgtggatcgctgcaaacagtttgtgggaccgctgacc
	gtgaacgaaaaacgccgcctgaaactgattatgccggcg
	cgcttttatccgaacgtgaccaaatatctgccgctggat
	aaaggcattaaaccgtattatccggaacatgcggtgaac
	cattattttcagacccgccattatctgcataccctgtgg
	aaagcgggcattctgtataaacgcgaaaccacccgcagc
	gcgagcttttgcggcagcccgtatagctgggaacaggaa
	ctgcagcatggcagctgctggtggctgcagtttcgcaac
	agcaaaccgtgcagcgaatattgcctgacccatctggtg
	aacctgctggaagattggggaccgtgcgatgaacatggc
	gaacatcatattcgcattccgcgcaccccggcgcgcgtg
	acccaggcgtttacctttagcccgacctataaagcgttt
	ctgagcaaacagtatctgaacctgtatccggtggcgcgc
	cagcgcccgggcctgtgccaggtgtttgcggatgcgacc
	ccgaccggctggggcctggcgatgggccatcagcgcatg
	cgcggcacctttgtggcgccgctgccgattcataccgcg
	gaactgctggcggcgtgctttgcgcgcagccgcagcggc
	gcgaaaattctgggcaccgataacagcgtggtgctgagc
	cgcaaatataccagctttccgtggctgctgggctgcgcg
	gcgaactggattctgcgcggcaccagctttgtgtatgtg
	ccgagcgcgctgaacccggcggatgatgtgggcagcaac
	ctggaagatccggcgagccgcgaactggtggtgagctat
	gtgaacgtgaacatgggcctgaaaattcgccagctgctg

	tggtttcatattagctgcctgacctttggccgcgaaacc gtgattgaatatctggtgagctttggcgtgtggattcgc accccgccggcgtatcgcccgccgaacgcgccgattctg agcaccctgccggaaaccaccgtggtgcgccgccgagat cgaggccgcgggcccaaggccccatacacgagcaccctg ctgcccccggagctgtccgagacccccaacgccacgcag ccagaactcgccccggaagaccccgaggattcggccctc ttggaggaccccgtggggacggtggcgccgcaaatccca ccaaactggcacatcccgtcgatccaggacgccgcgacg ccttaccatcccccggccaccccgaacaacatgggcctg atcgccggcgcggtgggcggcagtctcctggcagccctg gtcatttgcggaattgtgtactggatgcaccgccgcact cggaaagccccaaagcgcatacgcctcccccacatccgg gaagacgaccagccgtcctcgcaccagcccttgttttac tag
Trình tự axit amin gD-HBV3 (SEQ ID NO: 187)	MGGAAARLGAVILFVVIVGLHGVRGKYALADASLKMADP NRFRGKDLPVLDQLTDPPGVRRVYHIQAGLPDPFQPPSL PITVYYAVLERACRSVLLNAPSEAPQIVRGASEDVRKQP YNLTIAWFRMGGNCAIPITVMEYTECSYNKSLGACPIRT QPRWNYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKI NDWTEITQFILEHRAKGSCKYALPLRIPPSACLSPQAYQ QGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVAVYSLKIAGWHGPHFRK LLLLDEEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLPEW QTPSFPKIHLQEDIVDRCKQFVGPLTVNEKRRLKLIMPA RFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHAVNHYFQTRHYLHTLW KAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGSCWWLQFRN SKPCSEYCLTHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARV TQAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADAT PTGWGLAMGHQRMRGTFVAPLPIHTAELLAACFARSRSG AKILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYV PSALNPADDVGSNLEDPASRELVVSYVNVNMGLKIRQLL WFHISCLTFGRETVIEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPIL STLPETTVVRRRDRGRGPKAPYTSTLLPPELSETPNATQ PELAPEDPEDSALLEDPVGTVAPQIPPNWHIPSIQDAAT

	PYHPPATPNNMGLIAGAVGGSLLAALVICGIVYWMHRRT RKAPKRIRLPHIREDDQPSSHQPLFY*

Các phương án thực hiện

Danh sách các phương án sau đây được dự định để bổ sung, thay vì thay thế hoặc loại bỏ phần mô tả trước đó.

Phương án 1. Protein Core của virut viêm gan B (HBV) bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NC: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 2. Protein Core của HBV theo phương án 1, trong đó đoạn gây miễn dịch bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 20-54.

Phương án 3. Protein Core của virut viêm gan B (HBV) bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 4. Phân tử axit nucleic mã hóa protein Core của HBV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 3.

Phương án 5. Phân tử axit nucleic theo phương án 4, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 7.

Phương án 6. Vectơ chứa phân tử axit nucleic theo phương án 4 hoặc 5.

Phương án 7. Vectơ theo phương án 6, trong đó vectơ là vectơ adenovirut.

Phương án 8. Vectơ theo phương án 7, trong đó vectơ adenovirut là vectơ AdC6 hoặc vectơ AdC7.

Phương án 9. Vắc-xin bao gồm vectơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 6 đến 8.

Phương án 10. Miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 11. Miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV theo phương án 10, trong đó đoạn gây miễn dịch bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 55-113.

Phương án 12. Miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 13. Miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 14. Miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV theo phương án 13, trong đó đoạn gây miễn dịch bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 114-172.

Phương án 15. Miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 16. Phân tử axit nucleic mã hóa polymeraza HBV theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 10 đến 15.

Phương án 17. Phân tử axit nucleic theo phương án 16, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 9.

Phương án 18. Phân tử axit nucleic theo phương án 16, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 11.

Phương án 19. Vectơ chứa phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 16 đến 18.

Phương án 20. Vectơ theo phương án 19, trong đó vectơ là vectơ adenovirut.

Phương án 21. Vectơ theo phương án 20, trong đó vectơ adenovirut là vectơ AdC6 hoặc vectơ AdC7.

Phương án 22. Vắc-xin bao gồm vectơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 19 đến 21.

Phương án 23. Protein dung hợp bao gồm một hoặc nhiều protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 24. Protein dung hợp theo phương án 23, bao gồm:

(1) Protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(2) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8);

(3) Protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV

bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(4) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(5) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(6) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(7) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; hoặc

(8) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6), một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8), và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10).

Phương án 25. Protein dung hợp bao gồm miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 26. Protein dung hợp theo phương án 25, bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174.

Phương án 27. Protein dung hợp bao gồm miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 28. Protein dung hợp theo phương án 27, bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175.

Phương án 29. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự glycoprotein (gD) của virut gây bệnh mụn giộp (herpes simplex virus - HSV) đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 30. Protein dung hợp theo phương án 29, trong đó đoạn gây miễn dịch bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 20-54.

Phương án 31. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 32. Protein dung hợp theo phương án 31, trong đó đoạn gây miễn dịch bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 55-113.

Phương án 33. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 34. Protein dung hợp theo phương án 33, trong đó đoạn gây miễn dịch bao gồm SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 114-172.

Phương án 35. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

trình tự HBV bao gồm:

(1) Protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(2) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8);

(3) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(4) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(5) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

(6) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8) và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10);

(7) protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; hoặc

(8) một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 20-54 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 6), một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 55-113 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 8), và một hoặc nhiều SEQ ID NO trong số các SEQ ID NO: 114-172 (các đoạn gây miễn dịch của SEQ ID NO: 10) và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 36. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 37. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 38. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 39. Protein dung hợp bao gồm:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

trình tự HBV bao gồm:

(1) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; hoặc

(2) miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự protein gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

Phương án 40. Protein dung hợp theo phương án 39, trong đó trình tự HBV bao gồm miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 41. Protein dung hợp theo phương án 40, trong đó trình tự HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174.

Phương án 42. Protein dung hợp theo phương án 39, trong đó trình tự HBV bao gồm miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong

SEQ ID NO: 181 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 182 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó

Phương án 43. Protein dung hợp theo phương án 42, trong đó trình tự HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175.

Phương án 44. Protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 43, trong đó trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12.

Phương án 45. Protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 43, trong đó trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm các gốc axit amin 26-269 của SEQ ID NO: 12.

Phương án 46. Protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 45, trong đó trình tự gD HSV đầu tận cùng C bao gồm miền xuyên màng của gD HSV.

Phương án 47. Protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 46, trong đó trình tự gD HSV đầu tận cùng C bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 13.

Phương án 48. Protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 29 đến 47, trong đó protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, SEQ ID NO: 16 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, hoặc SEQ ID NO: 18 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 49. Protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 39 đến 47, trong đó protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185.

Phương án 50. Protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 39 đến 47, trong đó protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187.

Phương án 51. Phân tử axit nucleic mã hóa protein dung hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 23 đến 50.

Phương án 52. Phân tử axit nucleic theo phương án 51, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 15, 17, hoặc 19.

Phương án 53. Phân tử axit nucleic theo phương án 51, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 176.

Phương án 54. Phân tử axit nucleic theo phương án 51, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 177.

Phương án 55. Phân tử axit nucleic theo phương án 51, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184.

Phương án 56. Phân tử axit nucleic theo phương án 51, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 186.

Phương án 57. Vectơ chứa phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 51 đến 56.

Phương án 58. Vectơ theo phương án 57, trong đó vectơ là vectơ adenovirut.

Phương án 59. Vectơ theo phương án 58, trong đó vectơ adenovirut là vectơ AdC6 hoặc vectơ AdC7.

Phương án 60. Vắc-xin bao gồm vectơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 57 đến 59.

Phương án 61. Phương pháp gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV ở đối tượng, phương pháp bao gồm bước cung cấp cho đối tượng lượng protein dung hợp hữu hiệu theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 23 đến 50, phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 51 đến 56, vectơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 57 đến 59, hoặc vắc-xin theo phương án 60 để nhờ đó gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV.

Phương án 62. Phương pháp theo phương án 61, trong đó vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 63. Phương pháp theo phương án 62, còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC6, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 64. Phương pháp theo phương án 61, trong đó vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 65. Phương pháp theo phương án 64, còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC7, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, hoặc 18, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

Phương án 66. Phương pháp theo phương án 61, trong đó vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185.

Phương án 67. Phương pháp theo phương án 66, còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC6, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185.

Phương án 68. Phương pháp theo phương án 61, trong đó vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185.

Phương án 69. Phương pháp theo phương án 68, còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC7, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185.

Phương án 70. Phương pháp theo phương án 61, trong đó vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187.

Phương án 71. Phương pháp theo phương án 70, còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC6, vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187.

Phương án 72. Phương pháp theo phương án 61, trong đó vắc-xin bao gồm vectơ AdC7 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187.

Phương án 73. Phương pháp theo phương án 72, còn bao gồm bước cung cấp cho đối tượng, sau khi cung cấp vắc-xin bao gồm vectơ AdC7, vắc-xin bao gồm vectơ AdC6 chứa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 187.

Phương án 74. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 61 đến 73, trong đó trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 14, 16, 18, 1,5, hoặc 187, hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, không chứa peptit tín hiệu 25 axit amin đầu tận cùng N.

Viện dẫn chéo đến các đơn có liên quan

Đơn yêu cầu hưởng quyền ưu tiên theo đơn tạm thời Mỹ số 62/958,809, được nộp ngày 9 tháng 1, 2020, đơn tạm thời Mỹ số 62/958,827, được nộp ngày 9 tháng 1, 2020, đơn tạm thời Mỹ số 62/967,242, được nộp ngày 29 tháng 1, 2020, đơn tạm thời Mỹ số 62/967,104, được nộp ngày 29 tháng 1, 2020, đơn tạm thời Mỹ số 63/064,506, được nộp ngày 12 tháng 8, 2020, đơn tạm thời Mỹ số 63/064,571, được nộp ngày 12 tháng 8, 2020, đơn tạm thời Mỹ số 63/112,202, được nộp ngày 11 tháng 11, 2020, và đơn tạm thời Mỹ số 63/112,219, được nộp ngày 11 tháng 11, 2020, mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Danh mục trình tự

Đơn này chứa Danh mục trình tự đã được nộp bằng Fig. thức điện tử ở dạng thức ASCII và được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn. Bản sao ASCII này, được tạo ra vào ngày 7 tháng 1 năm 2021, có tên là 111876_000035_SL.txt và có kích thước 151.446 byte.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phân tử axit nucleic bao gồm:

trình tự nucleotit mã hóa miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó,

trình tự nucleotit mã hóa miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và

trình tự nucleotit mã hóa protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó.

2. Phân tử axit nucleic theo điểm 1, trong đó phân tử này mã hóa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174.

3. Phân tử axit nucleic theo điểm 1, trong đó phân tử này còn bao gồm trình tự nucleotit mã hóa:

trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó,

trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó, hoặc

cả hai.

4. Phân tử axit nucleic theo điểm 3, trong đó phân tử này bao gồm:

trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng N hoặc biến thể của nó;

trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp HBV bao gồm:

miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó;

protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng C hoặc biến thể của nó.

5. Phân tử axit nucleic theo điểm 4, trong đó trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174.

6. Phân tử axit nucleic theo điểm 5, trong đó trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12.

7. Phân tử axit nucleic theo điểm 5, trong đó trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm các gốc axit amin 26-269 nêu trong SEQ ID NO: 12.

8. Phân tử axit nucleic theo điểm 5, trong đó trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng C bao gồm miền xuyên màng của gD HSV.

9. Phân tử axit nucleic theo điểm 8, trong đó trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng C bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 13.

10. Phân tử axit nucleic theo điểm 4, trong đó phân tử này bao gồm:

trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm các gốc axit amin 26-269 nêu trong SEQ ID NO: 12,

trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp HBV bao gồm:

miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó,

miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và

protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng C bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 13.

11. Phân tử axit nucleic theo điểm 10, trong đó trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 12.

12. Phân tử axit nucleic theo điểm 10, trong đó trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174.

13. Phân tử axit nucleic theo điểm 10, trong đó trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185.

14. Phân tử axit nucleic theo điểm 12, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 176.

15. Phân tử axit nucleic theo điểm 13, trong đó phân tử axit nucleic bao gồm trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO: 184.

16. Virut chứa phân tử axit nucleic theo điểm 13.

17. Virut theo điểm 16, trong đó virut là adenovirut.

18. Virut theo điểm 17, trong đó adenovirut là AdC6 hoặc AdC7.

19. Vắc-xin chứa virut theo điểm 16.

20. Phân tử axit nucleic bao gồm:

trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng N bao gồm các gốc axit amin 26-269 nêu trong SEQ ID NO: 12,

trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp HBV bao gồm:

miền đầu tận cùng N của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó,

miền đầu tận cùng C của polymeraza HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó, và

protein Core của HBV bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180 hoặc đoạn gây miễn dịch của nó; và

trình tự nucleotit mã hóa trình tự gD HSV đầu tận cùng C bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 13, trong đó trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 185 để sử dụng trong việc gây ra đáp ứng miễn dịch với HBV ở đối tượng.

21. Phân tử axit nucleic để sử dụng theo điểm 20, trong đó phân tử axit nucleic nằm trong virut AdC6.

22. Phân tử axit nucleic để sử dụng theo điểm 20, trong đó phân tử axit nucleic nằm trong virut AdC7.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> VIRION THERAPEUTICS, LLC
THE WISTAR INSTITUTE

<120> PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC, VIRUT CHỨA PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC NÀY VÀ VẮC-XIN CHỨA VIRUT NÀY

<130> 111876.000035

<140>
<141>

<150> 63/112,219
<151> 2020-11-11

<150> 63/112,202
<151> 2020-11-11

<150> 63/064,571
<151> 2020-08-12

<150> 63/064,506
<151> 2020-08-12

<150> 62/967,242
<151> 2020-01-29

<150> 62/967,104
<151> 2020-01-29

<150> 62/958,827
<151> 2020-01-09

<150> 62/958,809
<151> 2020-01-09

<160> 233

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 185
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 1
Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Asn Asn Leu Glu Asp Pro Ala
65 70 75 80

Ser Arg Asp Leu Val Val Asn Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys
85 90 95

Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg
100 105 110

Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr
115 120 125

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
130 135 140

Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg
145 150 155 160

Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg
165 170 175

Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
180 185

<210> 2
<211> 183
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 2
Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Ser Val Glu Leu Leu
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

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

Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys
85 90 95

Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg
100 105 110

Glu Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr
115 120 125

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
130 135 140

Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr
145 150 155 160

Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser
165 170 175

Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
180

<210> 3
<211> 182
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 3

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

<210> 4
<211> 183
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 4
Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Arg Asp Leu Leu Asp
20 25 30

Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys
35 40 45

Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu
50 55 60

Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Gly Asn Leu Glu Asp Pro Ala
65 70 75 80

Ser Arg Asp Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys
85 90 95

Phe Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg
100 105 110

Glu Thr Val Ile Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr
115 120 125

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
130 135 140

Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr
145 150 155 160

Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser
165 170 175

Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
180

<210> 5
<211> 184
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (12)..(12)
<223> /thay thế="S"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (27)..(27)
<223> /thay thế="I"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (66)..(66)
<223> /thay thế="N"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (73)..(73)
<223> /thay thế="S" hoặc "G"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (82)..(82)
<223> /thay thế="E"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (86)..(86)
<223> /thay thế="S"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (90)..(90)
<223> /thay thế="V"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (96)..(96)

<223> /thay thế="F"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (115)..(115)
<223> /thay thế="I"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (152)..(153)
<223> /thay thế=" "

<220>
<221> VỊ TRÍ
<222> (1)..(184)
<223> /lưu ý="Các gốc biến thể được đưa ra trong trình tự không có sự ưu tiên so với các gốc trong chú thích cho các vị trí biến thể"

<400> 5
Met Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Val Asp Leu Leu Asp Thr
20 25 30

Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser
35 40 45

Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu
50 55 60

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

Arg Asp Leu Val Val Asn Tyr Val Asn Thr Asn Met Gly Leu Lys Ile
85 90 95

Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu
100 105 110

Thr Val Leu Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro
115 120 125

Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu
130 135 140

Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg
145 150 155 160

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
165 170 175

Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
180

<210> 6
<211> 184
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 6
Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu Ser
1 5 10 15

Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp Thr
20 25 30

Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser
35 40 45

Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu
50 55 60

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

Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile
85 90 95

Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu
100 105 110

Thr Val Ile Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro
115 120 125

Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu
130 135 140

Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg
145 150 155 160

Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg
165 170 175

Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
180

<210> 7
<211> 552
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 7
gacatcgacc cctacaagga gttcggcgcc accgtggagc tgctgagctt cctgcccagc
60

gacttcttcc ccagcatcag ggacctgctg gacaccgcca gcgccctgta cagggaggcc
120

ctggagagcc ccgagcactg cagcccccac cacaccgccc tgaggcaggc catcctgtgc
180

tggggcgagc tgatgaccct ggccacctgg gtgggcagca acctggagga ccccgccagc
240

agggagctgg tggtgagcta cgtgaacgtg aacatgggcc tgaagatcag gcagctgctg
300

tggttccaca tcagctgcct gaccttcggc agggagaccg tgatcgagta cctggtgagc
360

ttcggcgtgt ggatcaggac ccccccccgcc tacaggcccc ccaacgcccc catcctgagc
420

accctgcccg agaccaccgt ggtgaggagg agggacaggg gcaggagccc caggaggagg
480

acccccagcc ccaggaggag gaggagccag agccccagga ggaggaggag ccagagcagg
540

gagagccagt gc
552

<210> 8
<211> 305
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 8
Pro Leu Ser Tyr Gln His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu Glu
1 5 10 15

Ala Gly Pro Leu Glu Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu
20 25 30

Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val Ser
35 40 45

Ile Pro Trp Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Ser
50 55 60

Thr Val Pro Val Phe Asn Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe Pro Lys
65 70 75 80

Ile His Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe Val Gly
85 90 95

Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala
100 105 110

Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile
115 120 125

Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg
130 135 140

His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu
145 150 155 160

Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln
165 170 175

Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys
180 185 190

Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp
195 200 205

Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg
210 215 220

Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro
225 230 235 240

His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser
245 250 255

Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu
260 265 270

Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu
275 280 285

Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met
290 295 300

Pro
305

<210> 9
<211> 915
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 9
cccctgagct accagcactt caggaagctg ctgctgctgg acgaggaggc cggcccccctg
60

gaggaggagc tgcccaggct ggccgacgag ggcctgaaca ggagggtggc cgaggacctg
120

aacctgggca acctgaacgt gagcatcccc tggacccaca aggtgggcaa cttcaccggc
180

ctgtacagca gcaccgtgcc cgtgttcaac cccgagtggc agacccccag cttccccaag
240

atccacctgc aggaggacat cgtggacagg tgcaagcagt tcgtgggccc cctgaccgtg
300

aacgagaaga ggaggctgaa gctgatcatg cccgccaggt tctaccccaa cgtgaccaag
360

tacctgcccc tggacaaggg catcaagccc tactaccccg agcacgccgt gaaccactac
420

ttccagacca ggcactacct gcacaccctg tggaaggccg gcatcctgta caagagggag
480

accaccagga gcgccagctt ctgcggcagc ccctacagct gggagcagga gctgcagcac
540

ggcagctgct ggtggctgca gttcaggaac agcaagccct gcagcgagta ctgcctgacc
600

cacctggtga acctgctgga ggactggggc ccctgcgacg agcacggcga gcaccacatc
660

aggatcccca ggacccccgc cagggtgacc ggcggcgtgt tcctggtgga caagaacccc
720

cacaacaccg ccgagagcag gctggtggtg gacttcagcc agttcagcag gggcatcacc
780

agggtgagct ggcccaagtt cgccgtgccc aacctgcaga gcctgaccaa cctgctgagc
840

agcaacctga gctggctgag cctggacgtg agcgccgcct tctaccacat ccccctgcac
900

cccgccgcca tgccc
915

<210> 10
<211> 303
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 10
His Leu Leu Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu
1 5 10 15

Ser Ser Asn Ser Arg Ile Ile Asn His Gln His Gly Thr Met Gln Asn
20 25 30

Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Leu Leu Leu
35 40 45

Tyr Lys Thr Phe Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile
50 55 60

Leu Lys Thr Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val
65 70 75 80

Ile Gly Ser Trp Gly Ser Leu Pro Gln Asp His Ile Ile Gln Lys Ile
85 90 95

Lys Glu Cys Phe Arg Lys Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp Trp Lys
100 105 110

Val Cys Gln Arg Ile Val Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro Phe Thr
115 120 125

Gln Cys Gly Tyr Pro Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile Gln Ser
130 135 140

Lys Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Ser Lys
145 150 155 160

Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys
165 170 175

Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly
180 185 190

His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr
195 200 205

Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys
210 215 220

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

Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr
245 250 255

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

Arg Gly Arg Leu Gly Leu Ser Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg
275 280 285

Pro Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val
290 295 300

<210> 11
<211> 909
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 11
cacctgctgg tgggcagcag cggcctgagc aggtacgtgg ccaggctgag cagcaacagc
60

aggatcatca accaccagca cggcaccatg cagaacctgc acgacagctg cagcaggaac
120

ctgtacgtga gcctgctgct gctgtacaag accttcggca ggaagctgca cctgtacagc
180

caccccatca tcctgaagac caagaggtgg ggctacagcc tgaacttcat gggctacgtg
240

atcggcagct ggggcagcct gccccaggac cacatcatcc agaagatcaa ggagtgcttc
300

aggaagctgc ccgtgaacag gcccatcgac tggaaggtgt gccagaggat cgtgggcctg
360

ctgggcttcg ccgccccctt cacccagtgc ggctaccccg ccctgatgcc cctgtacgcc
420

tgcatccaga gcaagcaggc cttcaccttc agccccacct acaaggcctt cctgagcaag
480

cagtacctga acctgtaccc cgtggccagg cagaggcccg gcctgtgcca ggtgttcgcc
540

gacgccaccc ccaccggctg gggcctggcc atgggccacc agaggatgag gggcaccttc
600

gtggcccccc tgcccatcca caccgccgag ctgctggccg cctgcttcgc caggagcagg
660

agcggcgcca agatcctggg caccgacaac agcgtggtgc tgagcaggaa gtacaccagc
720

ttcccctggc tgctgggctg cgccgccaac tggatcctga ggggcaccag cttcgtgtac
780

gtgcccagcg ccctgaaccc cgccgacgac cccagcaggg gcaggctggg cctgagcagg
840

cccctgctga ggctgccctt caggcccacc accggcagga ccagcctgta cgccgtgagc
900

cccagcgtg
909

<210> 12
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 12
Met Gly Gly Ala Ala Ala Arg Leu Gly Ala Val Ile Leu Phe Val Val
1 5 10 15

Ile Val Gly Leu His Gly Val Arg Gly Lys Tyr Ala Leu Ala Asp Ala
20 25 30

Ser Leu Lys Met Ala Asp Pro Asn Arg Phe Arg Gly Lys Asp Leu Pro
35 40 45

Val Leu Asp Gln Leu Thr Asp Pro Pro Gly Val Arg Arg Val Tyr His

```
    50                  55                  60

Ile Gln Ala Gly Leu Pro Asp Pro Phe Gln Pro Pro Ser Leu Pro Ile
65                  70                  75                  80

Thr Val Tyr Tyr Ala Val Leu Glu Arg Ala Cys Arg Ser Val Leu Leu
                85                  90                  95

Asn Ala Pro Ser Glu Ala Pro Gln Ile Val Arg Gly Ala Ser Glu Asp
            100                 105                 110

Val Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ala Trp Phe Arg Met Gly
        115                 120                 125

Gly Asn Cys Ala Ile Pro Ile Thr Val Met Glu Tyr Thr Glu Cys Ser
    130                 135                 140

Tyr Asn Lys Ser Leu Gly Ala Cys Pro Ile Arg Thr Gln Pro Arg Trp
145                 150                 155                 160

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

Leu Met His Ala Pro Ala Phe Glu Thr Ala Gly Thr Tyr Leu Arg Leu
            180                 185                 190

Val Lys Ile Asn Asp Trp Thr Glu Ile Thr Gln Phe Ile Leu Glu His
        195                 200                 205

Arg Ala Lys Gly Ser Cys Lys Tyr Ala Leu Pro Leu Arg Ile Pro Pro
    210                 215                 220

Ser Ala Cys Leu Ser Pro Gln Ala Tyr Gln Gln Gly Val Thr Val Asp
225                 230                 235                 240

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

Ala Val Tyr Ser Leu Lys Ile Ala Gly Trp His Gly Pro
            260                 265
```

<210> 13
<211> 127
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 13
Gly Pro Lys Ala Pro Tyr Thr Ser Thr Leu Leu Pro Pro Glu Leu Ser
1 5 10 15

Glu Thr Pro Asn Ala Thr Gln Pro Glu Leu Ala Pro Glu Asp Pro Glu
20 25 30

Asp Ser Ala Leu Leu Glu Asp Pro Val Gly Thr Val Ala Pro Gln Ile
35 40 45

Pro Pro Asn Trp His Ile Pro Ser Ile Gln Asp Ala Ala Thr Pro Tyr
50 55 60

His Pro Pro Ala Thr Pro Asn Asn Met Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val
65 70 75 80

Gly Gly Ser Leu Leu Ala Ala Leu Val Ile Cys Gly Ile Val Tyr Trp
85 90 95

Met His Arg Arg Thr Arg Lys Ala Pro Lys Arg Ile Arg Leu Pro His
100 105 110

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

<210> 14
<211> 580
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 14

```
Met Gly Gly Ala Ala Ala Arg Leu Gly Ala Val Ile Leu Phe Val Val
1               5                  10                  15

Ile Val Gly Leu His Gly Val Arg Gly Lys Tyr Ala Leu Ala Asp Ala
            20                  25                  30

Ser Leu Lys Met Ala Asp Pro Asn Arg Phe Arg Gly Lys Asp Leu Pro
        35                  40                  45

Val Leu Asp Gln Leu Thr Asp Pro Pro Gly Val Arg Arg Val Tyr His
    50                  55                  60

Ile Gln Ala Gly Leu Pro Asp Pro Phe Gln Pro Pro Ser Leu Pro Ile
65                  70                  75                  80

Thr Val Tyr Tyr Ala Val Leu Glu Arg Ala Cys Arg Ser Val Leu Leu
                85                  90                  95

Asn Ala Pro Ser Glu Ala Pro Gln Ile Val Arg Gly Ala Ser Glu Asp
            100                 105                 110

Val Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ala Trp Phe Arg Met Gly
        115                 120                 125

Gly Asn Cys Ala Ile Pro Ile Thr Val Met Glu Tyr Thr Glu Cys Ser
    130                 135                 140

Tyr Asn Lys Ser Leu Gly Ala Cys Pro Ile Arg Thr Gln Pro Arg Trp
145                 150                 155                 160

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

Leu Met His Ala Pro Ala Phe Glu Thr Ala Gly Thr Tyr Leu Arg Leu
            180                 185                 190

Val Lys Ile Asn Asp Trp Thr Glu Ile Thr Gln Phe Ile Leu Glu His
        195                 200                 205

Arg Ala Lys Gly Ser Cys Lys Tyr Ala Leu Pro Leu Arg Ile Pro Pro
```

```
    210                 215                 220

Ser Ala Cys Leu Ser Pro Gln Ala Tyr Gln Gln Gly Val Thr Val Asp
225                 230                 235                 240

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

Ala Val Tyr Ser Leu Lys Ile Ala Gly Trp His Gly Pro Asp Ile Asp
            260                 265                 270

Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro
        275                 280                 285

Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala
    290                 295                 300

Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His His
305                 310                 315                 320

Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu Met Thr Leu
                325                 330                 335

Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Glu Leu
            340                 345                 350

Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu
        355                 360                 365

Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Ile
    370                 375                 380

Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr
385                 390                 395                 400

Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val
                405                 410                 415

Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser
            420                 425                 430
```

Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser
435 440 445

Arg Glu Ser Gln Cys Gly Pro Lys Ala Pro Tyr Thr Ser Thr Leu Leu
450 455 460

Pro Pro Glu Leu Ser Glu Thr Pro Asn Ala Thr Gln Pro Glu Leu Ala
465 470 475 480

Pro Glu Asp Pro Glu Asp Ser Ala Leu Leu Glu Asp Pro Val Gly Thr
485 490 495

Val Ala Pro Gln Ile Pro Pro Asn Trp His Ile Pro Ser Ile Gln Asp
500 505 510

Ala Ala Thr Pro Tyr His Pro Pro Ala Thr Pro Asn Asn Met Gly Leu
515 520 525

Ile Ala Gly Ala Val Gly Gly Ser Leu Leu Ala Ala Leu Val Ile Cys
530 535 540

Gly Ile Val Tyr Trp Met His Arg Arg Thr Arg Lys Ala Pro Lys Arg
545 550 555 560

Ile Arg Leu Pro His Ile Arg Glu Asp Asp Gln Pro Ser Ser His Gln
565 570 575

Pro Leu Phe Tyr
580

<210> 15
<211> 1743
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 15
atgggggggg ctgccgccag gttgggggcc gtgattttgt ttgtcgtcat agtgggcctc
60

catggggtcc gcggcaaata tgccttggcg gatgcctctc tcaagatggc cgaccccaat
120

cgctttcgcg gcaaagacct tccggtcctg gaccagctga ccgaccctcc gggggtccgg
180

cgcgtgtacc acatccaggc gggcctaccg gacccgttcc agcccccag cctcccgatc
240

acggtttact acgccgtgtt ggagcgcgcc tgccgcagcg tgctcctaaa cgcaccgtcg
300

gaggcccccc agattgtccg cggggcctcc gaagacgtcc ggaaacaacc ctacaacctg
360

accatcgctt ggtttcggat gggaggcaac tgtgctatcc ccatcacggt catggagtac
420

accgaatgct cctacaacaa gtctctgggg gcctgtccca tccgaacgca gccccgctgg
480

aactactatg acagcttcag cgccgtcagc gaggataacc tggggttcct gatgcacgcc
540

cccgcgtttg agaccgccgg cacgtacctg cggctcgtga agataaacga ctggacggag
600

attacacagt ttatcctgga gcaccgagcc aagggctcct gtaagtacgc cctcccgctg
660

cgcatccccc cgtcagcctg cctctccccc caggcctacc agcaggggtt gacggtggac
720

agcatcggga tgctgccccg cttcatcccc gagaaccagc gcaccgtcgc cgtatacagc
780

ttgaagatcg ccgggtggca cgggcccgac atcgacccct acaaggagtt cggcgccacc
840

gtggagctgc tgagcttcct gcccagcgac ttcttcccca gcatcaggga cctgctggac
900

accgccagcg ccctgtacag ggaggccctg gagagccccg agcactgcag cccccaccac
960

accgccctga ggcaggccat cctgtgctgg ggcgagctga tgaccctggc cacctgggtg
1020

ggcagcaacc tggaggaccc cgccagcagg gagctggtgg tgagctacgt gaacgtgaac
1080

atgggcctga agatcaggca gctgctgtgg ttccacatca gctgcctgac cttcggcagg
1140

gagaccgtga tcgagtacct ggtgagcttc ggcgtgtgga tcaggacccc ccccgcctac
1200

aggcccccca acgcccccat cctgagcacc ctgcccgaga ccaccgtggt gaggaggagg
1260

gacaggggca ggagccccag gaggaggacc cccagcccca ggaggaggag gagccagagc
1320

cccaggagga ggaggagcca gagcagggag agccagtgcg ggcccaaggc cccatacacg
1380

agcaccctgc tgcccccgga gctgtccgag acccccaacg ccacgcagcc agaactcgcc
1440

ccggaagacc ccgaggattc ggccctcttg gaggaccccg tggggacggt ggcgccgcaa
1500

atcccaccaa actggcacat cccgtcgatc caggacgccg cgacgcctta ccatcccccg
1560

gccacccccga acaacatggg cctgatcgcc ggcgcggtgg gcggcagtct cctggcagcc
1620

ctggtcattt gcggaattgt gtactggatg caccgccgca ctcggaaagc cccaaagcgc
1680

atacgcctcc cccacatccg ggaagacgac cagccgtcct cgcaccagcc cttgttttac
1740

tag
1743

<210> 16
<211> 701
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 16
Met Gly Gly Ala Ala Ala Arg Leu Gly Ala Val Ile Leu Phe Val Val
1 5 10 15

Ile Val Gly Leu His Gly Val Arg Gly Lys Tyr Ala Leu Ala Asp Ala
20 25 30

```
Ser Leu Lys Met Ala Asp Pro Asn Arg Phe Arg Gly Lys Asp Leu Pro
        35                  40                  45

Val Leu Asp Gln Leu Thr Asp Pro Pro Gly Val Arg Arg Val Tyr His
    50                  55                  60

Ile Gln Ala Gly Leu Pro Asp Pro Phe Gln Pro Pro Ser Leu Pro Ile
65                  70                  75                  80

Thr Val Tyr Tyr Ala Val Leu Glu Arg Ala Cys Arg Ser Val Leu Leu
                85                  90                  95

Asn Ala Pro Ser Glu Ala Pro Gln Ile Val Arg Gly Ala Ser Glu Asp
            100                 105                 110

Val Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ala Trp Phe Arg Met Gly
        115                 120                 125

Gly Asn Cys Ala Ile Pro Ile Thr Val Met Glu Tyr Thr Glu Cys Ser
    130                 135                 140

Tyr Asn Lys Ser Leu Gly Ala Cys Pro Ile Arg Thr Gln Pro Arg Trp
145                 150                 155                 160

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

Leu Met His Ala Pro Ala Phe Glu Thr Ala Gly Thr Tyr Leu Arg Leu
            180                 185                 190

Val Lys Ile Asn Asp Trp Thr Glu Ile Thr Gln Phe Ile Leu Glu His
        195                 200                 205

Arg Ala Lys Gly Ser Cys Lys Tyr Ala Leu Pro Leu Arg Ile Pro Pro
    210                 215                 220

Ser Ala Cys Leu Ser Pro Gln Ala Tyr Gln Gln Gly Val Thr Val Asp
225                 230                 235                 240
```

```
Ser Ile Gly Met Leu Pro Arg Phe Ile Pro Glu Asn Gln Arg Thr Val
                245                 250                 255

Ala Val Tyr Ser Leu Lys Ile Ala Gly Trp His Gly Pro Pro Leu Ser
            260                 265                 270

Tyr Gln His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu Glu Ala Gly Pro
        275                 280                 285

Leu Glu Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg
    290                 295                 300

Val Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val Ser Ile Pro Trp
305                 310                 315                 320

Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Ser Thr Val Pro
                325                 330                 335

Val Phe Asn Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe Pro Lys Ile His Leu
            340                 345                 350

Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr
        355                 360                 365

Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr
    370                 375                 380

Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu
                405                 410                 415

His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg
            420                 425                 430

Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln
        435                 440                 445

His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser
```

450 455 460

Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly Pro
465 470 475 480

Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala
485 490 495

Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr
500 505 510

Ala Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile
515 520 525

Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu
530 535 540

Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser
545 550 555 560

Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro Gly Pro
565 570 575

Lys Ala Pro Tyr Thr Ser Thr Leu Leu Pro Pro Glu Leu Ser Glu Thr
580 585 590

Pro Asn Ala Thr Gln Pro Glu Leu Ala Pro Glu Asp Pro Glu Asp Ser
595 600 605

Ala Leu Leu Glu Asp Pro Val Gly Thr Val Ala Pro Gln Ile Pro Pro
610 615 620

Asn Trp His Ile Pro Ser Ile Gln Asp Ala Ala Thr Pro Tyr His Pro
625 630 635 640

Pro Ala Thr Pro Asn Asn Met Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Gly Gly
645 650 655

Ser Leu Leu Ala Ala Leu Val Ile Cys Gly Ile Val Tyr Trp Met His
660 665 670

Arg Arg Thr Arg Lys Ala Pro Lys Arg Ile Arg Leu Pro His Ile Arg
675 680 685

Glu Asp Asp Gln Pro Ser Ser His Gln Pro Leu Phe Tyr
690 695 700

<210> 17
<211> 2106
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 17
atgggggggg ctgccgccag gttgggggcc gtgattttgt ttgtcgtcat agtgggcctc
60

catggggtcc gcggcaaata tgccttggcg gatgcctctc tcaagatggc cgaccccaat
120

cgctttcgcg gcaaagacct tccggtcctg gaccagctga ccgaccctcc gggggtccgg
180

cgcgtgtacc acatccaggc gggcctaccg gacccgttcc agccccccag cctcccgatc
240

acggtttact acgccgtgtt ggagcgcgcc tgccgcagcg tgctcctaaa cgcaccgtcg
300

gaggcccccc agattgtccg cggggcctcc gaagacgtcc ggaaacaacc ctacaacctg
360

accatcgctt ggtttcggat gggaggcaac tgtgctatcc ccatcacggt catggagtac
420

accgaatgct cctacaacaa gtctctgggg gcctgtccca tccgaacgca gccccgctgg
480

aactactatg acagcttcag cgccgtcagc gaggataacc tggggttcct gatgcacgcc
540

cccgcgtttg agaccgccgg cacgtacctg cggctcgtga agataaacga ctggacggag
600

attacacagt ttatcctgga gcaccgagcc aagggctcct gtaagtacgc cctcccgctg
660

cgcatccccc cgtcagcctg cctctccccc caggcctacc agcagggggt gacggtggac
720

agcatcggga tgctgccccg cttcatcccc gagaaccagc gcaccgtcgc cgtatacagc
780

ttgaagatcg ccgggtggca cgggcccccc ctgagctacc agcacttcag gaagctgctg
840

ctgctggacg aggaggccgg ccccctggag gaggagctgc ccaggctggc cgacgagggc
900

ctgaacagga gggtggccga ggacctgaac ctgggcaacc tgaacgtgag catcccctgg
960

acccacaagg tgggcaactt caccggcctg tacagcagca ccgtgcccgt gttcaacccc
1020

gagtggcaga cccccagctt ccccaagatc cacctgcagg aggacatcgt ggacaggtgc
1080

aagcagttcg tgggtccccct gaccgtgaac gagaagagga ggctgaagct gatcatgccc
1140

gccaggttct accccaacgt gaccaagtac ctgcccctgg acaagggcat caagccctac
1200

taccccgagc acgccgtgaa ccactacttc cagaccaggc actacctgca caccctgtgg
1260

aaggccggca tcctgtacaa gagggagacc accaggagcg ccagcttctg cggcagcccc
1320

tacagctggg agcaggagct gcagcacggc agctgctggt ggctgcagtt caggaacagc
1380

aagccctgca gcgagtactg cctgacccac ctggtgaacc tgctggagga ctggggtccc
1440

tgcgacgagc acggcgagca ccacatcagg atccccagga cccccgccag ggtgaccggc
1500

ggcgtgttcc tggtggacaa gaacccccac aacaccgccg agagcaggct ggtggtggac
1560

ttcagccagt tcagcagggg catcaccagg gtgagctggc ccaagttcgc cgtgcccaac
1620

ctgcagagcc tgaccaacct gctgagcagc aacctgagct ggctgagcct ggacgtgagc
1680

gccgccttct accacatccc cctgcacccc gccgccatgc ccgggcccaa ggccccatac
1740

acgagcaccc tgctgccccc ggagctgtcc gagaccccca acgccacgca gccagaactc
1800

gccccggaag accccgagga ttcggccctc ttggaggacc ccgtggggac ggtggcgccg
1860

caaatcccac caaactggca catcccgtcg atccaggacg ccgcgacgcc ttaccatccc
1920

ccggccaccc cgaacaacat gggcctgatc gccggcgcgg tgggcggcag tctcctggca
1980

gccctggtca tttgcggaat tgtgtactgg atgcaccgcc gcactcggaa agccccaaag
2040

cgcatacgcc tcccccacat ccgggaagac gaccagccgt cctcgcacca gcccttgttt
2100

tactag
2106

<210> 18
<211> 699
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 18
Met Gly Gly Ala Ala Ala Arg Leu Gly Ala Val Ile Leu Phe Val Val
1 5 10 15

Ile Val Gly Leu His Gly Val Arg Gly Lys Tyr Ala Leu Ala Asp Ala
20 25 30

Ser Leu Lys Met Ala Asp Pro Asn Arg Phe Arg Gly Lys Asp Leu Pro
35 40 45

Val Leu Asp Gln Leu Thr Asp Pro Pro Gly Val Arg Arg Val Tyr His
50 55 60

Ile Gln Ala Gly Leu Pro Asp Pro Phe Gln Pro Pro Ser Leu Pro Ile
65 70 75 80

Thr Val Tyr Tyr Ala Val Leu Glu Arg Ala Cys Arg Ser Val Leu Leu

```
                85                  90                  95

Asn Ala Pro Ser Glu Ala Pro Gln Ile Val Arg Gly Ala Ser Glu Asp
            100                 105                 110

Val Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ala Trp Phe Arg Met Gly
        115                 120                 125

Gly Asn Cys Ala Ile Pro Ile Thr Val Met Glu Tyr Thr Glu Cys Ser
    130                 135                 140

Tyr Asn Lys Ser Leu Gly Ala Cys Pro Ile Arg Thr Gln Pro Arg Trp
145                 150                 155                 160

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

Leu Met His Ala Pro Ala Phe Glu Thr Ala Gly Thr Tyr Leu Arg Leu
            180                 185                 190

Val Lys Ile Asn Asp Trp Thr Glu Ile Thr Gln Phe Ile Leu Glu His
        195                 200                 205

Arg Ala Lys Gly Ser Cys Lys Tyr Ala Leu Pro Leu Arg Ile Pro Pro
    210                 215                 220

Ser Ala Cys Leu Ser Pro Gln Ala Tyr Gln Gln Gly Val Thr Val Asp
225                 230                 235                 240

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

Ala Val Tyr Ser Leu Lys Ile Ala Gly Trp His Gly Pro His Leu Leu
            260                 265                 270

Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu Ser Ser Asn
        275                 280                 285

Ser Arg Ile Ile Asn His Gln His Gly Thr Met Gln Asn Leu His Asp
    290                 295                 300
```

```
Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Leu Leu Leu Tyr Lys Thr
305                 310                 315                 320

Phe Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Lys Thr
                325                 330                 335

Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val Ile Gly Ser
            340                 345                 350

Trp Gly Ser Leu Pro Gln Asp His Ile Ile Gln Lys Ile Lys Glu Cys
        355                 360                 365

Phe Arg Lys Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp Trp Lys Val Cys Gln
    370                 375                 380

Arg Ile Val Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro Phe Thr Gln Cys Gly
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile Gln Ser Lys Gln Ala
                405                 410                 415

Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Ser Lys Gln Tyr Leu
            420                 425                 430

Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe
        435                 440                 445

Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly His Gln Arg
    450                 455                 460

Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu
465                 470                 475                 480

Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Ile Leu Gly
                485                 490                 495

Thr Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp
            500                 505                 510
```

Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val
515 520 525

Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg
530 535 540

Leu Gly Leu Ser Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr
545 550 555 560

Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val Gly Pro Lys Ala
565 570 575

Pro Tyr Thr Ser Thr Leu Leu Pro Pro Glu Leu Ser Glu Thr Pro Asn
580 585 590

Ala Thr Gln Pro Glu Leu Ala Pro Glu Asp Pro Glu Asp Ser Ala Leu
595 600 605

Leu Glu Asp Pro Val Gly Thr Val Ala Pro Gln Ile Pro Pro Asn Trp
610 615 620

His Ile Pro Ser Ile Gln Asp Ala Ala Thr Pro Tyr His Pro Pro Ala
625 630 635 640

Thr Pro Asn Asn Met Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Gly Gly Ser Leu
645 650 655

Leu Ala Ala Leu Val Ile Cys Gly Ile Val Tyr Trp Met His Arg Arg
660 665 670

Thr Arg Lys Ala Pro Lys Arg Ile Arg Leu Pro His Ile Arg Glu Asp
675 680 685

Asp Gln Pro Ser Ser His Gln Pro Leu Phe Tyr
690 695

<210> 19
<211> 2100
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 19
atgggggggg ctgccgccag gttgggggcc gtgattttgt ttgtcgtcat agtgggcctc
60

catggggtcc gcggcaaata tgccttggcg gatgcctctc tcaagatggc cgaccccaat
120

cgctttcgcg gcaaagacct tccggtcctg gaccagctga ccgaccctcc gggggtccgg
180

cgcgtgtacc acatccaggc gggcctaccg gacccgttcc agccccccag cctcccgatc
240

acggtttact acgccgtgtt ggagcgcgcc tgccgcagcg tgctcctaaa cgcaccgtcg
300

gaggcccccc agattgtccg cggggcctcc gaagacgtcc ggaaacaacc ctacaacctg
360

accatcgctt ggtttcggat gggaggcaac tgtgctatcc ccatcacggt catggagtac
420

accgaatgct cctacaacaa gtctctgggg gcctgtccca tccgaacgca gccccgctgg
480

aactactatg acagcttcag cgccgtcagc gaggataacc tggggttcct gatgcacgcc
540

cccgcgtttg agaccgccgg cacgtacctg cggctcgtga agataaacga ctggacggag
600

attacacagt ttatcctgga gcaccgagcc aagggctcct gtaagtacgc cctcccgctg
660

cgcatccccc cgtcagcctg cctctccccc caggcctacc agcaggggt gacggtggac
720

agcatcggga tgctgccccg cttcatcccc gagaaccagc gcaccgtcgc cgtatacagc
780

ttgaagatcg ccgggtggca cgggccccac ctgctggtgg gcagcagcgg cctgagcagg
840

tacgtggcca ggctgagcag caacagcagg atcatcaacc accagcacgg caccatgcag
900

aacctgcacg acagctgcag caggaacctg tacgtgagcc tgctgctgct gtacaagacc
960

ttcggcagga agctgcacct gtacagccac cccatcatcc tgaagaccaa gaggtggggc
1020

tacagcctga acttcatggg ctacgtgatc ggcagctggg gcagcctgcc ccaggaccac
1080

atcatccaga agatcaagga gtgcttcagg aagctgcccg tgaacaggcc catcgactgg
1140

aaggtgtgcc agaggatcgt gggcctgctg ggcttcgccg ccccttcac ccagtgcggc
1200

taccccgccc tgatgccccct gtacgcctgc atccagagca agcaggcctt caccttcagc
1260

cccacctaca aggccttcct gagcaagcag tacctgaacc tgtaccccgt ggccaggcag
1320

aggcccggcc tgtgccaggt gttcgccgac gccacccccа ccggctgggg cctggccatg
1380

ggccaccaga ggatgagggg caccttcgtg gccccccctgc ccatccacac cgccgagctg
1440

ctggccgcct gcttcgccag gagcaggagc ggcgccaaga tcctgggcac cgacaacagc
1500

gtggtgctga gcaggaagta caccagcttc ccctggctgc tgggctgcgc cgccaactgg
1560

atcctgaggg gcaccagctt cgtgtacgtg cccagcgccc tgaaccccgc cgacgacccc
1620

agcaggggca ggctgggcct gagcaggccc ctgctgaggc tgcccttcag gcccaccacc
1680

ggcaggacca gcctgtacgc cgtgagcccc agcgtggggc ccaaggcccc atacacgagc
1740

accctgctgc ccccggagct gtccgagacc cccaacgcca cgcagccaga actcgccccg
1800

gaagaccccg aggattcggc cctcttggag gaccccgtgg ggacggtggc gccgcaaatc
1860

ccaccaaact ggcacatccc gtcgatccag gacgccgcga cgccttacca tcccccggcc
1920

accccgaaca acatgggcct gatcgccggc gcggtgggcg gcagtctcct ggcagccctg
1980

gtcatttgcg gaattgtgta ctggatgcac cgccgcactc ggaaagcccc aaagcgcata
2040

cgcctccccc acatccggga agacgaccag ccgtcctcgc accagccctt gttttactag
2100

<210> 20
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 20
Asp Ile Asp Pro Tyr Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu
1 5 10 15

<210> 21
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 21
Lys Glu Phe Gly Ala Thr Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser
1 5 10 15

<210> 22
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 22
Thr Val Glu Leu Leu Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser
1 5 10 15

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

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 23
Ser Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu
1 5 10 15

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 24
Asp Phe Phe Pro Ser Ile Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala
1 5 10 15

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 25
Ile Arg Asp Leu Leu Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala
1 5 10 15

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 26
Asp Thr Ala Ser Ala Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu
1 5 10 15

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 27
Leu Tyr Arg Glu Ala Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His
1 5 10 15

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 28
Leu Glu Ser Pro Glu His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg
1 5 10 15

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 29
His Cys Ser Pro His His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys
1 5 10 15

<210> 30
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 30
His Thr Ala Leu Arg Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu Met
1 5 10 15

<210> 31
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 31
Gln Ala Ile Leu Cys Trp Gly Glu Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp
1 5 10 15

<210> 32
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 32
Trp Gly Glu Leu Met Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu
1 5 10 15

<210> 33
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 33
Thr Leu Ala Thr Trp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser
1 5 10 15

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 34
Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Glu Leu Val Val
1 5 10 15

<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 35
Glu Asp Pro Ala Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val
1 5 10 15

<210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 36
Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys
1 5 10 15

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 37
Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu
1 5 10 15

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 38
Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser
1 5 10 15

<210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 39

Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly
1 5 10 15

<210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 40
Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Ile
1 5 10 15

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 41
Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Ile Glu Tyr Leu Val Ser
1 5 10 15

<210> 42
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 42
Arg Glu Thr Val Ile Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile
1 5 10 15

<210> 43
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 43
Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala

1 5 10 15

<210> 44
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 44
Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn
1 5 10 15

<210> 45
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 45
Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser
1 5 10 15

<210> 46
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 46
Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr
1 5 10 15

<210> 47
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 47
Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg
1 5 10 15

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 48
Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg
1 5 10 15

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 49
Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg
1 5 10 15

<210> 50
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 50
Arg Asp Arg Gly Arg Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg
1 5 10 15

<210> 51
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 51

Ser Pro Arg Arg Arg Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln
1 5 10 15

<210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 52
Thr Pro Ser Pro Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg
1 5 10 15

<210> 53
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 53
Arg Arg Arg Ser Gln Ser Pro Arg Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg
1 5 10 15

<210> 54
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 54
Ser Pro Arg Arg Arg Arg Arg Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
1 5 10 15

<210> 55
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 55
Pro Leu Ser Tyr Gln His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu

1 5 10 15

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 56
His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu Glu Ala Gly Pro Leu
1 5 10 15

<210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 57
Leu Leu Leu Asp Glu Glu Ala Gly Pro Leu Glu Glu Glu Leu Pro
1 5 10 15

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 58
Glu Ala Gly Pro Leu Glu Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu
1 5 10 15

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 59
Glu Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg
1 5 10 15

<210> 60
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 60
Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp Leu
1 5 10 15

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 61
Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu
1 5 10 15

<210> 62
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 62
Val Ala Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val Ser Ile Pro
1 5 10 15

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 63
Asn Leu Gly Asn Leu Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr His Lys Val
1 5 10 15

<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 64
Asn Val Ser Ile Pro Trp Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly
1 5 10 15

<210> 65
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 65
Trp Thr His Lys Val Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Ser Thr
1 5 10 15

<210> 66
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 66
Gly Asn Phe Thr Gly Leu Tyr Ser Ser Thr Val Pro Val Phe Asn
1 5 10 15

<210> 67
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 67
Leu Tyr Ser Ser Thr Val Pro Val Phe Asn Pro Glu Trp Gln Thr
1 5 10 15

<210> 68
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 68
Val Pro Val Phe Asn Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe Pro Lys
1 5 10 15

<210> 69
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 69
Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe Pro Lys Ile His Lys Leu Gln Glu
1 5 10 15

<210> 70
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 70
Pro Ser Phe Pro Lys Ile His Lys Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg
1 5 10 15

<210> 71
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 71
Ile His Lys Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe Val

1 5 10 15

<210> 72
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 72
Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val
1 5 10 15

<210> 73
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 73
Arg Cys Lys Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg
1 5 10 15

<210> 74
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 74
Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met
1 5 10 15

<210> 75
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 75
Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr

1 5 10 15

<210> 76
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 76
Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys
1 5 10 15

<210> 77
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 77
Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp
1 5 10 15

<210> 78
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 78
Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro
1 5 10 15

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 79
Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His
1 5 10 15

<210> 80
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 80
Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr
1 5 10 15

<210> 81
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 81
Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His
1 5 10 15

<210> 82
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 82
His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu
1 5 10 15

<210> 83
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 83
Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile
1 5 10 15

<210> 84
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 84
His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu
1 5 10 15

<210> 85
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 85
Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala
1 5 10 15

<210> 86
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 86
Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser
1 5 10 15

<210> 87
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 87
Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu
1 5 10 15

<210> 88
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 88
Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln His
1 5 10 15

<210> 89
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 89
Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp
1 5 10 15

<210> 90
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 90
Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn
1 5 10 15

<210> 91
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 91
His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser
1 5 10 15

<210> 92
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 92
Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr
1 5 10 15

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 93
Asn Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu
1 5 10 15

<210> 94
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 94
Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly
1 5 10 15

<210> 95
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 95
Thr His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His
1 5 10 15

<210> 96
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 96
Leu Leu Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile
1 5 10 15

<210> 97
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 97
Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr
1 5 10 15

<210> 98
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 98
His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr
1 5 10 15

<210> 99
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 99
Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu
1 5 10 15

<210> 100
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 100
Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro
1 5 10 15

<210> 101
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 101
Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Ala Glu
1 5 10 15

<210> 102
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 102
Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu Val Val
1 5 10 15

<210> 103
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 103
Pro His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe
1 5 10 15

<210> 104
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 104
Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile Thr
1 5 10 15

<210> 105
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 105
Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp Pro
1 5 10 15

<210> 106
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 106
Phe Ser Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro
1 5 10 15

<210> 107
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 107
Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu
1 5 10 15

<210> 108
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 108
Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser
1 5 10 15

<210> 109
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 109
Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp
1 5 10 15

<210> 110
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 110
Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 111
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 111
Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr
1 5 10 15

<210> 112
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 112
Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His
1 5 10 15

<210> 113
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 113
Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro
1 5 10 15

<210> 114
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 114
His Leu Leu Val Gly Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg
1 5 10 15

<210> 115
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: tổng hợp
peptit"

<400> 115
Ser Ser Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu Ser Ser Asn Ser Arg
1 5 10 15

<210> 116
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 116
Arg Tyr Val Ala Arg Leu Ser Ser Asn Ser Arg Ile Ile Asn His Gln
1 5 10 15

<210> 117
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 117
Leu Ser Ser Asn Ser Arg Ile Ile Asn His Gln His Gly Thr Met Gln
1 5 10 15

<210> 118
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 118
Arg Ile Ile Asn His Gln His Gly Thr Met Gln Asn Leu His Asp Ser
1 5 10 15

<210> 119
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 119
Gln His Gly Thr Met Gln Asn Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu
1 5 10 15

<210> 120
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 120
Gln Asn Leu His Asp Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Leu
1 5 10 15

<210> 121
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 121
Ser Cys Ser Arg Asn Leu Tyr Val Ser Leu Leu Leu Leu Tyr Lys Thr
1 5 10 15

<210> 122
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 122
Leu Tyr Val Ser Leu Leu Leu Leu Tyr Lys Thr Phe Gly Arg Lys Leu
1 5 10 15

<210> 123
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 123
Leu Leu Leu Tyr Lys Thr Phe Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His
1 5 10 15

<210> 124
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 124
Thr Phe Gly Arg Lys Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Lys
1 5 10 15

<210> 125
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 125
Leu His Leu Tyr Ser His Pro Ile Ile Leu Lys Thr Lys Arg Trp Gly
1 5 10 15

<210> 126
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 126
His Pro Ile Ile Leu Lys Thr Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe
1 5 10 15

<210> 127
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 127

Lys Thr Lys Arg Trp Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val Ile
1 5 10 15

<210> 128
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 128
Gly Tyr Ser Leu Asn Phe Met Gly Tyr Val Ile Gly Ser Trp Gly Ser
1 5 10 15

<210> 129
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 129
Phe Met Gly Tyr Val Ile Gly Ser Trp Gly Ser Leu Pro Gln Asp His
1 5 10 15

<210> 130
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 130
Ile Gly Ser Trp Gly Ser Leu Pro Gln Asp His Ile Ile Gln Lys Ile
1 5 10 15

<210> 131
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 131
Ser Leu Pro Gln Asp His Ile Ile Gln Lys Ile Lys Glu Cys Phe Arg
1 5 10 15

<210> 132
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 132
His Ile Ile Gln Lys Ile Lys Glu Cys Phe Arg Lys Leu Pro Val Asn
1 5 10 15

<210> 133
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 133
Ile Lys Glu Cys Phe Arg Lys Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp Trp
1 5 10 15

<210> 134
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 134
Arg Lys Leu Pro Val Asn Arg Pro Ile Asp Trp Lys Val Cys Gln Arg
1 5 10 15

<210> 135
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 135
Asn Arg Pro Ile Asp Trp Lys Val Cys Gln Arg Ile Val Gly Leu Leu
1 5 10 15

<210> 136
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 136
Trp Lys Val Cys Gln Arg Ile Val Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro
1 5 10 15

<210> 137
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 137
Arg Ile Val Gly Leu Leu Gly Phe Ala Ala Pro Phe Thr Gln Cys Gly
1 5 10 15

<210> 138
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 138
Leu Gly Phe Ala Ala Pro Phe Thr Gln Cys Gly Tyr Pro Ala Leu Met
1 5 10 15

<210> 139
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 139
Pro Phe Thr Gln Cys Gly Tyr Pro Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys
1 5 10 15

<210> 140
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 140
Gly Tyr Pro Ala Leu Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile Gln Ser Lys Gln
1 5 10 15

<210> 141
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 141
Met Pro Leu Tyr Ala Cys Ile Gln Ser Lys Gln Ala Phe Thr Phe Ser
1 5 10 15

<210> 142
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 142
Cys Ile Gln Ser Lys Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala
1 5 10 15

<210> 143
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 143
Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Ser Lys Gln
1 5 10 15

<210> 144
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 144
Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Ser Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 145
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 145
Ala Phe Leu Ser Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln
1 5 10 15

<210> 146
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 146
Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys
1 5 10 15

<210> 147
<211> 16
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"
<400> 147
Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp
1 5 10 15

<210> 148
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 148
Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly
1 5 10 15

<210> 149
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 149
Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Met
1 5 10 15

<210> 150
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 150
Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly His Gln Arg Met
1 5 10 15

<210> 151

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 151
Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val
1 5 10 15

<210> 152
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 152
Met Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile
1 5 10 15

<210> 153
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 153
Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu
1 5 10 15

<210> 154
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 154
Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe
1 5 10 15

<210> 155
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 155
Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser
1 5 10 15

<210> 156
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 156
Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Ile Leu
1 5 10 15

<210> 157
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 157
Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Ile Leu Gly Thr Asp Asn Ser
1 5 10 15

<210> 158
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 158
Ser Gly Ala Lys Ile Leu Gly Thr Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg
1 5 10 15

<210> 159
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 159
Leu Gly Thr Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe
1 5 10 15

<210> 160
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 160
Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly
1 5 10 15

<210> 161
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 161
Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp
1 5 10 15

<210> 162
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 162
Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr
1 5 10 15

<210> 163
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 163
Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val
1 5 10 15

<210> 164
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 164
Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn
1 5 10 15

<210> 165
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 165
Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro
1 5 10 15

<210> 166
<211> 16
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 166
Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu
1 5 10 15

<210> 167
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 167
Asn Pro Ala Asp Asp Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly Leu Ser Arg Pro
1 5 10 15

<210> 168
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 168
Pro Ser Arg Gly Arg Leu Gly Leu Ser Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro
1 5 10 15

<210> 169
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 169
Leu Gly Leu Ser Arg Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr
1 5 10 15

<210> 170
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 170
Pro Leu Leu Arg Leu Pro Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu
1 5 10 15

<210> 171
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 171
Pro Phe Arg Pro Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro
1 5 10 15

<210> 172
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 172
Thr Gly Arg Thr Ser Leu Tyr Ala Val Ser Pro Ser Val
1 5 10

<210> 173
<211> 200
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 173
His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu Glu Ala Gly Pro Leu Glu

1 5 10 15

Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala
20 25 30

Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe
35 40 45

Pro Lys Ile His Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe
50 55 60

Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met
65 70 75 80

Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys
85 90 95

Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln
100 105 110

Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys
115 120 125

Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp
130 135 140

Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn
145 150 155 160

Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu
165 170 175

Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile
180 185 190

Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr
195 200

<210> 174
<211> 380

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 174
Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala
1 5 10 15

Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys
20 25 30

Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys
35 40 45

Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp
50 55 60

Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr
65 70 75 80

His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly
85 90 95

Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly
100 105 110

Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu
115 120 125

Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp
130 135 140

Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser
145 150 155 160

Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Gln Ala Phe Thr Phe Ser
165 170 175

Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Ser Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro

180 185 190

Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr
195 200 205

Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr
210 215 220

Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys
225 230 235 240

Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Ile Leu Gly Thr Asp Asn Ser
245 250 255

Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys
260 265 270

Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser
275 280 285

Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala
290 295 300

Ser Arg Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys
305 310 315 320

Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg
325 330 335

Glu Thr Val Ile Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr
340 345 350

Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro
355 360 365

Glu Thr Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg
370 375 380

<210> 175
<211> 410

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 175
His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu Glu Ala Gly Pro Leu Glu
1 5 10 15

Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala
20 25 30

Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe
35 40 45

Pro Lys Ile His Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe
50 55 60

Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met
65 70 75 80

Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys
85 90 95

Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln
100 105 110

Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys
115 120 125

Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp
130 135 140

Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn
145 150 155 160

Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu
165 170 175

Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile

```
            180                 185                 190

Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr
        195                 200                 205

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

Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr
225                 230                 235                 240

Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val
                245                 250                 255

Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala
            260                 265                 270

Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Ile Leu Gly Thr Asp Asn Ser Val Val
        275                 280                 285

Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala
    290                 295                 300

Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu
305                 310                 315                 320

Asn Pro Ala Asp Asp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg
                325                 330                 335

Glu Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg
            340                 345                 350

Gln Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr
        355                 360                 365

Val Ile Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro
    370                 375                 380

Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr
385                 390                 395                 400
```

Thr Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg
405 410

<210> 176
<211> 1140
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 176
tatctgccgc tggataaagg cattaaaccg tattatccgg aacatgcggt gaaccattat
60

tttcagaccc gccattatct gcataccctg tggaaagcgg gcattctgta taaacgcgaa
120

accacccgca gcgcgagctt ttgcggcagc ccgtatagct gggaacagga actgcagcat
180

ggcagctgct ggtggctgca gtttcgcaac agcaaaccgt gcagcgaata ttgcctgacc
240

catctggtga acctgctgga agattgggga ccgtgcgatg aacatggcga acatcatatt
300

cgcattccgc gcaccccggc gcgcgtgacc ggcggcgtgt ttctggtgga taaaaacccg
360

cataacaccg cggaaagccg cctggtggtg gattttagcc agtttagccg cggcattacc
420

cgcgtgagct ggccgaaatt tgcggtgccg aacctgcaga gcctgaccaa cctgctgagc
480

agcaacctga gctggctgag cctggatgtg caggcgttta cctttagccc gacctataaa
540

gcgtttctga gcaaacagta tctgaacctg tatccggtgg cgcgccagcg cccgggcctg
600

tgccaggtgt ttgcggatgc gaccccgacc ggctggggcc tggcgatggg ccatcagcgc
660

atgcgcggca cctttgtggc gccgctgccg attcataccg cggaactgct ggcggcgtgc
720

tttgcgcgca gccgcagcgg cgcgaaaatt ctgggcaccg ataacagcgt ggtgctgagc
780

cgcaaatata ccagctttcc gtggctgctg ggctgcgcgg cgaactggat tctgcgcggc
840

accagctttg tgtatgtgcc gagcgcgctg aacccggcgg atgatgtggg cagcaacctg
900

gaagatccgg cgagccgcga actggtggtg agctatgtga acgtgaacat gggcctgaaa
960

attcgccagc tgctgtggtt tcatattagc tgcctgacct ttggccgcga aaccgtgatt
1020

gaatatctgg tgagctttgg cgtgtggatt cgcaccccgc cggcgtatcg cccgccgaac
1080

gcgccgattc tgagcaccct gccggaaacc accgtggtgc gccgccgcga tcggggccgc
1140

<210> 177
<211> 1230
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 177
cattttcgca aactgctgct gctggatgaa gaagcgggac cgctggaaga agaactgccg
60

cgcctggcgg atgaaggcct gaaccgccgc gtggcggaag atctgaacct gggcaacctg
120

ccggaatggc agaccccgag ctttccgaaa attcatctgc aggaagatat tgtggatcgc
180

tgcaaacagt ttgtgggacc gctgaccgtg aacgaaaaac gccgcctgaa actgattatg
240

ccggcgcgct tttatccgaa cgtgaccaaa tatctgccgc tggataaagg cattaaaccg
300

tattatccgg aacatgcggt gaaccattat tttcagaccc gccattatct gcataccctg
360

tggaaagcgg gcattctgta taaacgcgaa accacccgca gcgcgagctt ttgcggcagc
420

ccgtatagct gggaacagga actgcagcat ggcagctgct ggtggctgca gtttcgcaac
480

agcaaaccgt gcagcgaata ttgcctgacc catctggtga acctgctgga agattgggga
540

ccgtgcgatg aacatggcga acatcatatt cgcattccgc gcaccccggc gcgcgtgacc
600

caggcgttta cctttagccc gacctataaa gcgtttctga gcaaacagta tctgaacctg
660

tatccggtgg cgcgccagcg cccgggcctg tgccaggtgt ttgcggatgc gaccccgacc
720

ggctggggcc tggcgatggg ccatcagcgc atgcgcggca cctttgtggc gccgctgccg
780

attcataccg cggaactgct ggcggcgtgc tttgcgcgca gccgcagcgg cgcgaaaatt
840

ctgggcaccg ataacagcgt ggtgctgagc cgcaaatata ccagctttcc gtggctgctg
900

ggctgcgcgg cgaactggat tctgcgcggc accagctttg tgtatgtgcc gagcgcgctg
960

aacccggcgg atgatgtggg cagcaacctg gaagatccgg cgagccgcga actggtggtg
1020

agctatgtga acgtgaacat gggcctgaaa attcgccagc tgctgtggtt tcatattagc
1080

tgcctgacct ttggccgcga aaccgtgatt gaatatctgg tgagctttgg cgtgtggatt
1140

cgcaccccgc cggcgtatcg cccgccgaac gcgccgattc tgagcaccct gccggaaacc
1200

accgtggtgc gccgccgaga tcgaggccgc
1230

<210> 178
<211> 170
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 178

```
Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala
1               5                  10                  15

Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys
            20                  25                  30

Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys
        35                  40                  45

Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp
    50                  55                  60

Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr
65                  70                  75                  80

His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly
                85                  90                  95

Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly
            100                 105                 110

Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu
        115                 120                 125

Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp
    130                 135                 140

Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser
145                 150                 155                 160

Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val
                165                 170
```

<210> 179
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 179
Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Ser Lys Gln
1 5 10 15

Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln
20 25 30

Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly His
35 40 45

Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala
50 55 60

Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Ile
65 70 75 80

Leu Gly Thr Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe
85 90 95

Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser
100 105 110

Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp
115 120 125

<210> 180
<211> 85
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 180
Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Glu Leu Val Val Ser
1 5 10 15

Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe
20 25 30

His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Ile Glu Tyr Leu
35 40 45

Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro
50 55 60

Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg
65 70 75 80

Arg Asp Arg Gly Arg
85

<210> 181
<211> 200
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 181
His Phe Arg Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu Glu Ala Gly Pro Leu Glu
1 5 10 15

Glu Glu Leu Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala
20 25 30

Glu Asp Leu Asn Leu Gly Asn Leu Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe
35 40 45

Pro Lys Ile His Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe
50 55 60

Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met
65 70 75 80

Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys
85 90 95

Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln
100 105 110

Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys

115 120 125

Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp
130 135 140

Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn
145 150 155 160

Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu
165 170 175

Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile
180 185 190

Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr
195 200

<210> 182
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 182
Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala Phe Leu Ser Lys Gln
1 5 10 15

Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln
20 25 30

Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly Leu Ala Met Gly His
35 40 45

Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu Pro Ile His Thr Ala
50 55 60

Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg Ser Gly Ala Lys Ile
65 70 75 80

Leu Gly Thr Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe
85 90 95

Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser
100 105 110

Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala Asp Asp
115 120 125

<210> 183
<211> 85
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 183
Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Glu Leu Val Val Ser
1 5 10 15

Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu Trp Phe
20 25 30

His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Ile Glu Tyr Leu
35 40 45

Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro
50 55 60

Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val Arg Arg
65 70 75 80

Arg Asp Arg Gly Arg
85

<210> 184
<211> 2331
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 184
atgggggggg ctgccgccag gttgggggcc gtgattttgt ttgtcgtcat agtgggcctc
60

catggggtcc gcggcaaata tgccttggcg gatgcctctc tcaagatggc cgaccccaat
120

cgctttcgcg gcaaagacct tccggtcctg gaccagctga ccgaccctcc gggggtccgg
180

cgcgtgtacc acatccaggc gggcctaccg gacccgttcc agccccccag cctcccgatc
240

acggtttact acgccgtgtt ggagcgcgcc tgccgcagcg tgctcctaaa cgcaccgtcg
300

gaggcccccc agattgtccg cggggcctcc gaagacgtcc ggaaacaacc ctacaacctg
360

accatcgctt ggtttcggat gggaggcaac tgtgctatcc ccatcacggt catggagtac
420

accgaatgct cctacaacaa gtctctgggg gcctgtccca tccgaacgca gccccgctgg
480

aactactatg acagcttcag cgccgtcagc gaggataacc tggggttcct gatgcacgcc
540

cccgcgtttg agaccgccgg cacgtacctg cggctcgtga agataaacga ctggacggag
600

attacacagt ttatcctgga gcaccgagcc aagggctcct gtaagtacgc cctcccgctg
660

cgcatccccc cgtcagcctg cctctccccc caggcctacc agcaggggat gacggtggac
720

agcatcggga tgctgccccg cttcatcccc gagaaccagc gcaccgtcgc cgtatacagc
780

ttgaagatcg ccgggtggca cgggccctat ctgccgctgg ataaaggcat taaaccgtat
840

tatccggaac atgcggtgaa ccattatttt cagacccgcc attatctgca taccctgtgg
900

aaagcgggca ttctgtataa acgcgaaacc acccgcagcg cgagcttttg cggcagcccg
960

tatagctggg aacaggaact gcagcatggc agctgctggt ggctgcagtt tcgcaacagc
1020

aaaccgtgca gcgaatattg cctgacccat ctggtgaacc tgctggaaga ttggggaccg
1080

tgcgatgaac atggcgaaca tcatattcgc attccgcgca ccccggcgcg cgtgaccggc
1140

ggcgtgtttc tggtggataa aaacccgcat aacaccgcgg aaagccgcct ggtggtggat
1200

tttagccagt ttagccgcgg cattacccgc gtgagctggc cgaaatttgc ggtgccgaac
1260

ctgcagagcc tgaccaacct gctgagcagc aacctgagct ggctgagcct ggatgtgcag
1320

gcgtttacct ttagcccgac ctataaagcg tttctgagca aacagtatct gaacctgtat
1380

ccggtggcgc gccagcgccc gggcctgtgc caggtgtttg cggatgcgac cccgaccggc
1440

tggggcctgg cgatgggcca tcagcgcatg cgcggcacct ttgtggcgcc gctgccgatt
1500

cataccgcgg aactgctggc ggcgtgcttt gcgcgcagcc gcagcggcgc gaaaattctg
1560

ggcaccgata acagcgtggt gctgagccgc aaatatacca gctttccgtg gctgctgggc
1620

tgcgcggcga actggattct gcgcggcacc agctttgtgt atgtgccgag cgcgctgaac
1680

ccggcggatg atgtgggcag caacctggaa gatccggcga gccgcgaact ggtggtgagc
1740

tatgtgaacg tgaacatggg cctgaaaatt cgccagctgc tgtggtttca tattagctgc
1800

ctgacctttg gccgcgaaac cgtgattgaa tatctggtga gctttggcgt gtggattcgc
1860

accccgccgg cgtatcgccc gccgaacgcg ccgattctga gcaccctgcc ggaaaccacc
1920

gtggtgcgcc gccgcgatcg gggccgcggg cccaaggccc catacacgag caccctgctg
1980

cccccggagc tgtccgagac ccccaacgcc acgcagccag aactcgcccc ggaagacccc
2040

gaggattcgg ccctcttgga ggaccccgtg gggacggtgg cgccgcaaat cccaccaaac
2100

tggcacatcc cgtcgatcca ggacgccgcg acgccttacc atcccccggc caccccgaac
2160

aacatgggcc tgatcgccgg cgcggtgggc ggcagtctcc tggcagccct ggtcatttgc
2220

ggaattgtgt actggatgca ccgccgcact cggaaagccc caaagcgcat acgcctcccc
2280

cacatccggg aagacgacca gccgtcctcg caccagccct tgttttacta g
2331

<210> 185
<211> 776
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 185
Met Gly Gly Ala Ala Ala Arg Leu Gly Ala Val Ile Leu Phe Val Val
1 5 10 15

Ile Val Gly Leu His Gly Val Arg Gly Lys Tyr Ala Leu Ala Asp Ala
20 25 30

Ser Leu Lys Met Ala Asp Pro Asn Arg Phe Arg Gly Lys Asp Leu Pro
35 40 45

Val Leu Asp Gln Leu Thr Asp Pro Pro Gly Val Arg Arg Val Tyr His
50 55 60

Ile Gln Ala Gly Leu Pro Asp Pro Phe Gln Pro Pro Ser Leu Pro Ile
65 70 75 80

Thr Val Tyr Tyr Ala Val Leu Glu Arg Ala Cys Arg Ser Val Leu Leu
85 90 95

Asn Ala Pro Ser Glu Ala Pro Gln Ile Val Arg Gly Ala Ser Glu Asp
100 105 110

```
Val Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ala Trp Phe Arg Met Gly
        115                 120                 125

Gly Asn Cys Ala Ile Pro Ile Thr Val Met Glu Tyr Thr Glu Cys Ser
    130                 135                 140

Tyr Asn Lys Ser Leu Gly Ala Cys Pro Ile Arg Thr Gln Pro Arg Trp
145                 150                 155                 160

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

Leu Met His Ala Pro Ala Phe Glu Thr Ala Gly Thr Tyr Leu Arg Leu
            180                 185                 190

Val Lys Ile Asn Asp Trp Thr Glu Ile Thr Gln Phe Ile Leu Glu His
        195                 200                 205

Arg Ala Lys Gly Ser Cys Lys Tyr Ala Leu Pro Leu Arg Ile Pro Pro
    210                 215                 220

Ser Ala Cys Leu Ser Pro Gln Ala Tyr Gln Gln Gly Val Thr Val Asp
225                 230                 235                 240

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

Ala Val Tyr Ser Leu Lys Ile Ala Gly Trp His Gly Pro Tyr Leu Pro
            260                 265                 270

Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His
        275                 280                 285

Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile
    290                 295                 300

Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro
305                 310                 315                 320
```

```
Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln
                325                 330                 335

Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val
            340                 345                 350

Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His
        355                 360                 365

Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu
    370                 375                 380

Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu Val Val Asp
385                 390                 395                 400

Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe
                405                 410                 415

Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu
            420                 425                 430

Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr
        435                 440                 445

Lys Ala Phe Leu Ser Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg
    450                 455                 460

Gln Arg Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly
465                 470                 475                 480

Trp Gly Leu Ala Met Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala
                485                 490                 495

Pro Leu Pro Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg
            500                 505                 510

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

Ser Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn
```

```
    530                 535                 540

Trp Ile Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn
545                 550                 555                 560

Pro Ala Asp Asp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Glu
                565                 570                 575

Leu Val Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln
            580                 585                 590

Leu Leu Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val
        595                 600                 605

Ile Glu Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala
    610                 615                 620

Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr
625                 630                 635                 640

Val Val Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Gly Pro Lys Ala Pro Tyr Thr
                645                 650                 655

Ser Thr Leu Leu Pro Pro Glu Leu Ser Glu Thr Pro Asn Ala Thr Gln
            660                 665                 670

Pro Glu Leu Ala Pro Glu Asp Pro Glu Asp Ser Ala Leu Leu Glu Asp
        675                 680                 685

Pro Val Gly Thr Val Ala Pro Gln Ile Pro Pro Asn Trp His Ile Pro
    690                 695                 700

Ser Ile Gln Asp Ala Ala Thr Pro Tyr His Pro Pro Ala Thr Pro Asn
705                 710                 715                 720

Asn Met Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Gly Gly Ser Leu Leu Ala Ala
                725                 730                 735

Leu Val Ile Cys Gly Ile Val Tyr Trp Met His Arg Arg Thr Arg Lys
            740                 745                 750
```

Ala Pro Lys Arg Ile Arg Leu Pro His Ile Arg Glu Asp Asp Gln Pro
755 760 765

Ser Ser His Gln Pro Leu Phe Tyr
770 775

<210> 186
<211> 2421
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 186
atgggggggg ctgccgccag gttgggggcc gtgattttgt ttgtcgtcat agtgggcctc
60

catggggtcc gcggcaaata tgccttggcg gatgcctctc tcaagatggc cgaccccaat
120

cgctttcgcg gcaaagacct tccggtcctg gaccagctga ccgaccctcc gggggtccgg
180

cgcgtgtacc acatccaggc gggcctaccg gacccgttcc agccccccag cctcccgatc
240

acggtttact acgccgtgtt ggagcgcgcc tgccgcagcg tgctcctaaa cgcaccgtcg
300

gaggcccccc agattgtccg cggggcctcc gaagacgtcc ggaaacaacc ctacaacctg
360

accatcgctt ggtttcggat gggaggcaac tgtgctatcc ccatcacggt catggagtac
420

accgaatgct cctacaacaa gtctctgggg gcctgtccca tccgaacgca gccccgctgg
480

aactactatg acagcttcag cgccgtcagc gaggataacc tggggttcct gatgcacgcc
540

cccgcgtttg agaccgccgg cacgtacctg cggctcgtga agataaacga ctggacggag
600

attacacagt ttatcctgga gcaccgagcc aagggctcct gtaagtacgc cctcccgctg
660

cgcatccccc cgtcagcctg cctctccccc caggcctacc agcaggggct gacggtggac
720

agcatcggga tgctgccccg cttcatcccc gagaaccagc gcaccgtcgc cgtatacagc
780

ttgaagatcg ccgggtggca cgggccccat tttcgcaaac tgctgctgct ggatgaagaa
840

gcgggaccgc tggaagaaga actgccgcgc ctggcggatg aaggcctgaa ccgccgcgtg
900

gcggaagatc tgaacctggg caacctgccg gaatggcaga ccccgagctt tccgaaaatt
960

catctgcagg aagatattgt ggatcgctgc aaacagtttg tgggaccgct gaccgtgaac
1020

gaaaaacgcc gcctgaaact gattatgccg gcgcgctttt atccgaacgt gaccaaatat
1080

ctgccgctgg ataaaggcat taaaccgtat tatccggaac atgcggtgaa ccattatttt
1140

cagacccgcc attatctgca taccctgtgg aaagcgggca ttctgtataa acgcgaaacc
1200

acccgcagcg cgagcttttg cggcagcccg tatagctggg aacaggaact gcagcatggc
1260

agctgctggt ggctgcagtt tcgcaacagc aaaccgtgca gcgaatattg cctgacccat
1320

ctggtgaacc tgctggaaga ttggggaccg tgcgatgaac atggcgaaca tcatattcgc
1380

attccgcgca ccccggcgcg cgtgacccag gcgtttacct ttagcccgac ctataaagcg
1440

tttctgagca aacagtatct gaacctgtat ccggtggcgc gccagcgccc gggcctgtgc
1500

caggtgtttg cggatgcgac cccgaccggc tggggcctgg cgatgggcca tcagcgcatg
1560

cgcggcacct ttgtggcgcc gctgccgatt cataccgcgg aactgctggc ggcgtgcttt
1620

gcgcgcagcc gcagcggcgc gaaaattctg ggcaccgata acagcgtggt gctgagccgc
1680

aaatatacca gctttccgtg gctgctgggc tgcgcggcga actggattct gcgcggcacc
1740

agctttgtgt atgtgccgag cgcgctgaac ccggcggatg atgtgggcag caacctggaa
1800

gatccggcga gccgcgaact ggtggtgagc tatgtgaacg tgaacatggg cctgaaaatt
1860

cgccagctgc tgtggtttca tattagctgc ctgacctttg gccgcgaaac cgtgattgaa
1920

tatctggtga gctttggcgt gtggattcgc accccgccgg cgtatcgccc gccgaacgcg
1980

ccgattctga gcaccctgcc ggaaaccacc gtggtgcgcc gccgagatcg aggccgcggg
2040

cccaaggccc catacacgag caccctgctg cccccggagc tgtccgagac ccccaacgcc
2100

acgcagccag aactcgcccc ggaagacccc gaggattcgg ccctcttgga ggaccccgtg
2160

gggacggtgg cgccgcaaat cccaccaaac tggcacatcc cgtcgatcca ggacgccgcg
2220

acgccttacc atcccccggc caccccgaac aacatgggcc tgatcgccgg cgcggtgggc
2280

ggcagtctcc tggcagccct ggtcatttgc ggaattgtgt actggatgca ccgccgcact
2340

cggaaagccc caaagcgcat acgcctcccc cacatccggg aagacgacca gccgtcctcg
2400

caccagccct tgttttacta g
2421

<210> 187
<211> 806
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 187
Met Gly Gly Ala Ala Ala Arg Leu Gly Ala Val Ile Leu Phe Val Val
1 5 10 15

Ile Val Gly Leu His Gly Val Arg Gly Lys Tyr Ala Leu Ala Asp Ala

20 25 30

Ser Leu Lys Met Ala Asp Pro Asn Arg Phe Arg Gly Lys Asp Leu Pro
35 40 45

Val Leu Asp Gln Leu Thr Asp Pro Pro Gly Val Arg Arg Val Tyr His
50 55 60

Ile Gln Ala Gly Leu Pro Asp Pro Phe Gln Pro Pro Ser Leu Pro Ile
65 70 75 80

Thr Val Tyr Tyr Ala Val Leu Glu Arg Ala Cys Arg Ser Val Leu Leu
85 90 95

Asn Ala Pro Ser Glu Ala Pro Gln Ile Val Arg Gly Ala Ser Glu Asp
100 105 110

Val Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Leu Thr Ile Ala Trp Phe Arg Met Gly
115 120 125

Gly Asn Cys Ala Ile Pro Ile Thr Val Met Glu Tyr Thr Glu Cys Ser
130 135 140

Tyr Asn Lys Ser Leu Gly Ala Cys Pro Ile Arg Thr Gln Pro Arg Trp
145 150 155 160

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

Leu Met His Ala Pro Ala Phe Glu Thr Ala Gly Thr Tyr Leu Arg Leu
180 185 190

Val Lys Ile Asn Asp Trp Thr Glu Ile Thr Gln Phe Ile Leu Glu His
195 200 205

Arg Ala Lys Gly Ser Cys Lys Tyr Ala Leu Pro Leu Arg Ile Pro Pro
210 215 220

Ser Ala Cys Leu Ser Pro Gln Ala Tyr Gln Gln Gly Val Thr Val Asp
225 230 235 240

```
Ser Ile Gly Met Leu Pro Arg Phe Ile Pro Glu Asn Gln Arg Thr Val
                245                 250                 255

Ala Val Tyr Ser Leu Lys Ile Ala Gly Trp His Gly Pro His Phe Arg
            260                 265                 270

Lys Leu Leu Leu Leu Asp Glu Glu Ala Gly Pro Leu Glu Glu Glu Leu
        275                 280                 285

Pro Arg Leu Ala Asp Glu Gly Leu Asn Arg Arg Val Ala Glu Asp Leu
    290                 295                 300

Asn Leu Gly Asn Leu Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe Pro Lys Ile
305                 310                 315                 320

His Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe Val Gly Pro
                325                 330                 335

Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg
            340                 345                 350

Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys
        355                 360                 365

Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His
    370                 375                 380

Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr
385                 390                 395                 400

Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu
                405                 410                 415

Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro
            420                 425                 430

Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp
        435                 440                 445
```

```
Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr
    450                 455                 460

Pro Ala Arg Val Thr Gln Ala Phe Thr Phe Ser Pro Thr Tyr Lys Ala
465                 470                 475                 480

Phe Leu Ser Lys Gln Tyr Leu Asn Leu Tyr Pro Val Ala Arg Gln Arg
                485                 490                 495

Pro Gly Leu Cys Gln Val Phe Ala Asp Ala Thr Pro Thr Gly Trp Gly
            500                 505                 510

Leu Ala Met Gly His Gln Arg Met Arg Gly Thr Phe Val Ala Pro Leu
        515                 520                 525

Pro Ile His Thr Ala Glu Leu Leu Ala Ala Cys Phe Ala Arg Ser Arg
    530                 535                 540

Ser Gly Ala Lys Ile Leu Gly Thr Asp Asn Ser Val Val Leu Ser Arg
545                 550                 555                 560

Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu Gly Cys Ala Ala Asn Trp Ile
                565                 570                 575

Leu Arg Gly Thr Ser Phe Val Tyr Val Pro Ser Ala Leu Asn Pro Ala
            580                 585                 590

Asp Asp Val Gly Ser Asn Leu Glu Asp Pro Ala Ser Arg Glu Leu Val
        595                 600                 605

Val Ser Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys Ile Arg Gln Leu Leu
    610                 615                 620

Trp Phe His Ile Ser Cys Leu Thr Phe Gly Arg Glu Thr Val Ile Glu
625                 630                 635                 640

Tyr Leu Val Ser Phe Gly Val Trp Ile Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg
                645                 650                 655
```

```
Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ser Thr Leu Pro Glu Thr Thr Val Val
            660                 665                 670

Arg Arg Arg Asp Arg Gly Arg Gly Pro Lys Ala Pro Tyr Thr Ser Thr
        675                 680                 685

Leu Leu Pro Pro Glu Leu Ser Glu Thr Pro Asn Ala Thr Gln Pro Glu
    690                 695                 700

Leu Ala Pro Glu Asp Pro Glu Asp Ser Ala Leu Leu Glu Asp Pro Val
705                 710                 715                 720

Gly Thr Val Ala Pro Gln Ile Pro Pro Asn Trp His Ile Pro Ser Ile
                725                 730                 735

Gln Asp Ala Ala Thr Pro Tyr His Pro Pro Ala Thr Pro Asn Asn Met
            740                 745                 750

Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Gly Gly Ser Leu Leu Ala Ala Leu Val
        755                 760                 765

Ile Cys Gly Ile Val Tyr Trp Met His Arg Arg Thr Arg Lys Ala Pro
    770                 775                 780

Lys Arg Ile Arg Leu Pro His Ile Arg Glu Asp Asp Gln Pro Ser Ser
785                 790                 795                 800

His Gln Pro Leu Phe Tyr
                805
```

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 188
Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu
1   5

<210> 189
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 189
Pro Glu Trp Gln Thr Pro Ser Phe Pro Lys Ile His Leu Gln Glu
1 5 10 15

<210> 190
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 190
Pro Ser Phe Pro Lys Ile His Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg
1 5 10 15

<210> 191
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 191
Ile His Leu Gln Glu Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe Val
1 5 10 15

<210> 192
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 192

Asp Ile Val Asp Arg Cys Lys Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val
1 5 10 15

<210> 193
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 193
Cys Lys Gln Phe Val Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg
1 5 10 15

<210> 194
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 194
Gly Pro Leu Thr Val Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met
1 5 10 15

<210> 195
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 195
Asn Glu Lys Arg Arg Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr
1 5 10 15

<210> 196
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 196
Leu Lys Leu Ile Met Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys
1 5 10 15

<210> 197
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 197
Pro Ala Arg Phe Tyr Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp
1 5 10 15

<210> 198
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 198
Pro Asn Val Thr Lys Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro
1 5 10 15

<210> 199
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 199
Tyr Leu Pro Leu Asp Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His
1 5 10 15

<210> 200
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 200
Lys Gly Ile Lys Pro Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr
1 5 10 15

<210> 201
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 201
Tyr Tyr Pro Glu His Ala Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His
1 5 10 15

<210> 202
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 202
Ala Val Asn His Tyr Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu
1 5 10 15

<210> 203
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 203
Phe Gln Thr Arg His Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile
1 5 10 15

<210> 204

<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 204
Tyr Leu His Thr Leu Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu
1 5 10 15

<210> 205
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 205
Trp Lys Ala Gly Ile Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala
1 5 10 15

<210> 206
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 206
Leu Tyr Lys Arg Glu Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser
1 5 10 15

<210> 207
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 207
Thr Thr Arg Ser Ala Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu
1 5 10 15

<210> 208
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 208
Ser Phe Cys Gly Ser Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln His
1 5 10 15

<210> 209
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 209
Pro Tyr Ser Trp Glu Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp
1 5 10 15

<210> 210
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 210
Gln Glu Leu Gln His Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn
1 5 10 15

<210> 211
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 211
Gly Ser Cys Trp Trp Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser
1 5 10 15

<210> 212
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 212
Leu Gln Phe Arg Asn Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr
1 5 10 15

<210> 213
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 213
Ser Lys Pro Cys Ser Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu
1 5 10 15

<210> 214
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 214
Glu Tyr Cys Leu Thr His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly
1 5 10 15

<210> 215
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 215
His Leu Val Asn Leu Leu Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His
1 5 10 15

<210> 216
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 216
Leu Glu Asp Trp Gly Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile
1 5 10 15

<210> 217
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 217
Pro Cys Asp Glu His Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr
1 5 10 15

<210> 218
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 218
Gly Glu His His Ile Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr
1 5 10 15

<210> 219
<211> 15
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 219
Arg Ile Pro Arg Thr Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu
1 5 10 15

<210> 220
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 220
Pro Ala Arg Val Thr Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro
1 5 10 15

<210> 221
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 221
Gly Gly Val Phe Leu Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Ala Glu
1 5 10 15

<210> 222
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 222
Val Asp Lys Asn Pro His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu Val Val
1 5 10 15

<210> 223
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 223
His Asn Thr Ala Glu Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe
1 5 10 15

<210> 224
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 224
Ser Arg Leu Val Val Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile Thr
1 5 10 15

<210> 225
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 225
Asp Phe Ser Gln Phe Ser Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp Pro
1 5 10 15

<210> 226
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 226
Ser Arg Gly Ile Thr Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro

1 5 10 15

<210> 227
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 227
Arg Val Ser Trp Pro Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu
1 5 10 15

<210> 228
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 228
Lys Phe Ala Val Pro Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser
1 5 10 15

<210> 229
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 229
Asn Leu Gln Ser Leu Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp
1 5 10 15

<210> 230
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 230
Thr Asn Leu Leu Ser Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 231
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 231
Ser Asn Leu Ser Trp Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr
1 5 10 15

<210> 232
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 232
Leu Ser Leu Asp Val Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His
1 5 10 15

<210> 233
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 233
Ser Ala Ala Phe Tyr His Ile Pro Leu His Pro Ala Ala Met Pro
1 5 10 15

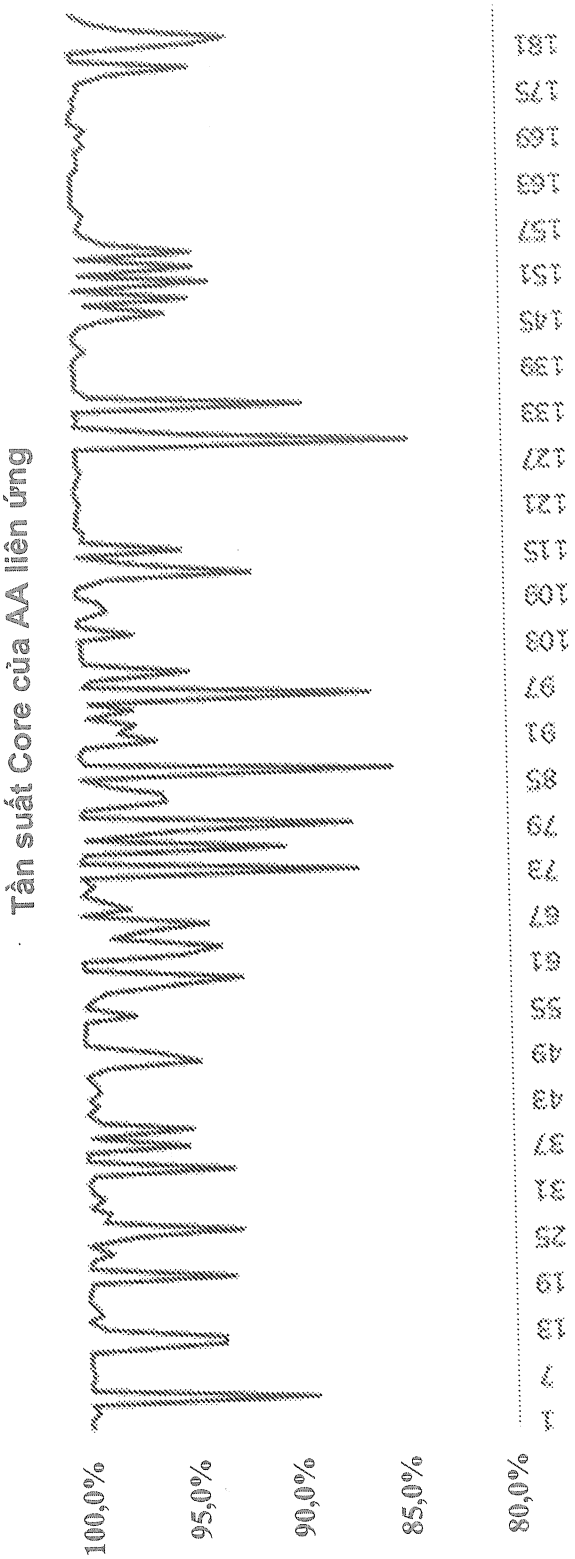

Tần suất Core của AA liên ứng
100,0%
95,0%
90,0%
85,0%
80,0%
1
7
13
19
25
31
37
43
49
55
61
67
73
79
85
91
97
103
109
115
121
127
133
139
145
151
157
163
169
175
181

FIG. 1

FIG. 2A

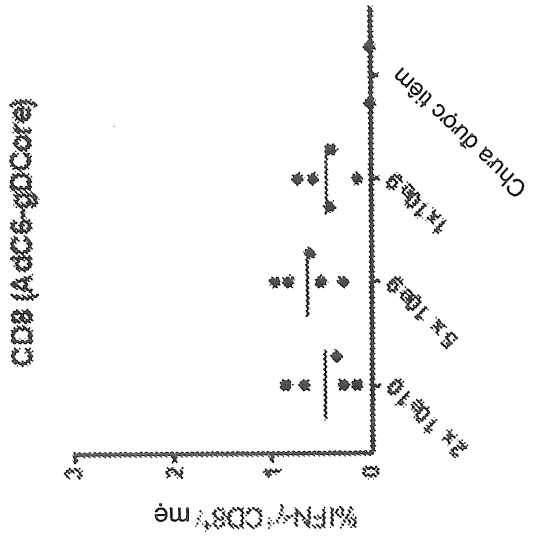


FIG. 2B

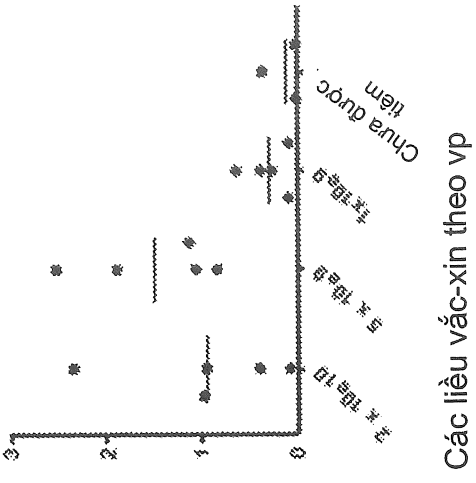


FIG. 2C

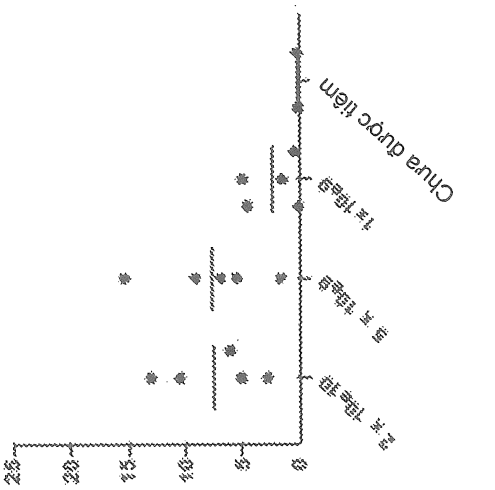


FIG. 2D

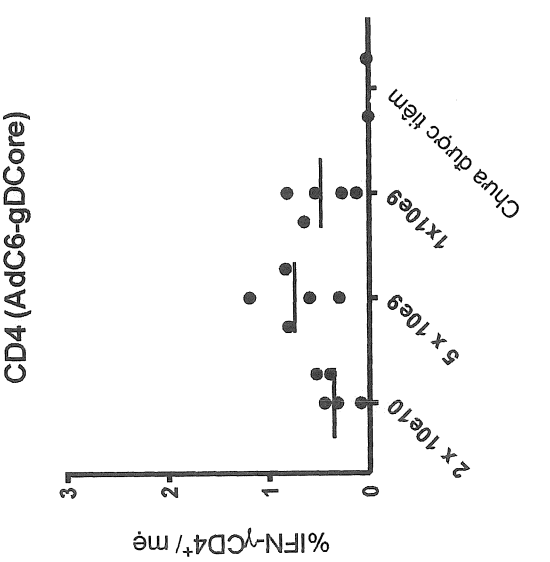


FIG. 2E

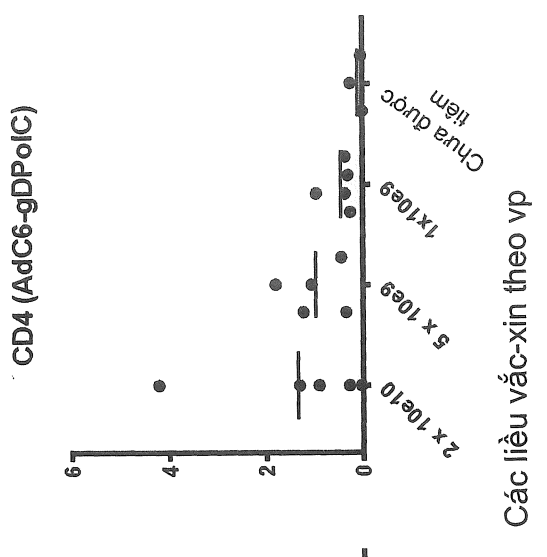
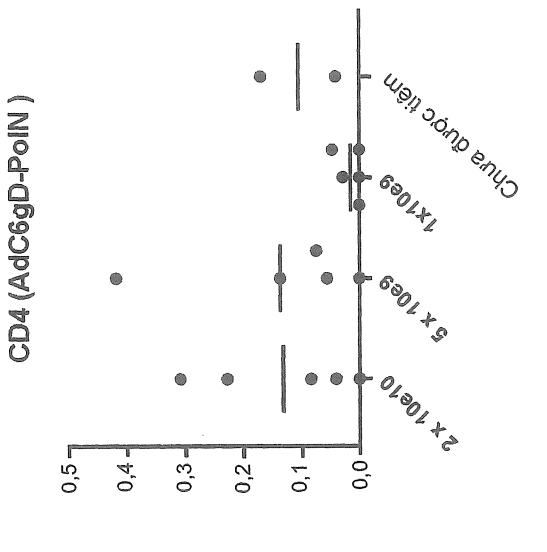


FIG. 2F



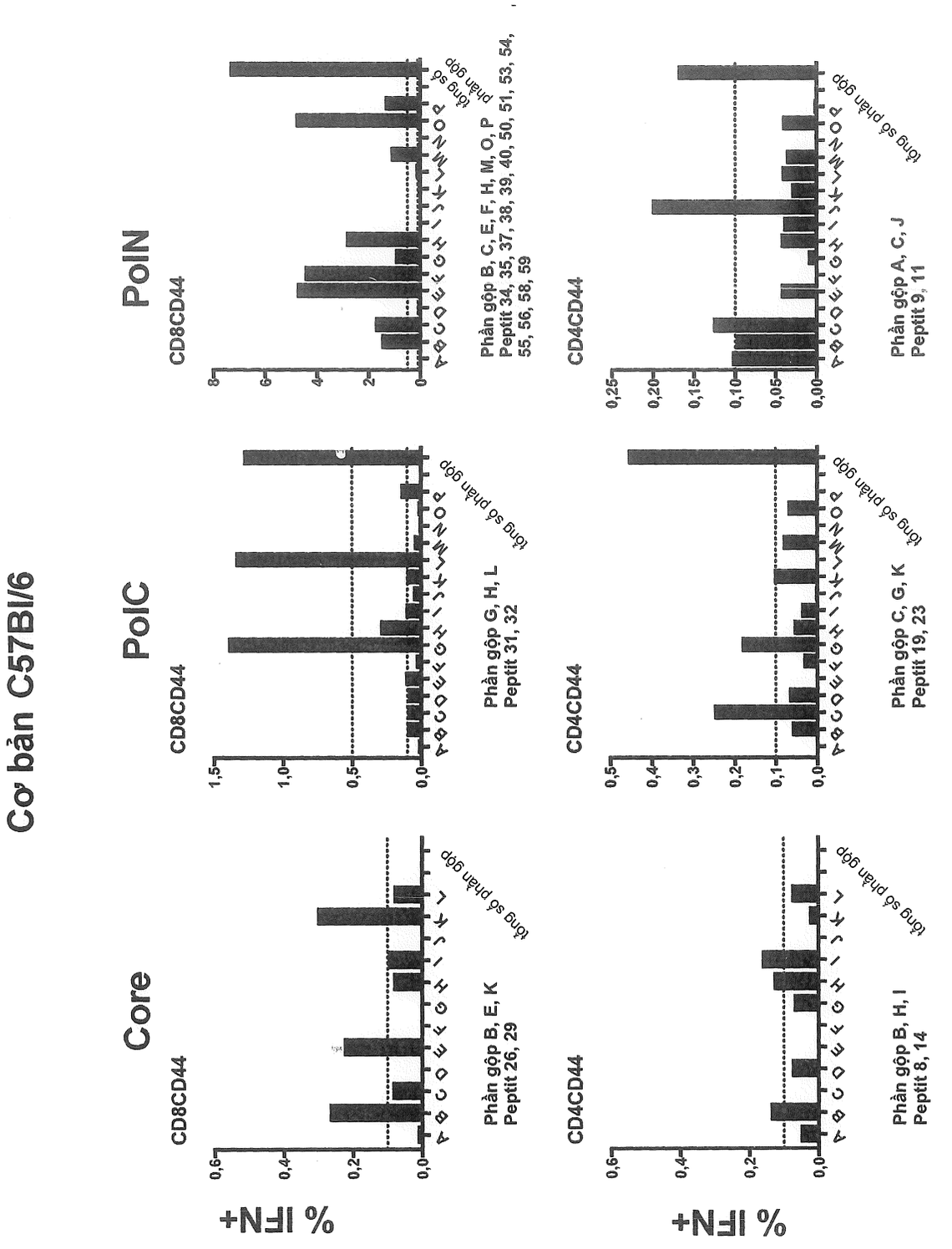

Cơ bản C57Bl/6
Core
PolC
PolN
CD8CD44
CD4CD44
% IFN+
tổng số phân gộp
Phân gộp B, E, K
Peptit 26, 29
Phân gộp G, H, L
Peptit 31, 32
Phân gộp B, C, E, F, H, M, O, P
Peptit 34, 35, 37, 38, 39, 40, 50, 51, 53, 54, 55, 56, 58, 59
Phân gộp B, H, I
Peptit 8, 14
Phân gộp C, G, K
Peptit 19, 23
Phân gộp A, C, J
Peptit 9, 11

FIG. 3A

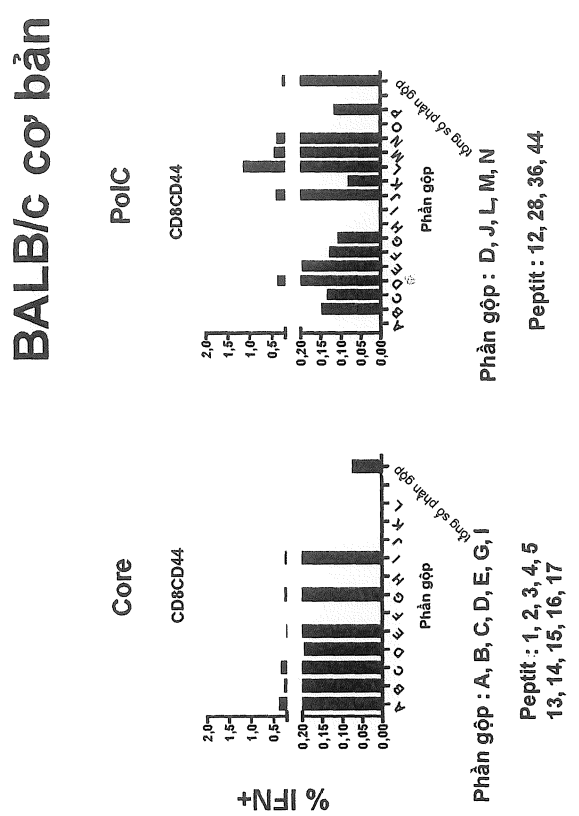

BALB/c cơ bản
Core
PolC
PolN
CD8CD44
CD4CD44
% IFN+
Phần gộp
Tổng số phần gộp
Phần gộp : A, B, C, D, E, G, I
Peptit : 1, 2, 3, 4, 5
13, 14, 15, 16, 17
Phần gộp : D, J, L, M, N
Peptit : 12, 28, 36, 44
Phần gộp : B, C, E, F, H, M, O, P
Peptit : 34, 35, 37, 38, 40
50, 51, 53, 54, 56, 58, 59
Phần gộp : A, B, C, D, E, H, I, J
Peptit : 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17
19, 20, 21, 22, 24
Phần gộp : C, G, M, O
Peptit : 35, 39, 51, 55
Phần gộp : B, F, J
Peptit : 10, 14

FIG. 3B

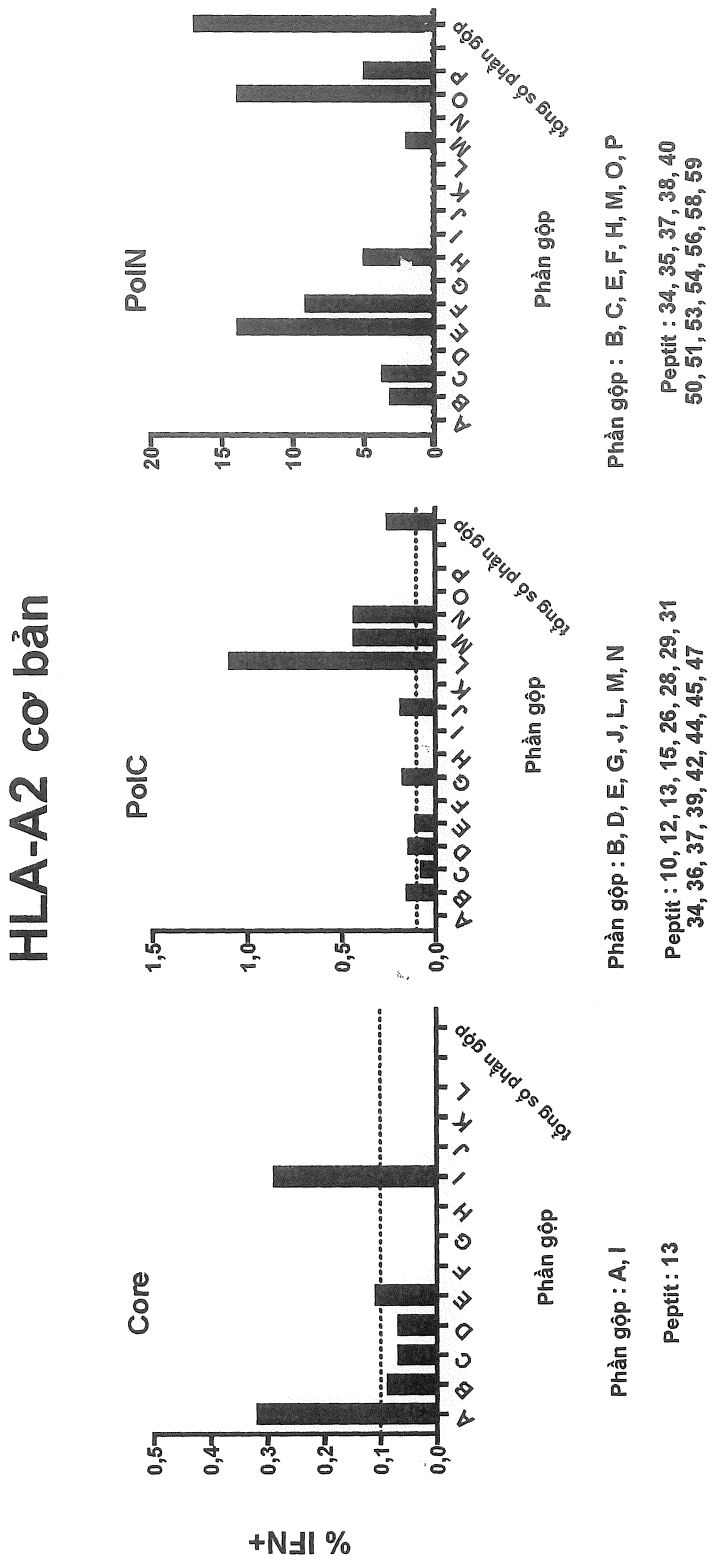

HLA-A2 cơ bản
% IFN+
Core
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
A B C D E F G H I J K L
Phần gộp
tổng số phần gộp
Phần gộp : A, I
Peptit : 13
PolC
1,5
1,0
0,5
0,0
A B C D E F G H I J K L M N O P
Phần gộp
tổng số phần gộp
Phần gộp : B, D, E, G, J, L, M, N
Peptit : 10, 12, 13, 15, 26, 28, 29, 31
34, 36, 37, 39, 42, 44, 45, 47
PolN
20
15
10
5
0
A B C D E F G H I J K L M N O P
Phần gộp
tổng số phần gộp
Phần gộp : B, C, E, F, H, M, O, P
Peptit : 34, 35, 37, 38, 40
50, 51, 53, 54, 56, 58, 59

FIG. 3C

FIG. 4A

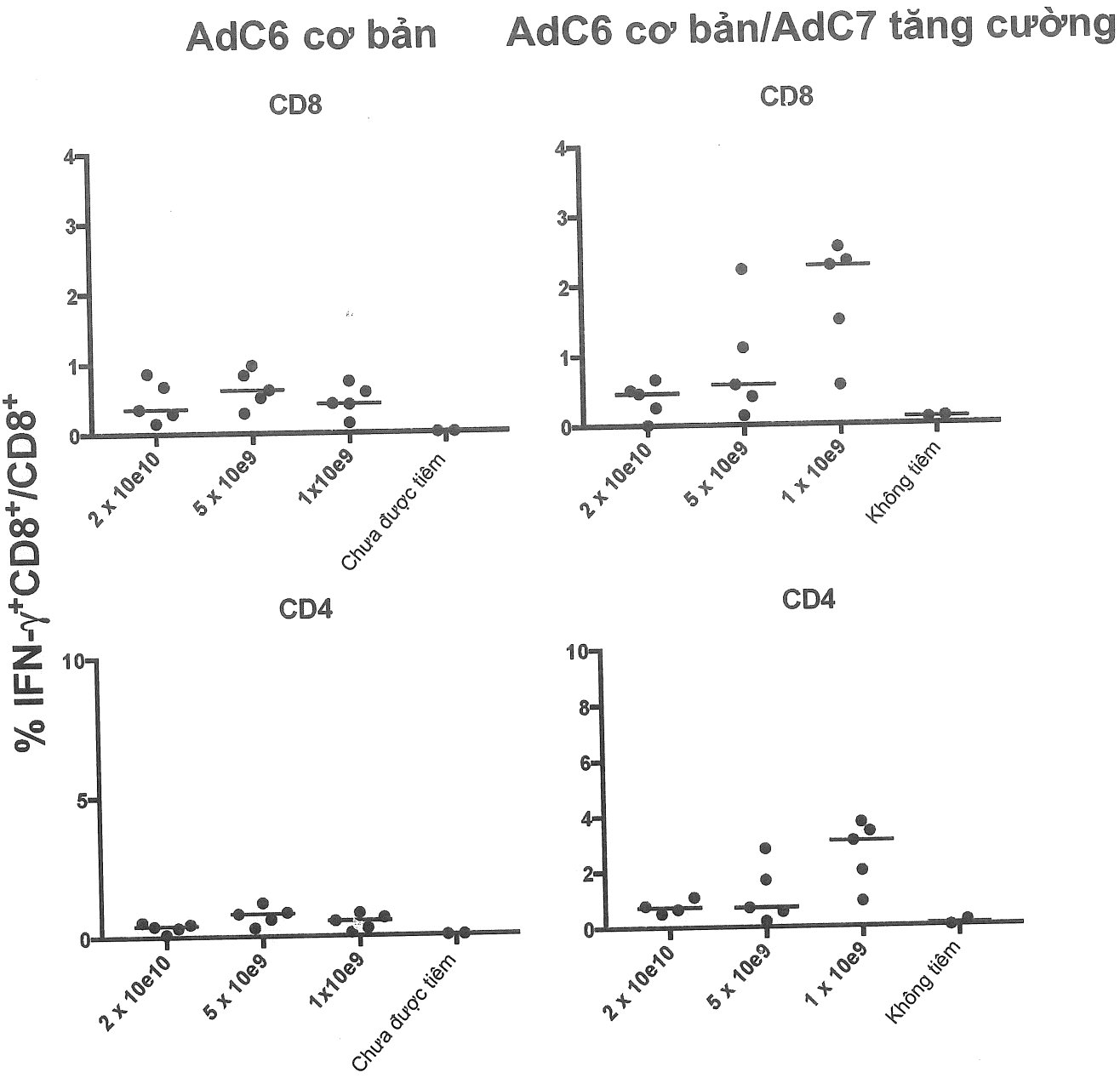

AdC6 cơ bản
AdC6 cơ bản/AdC7 tăng cường
CD8
CD8
CD4
CD4
% IFN-γ+CD8+/CD8+
2 x 10e10
5 x 10e9
1x10e9
Chưa được tiêm
2 x 10e10
5 x 10e9
1 x 10e9
Không tiêm

FIG. 4B

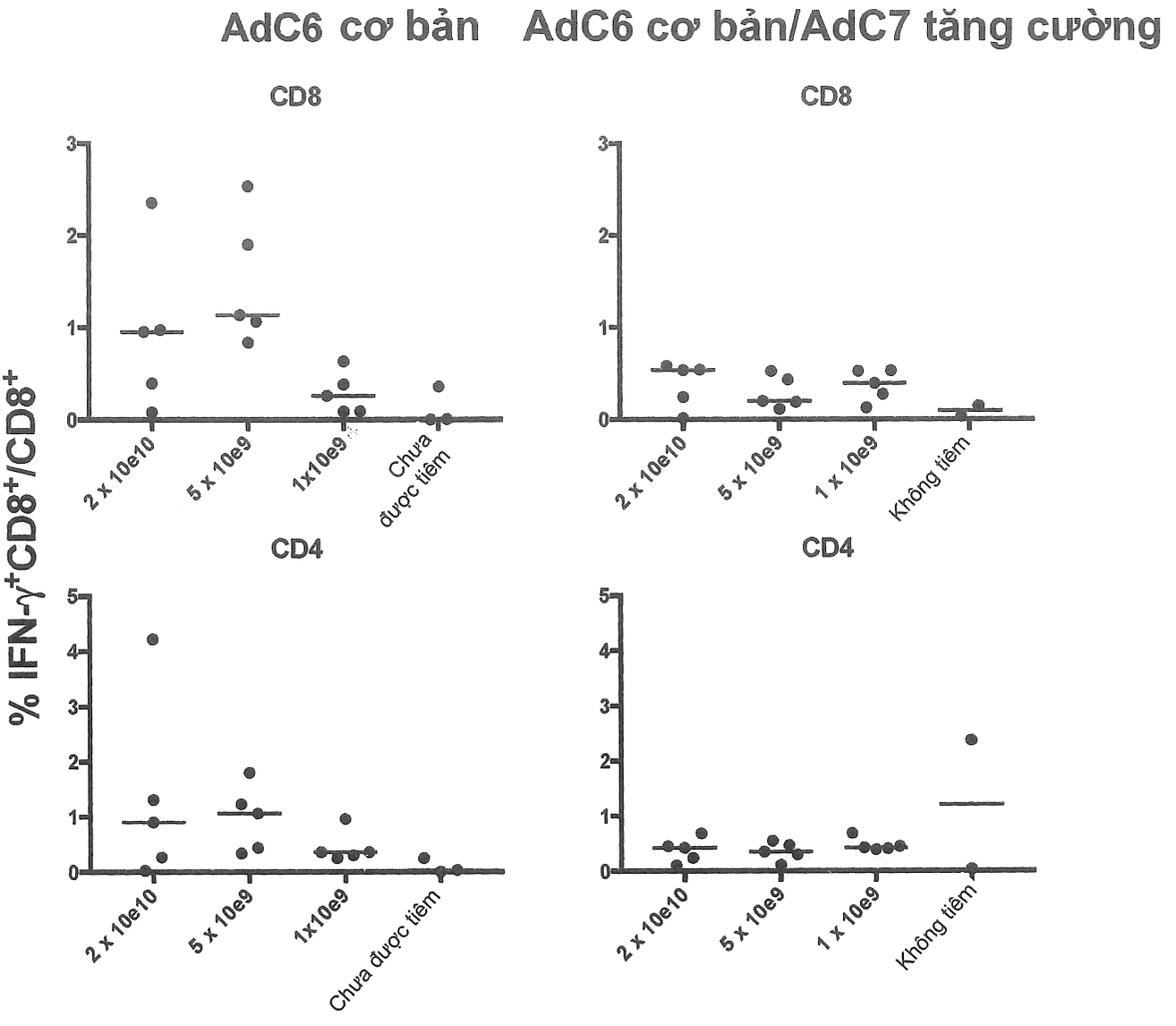
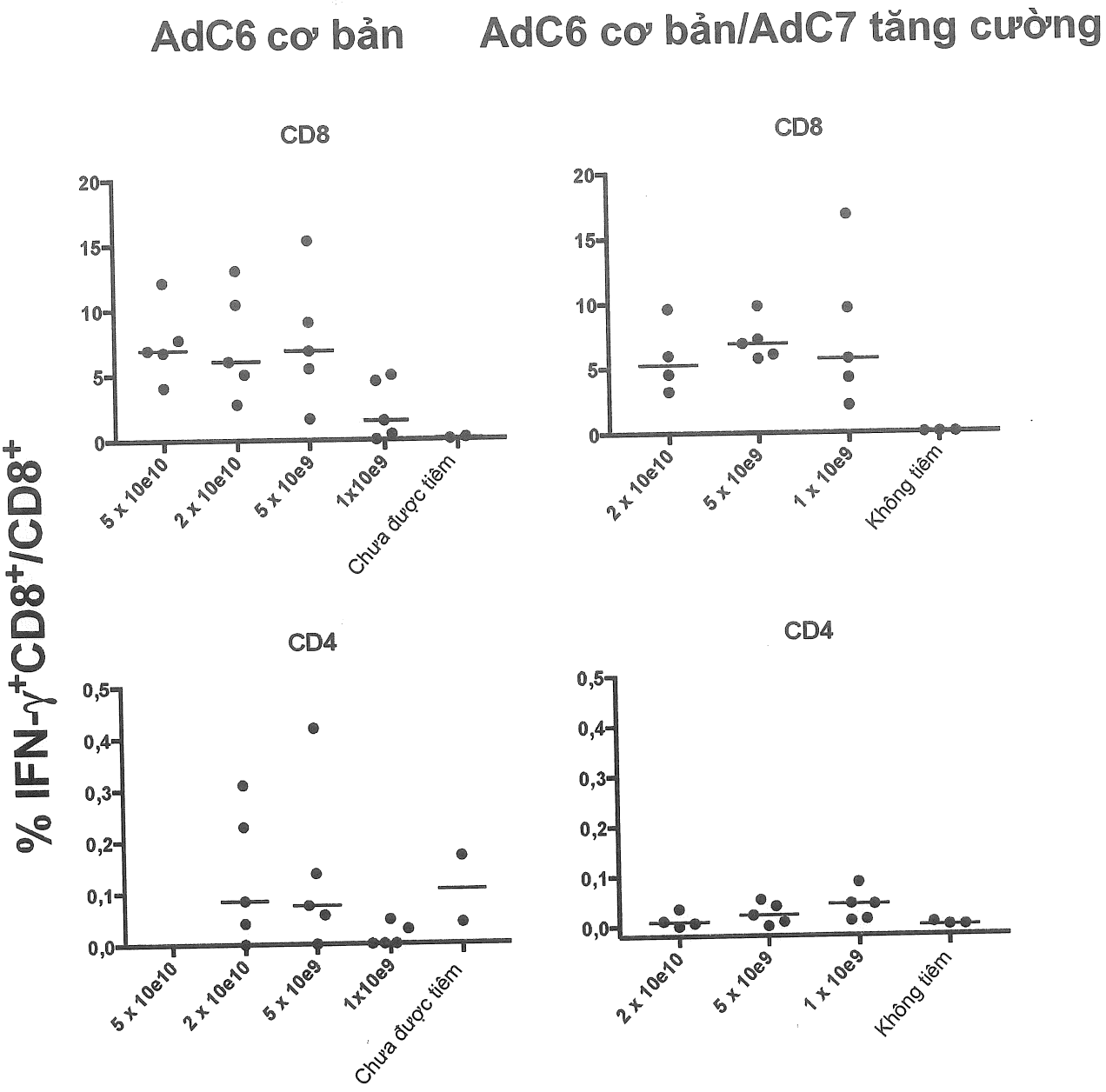

AdC6 cơ bản
AdC6 cơ bản/AdC7 tăng cường
CD8
CD8
CD4
CD4
% IFN-γ+CD8+/CD8+
2 x 10e10
5 x 10e9
1x10e9
Chưa được tiêm
2 x 10e10
5 x 10e9
1 x 10e9
Không tiêm
2 x 10e10
5 x 10e9
1x10e9
Chưa được tiêm
2 x 10e10
5 x 10e9
1 x 10e9
Không tiêm

FIG. 4C


AdC6 cơ bản
AdC6 cơ bản/AdC7 tăng cường
% IFN-γ+CD8+/CD8+
CD8
CD8
CD4
CD4
5 x 10e10
2 x 10e10
5 x 10e9
1x10e9
Chưa được tiêm
2 x 10e10
5 x 10e9
1 x 10e9
Không tiêm

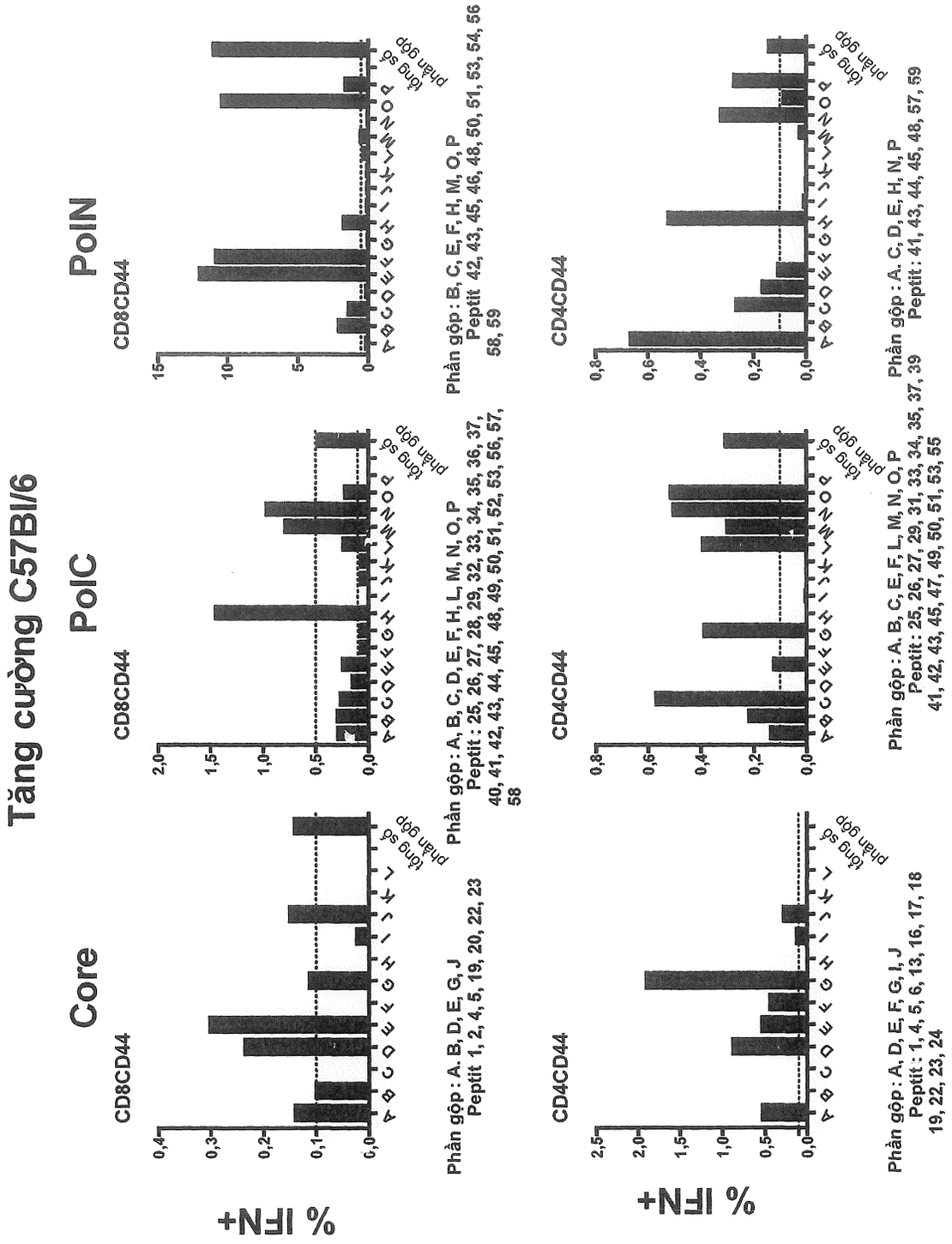

Tăng cường C57Bl/6
Core
PolC
PolN
CD8CD44
CD4CD44
% IFN+
tổng số
phân góp
Phân gộp : A, B, C, D, E, F, H, L, M, N, O, P
Peptit : 25, 26, 27, 28, 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 56, 57, 58
Phân gộp : B, C, E, F, H, M, O, P
Peptit 42, 43, 45, 46, 48, 50, 51, 53, 54, 56 58, 59
Phân gộp : A, B, D, E, G, J
Peptit 1, 2, 4, 5, 19, 20, 22, 23
Phân gộp : A, D, E, F, G, I, J
Peptit : 1, 4, 5, 6, 13, 16, 17, 18 19, 22, 23, 24
Phân gộp : A, B, C, E, F, L, M, N, O, P
Peptit : 25, 26, 27, 29, 31, 33, 34, 35, 37, 39 41, 42, 43, 45, 47, 49, 50, 51, 53, 55
Phân gộp : A, C, D, E, H, N, P
Peptit : 41, 43, 44, 45, 48, 57, 59

Fig. 5A

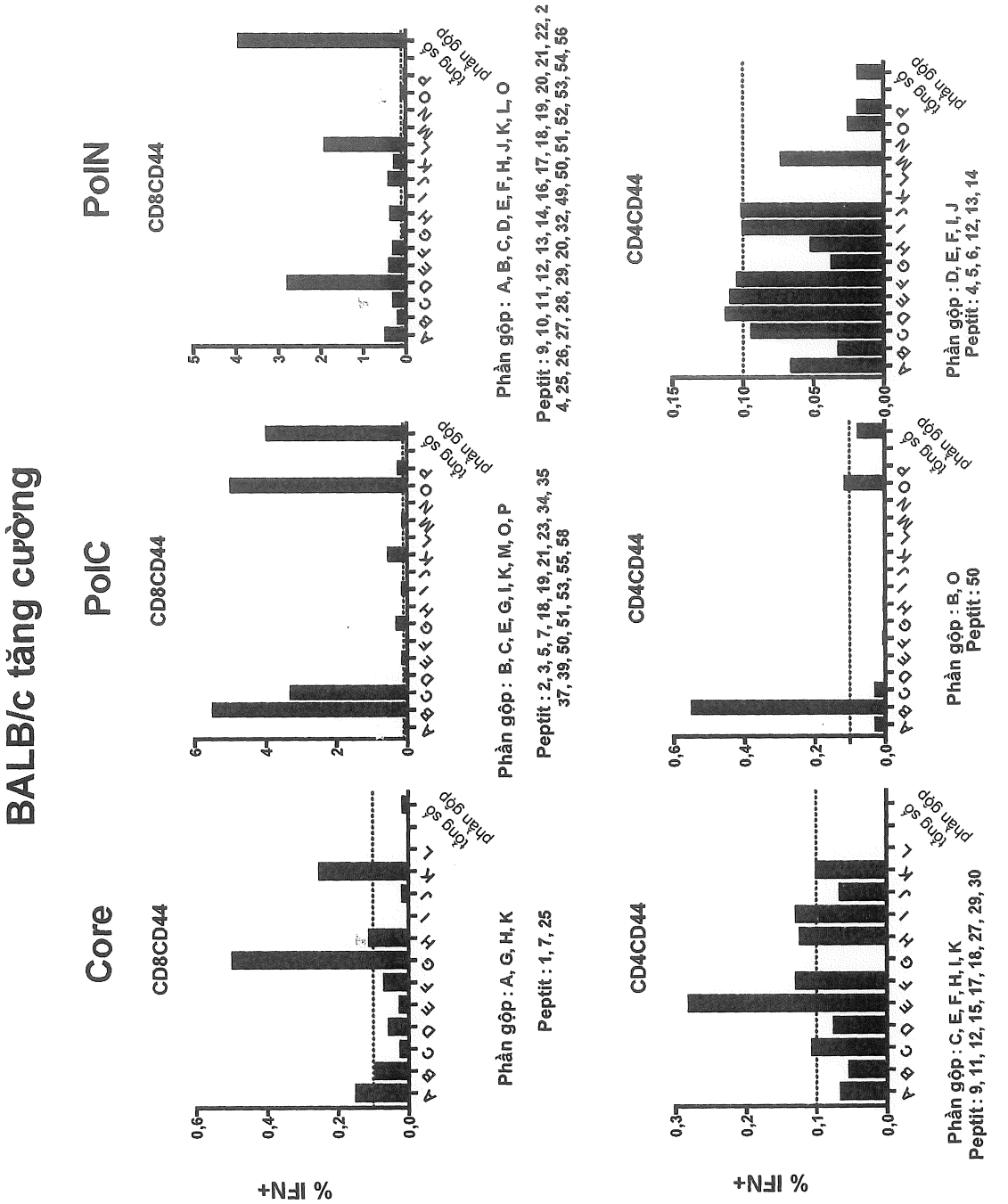

BALB/c tăng cường
Core
PolC
PolN
CD8CD44
CD4CD44
% IFN+
Phần gộp : A, G, H, K
Peptit : 1, 7, 25
Phần gộp : B, C, E, G, I, K, M, O, P
Peptit : 2, 3, 5, 7, 18, 19, 21, 23, 34, 35
37, 39, 50, 51, 53, 55, 58
Phần gộp : A, B, C, D, E, F, H, J, K, L, O
Peptit : 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 2
4, 25, 26, 27, 28, 29, 20, 32, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 56
Phần gộp : C, E, F, H, I, K
Peptit : 9, 11, 12, 15, 17, 18, 27, 29, 30
Phần gộp : B, O
Peptit : 50
Phần gộp : D, E, F, I, J
Peptit : 4, 5, 6, 12, 13, 14
tổng số phần gộp

Fig. 5B

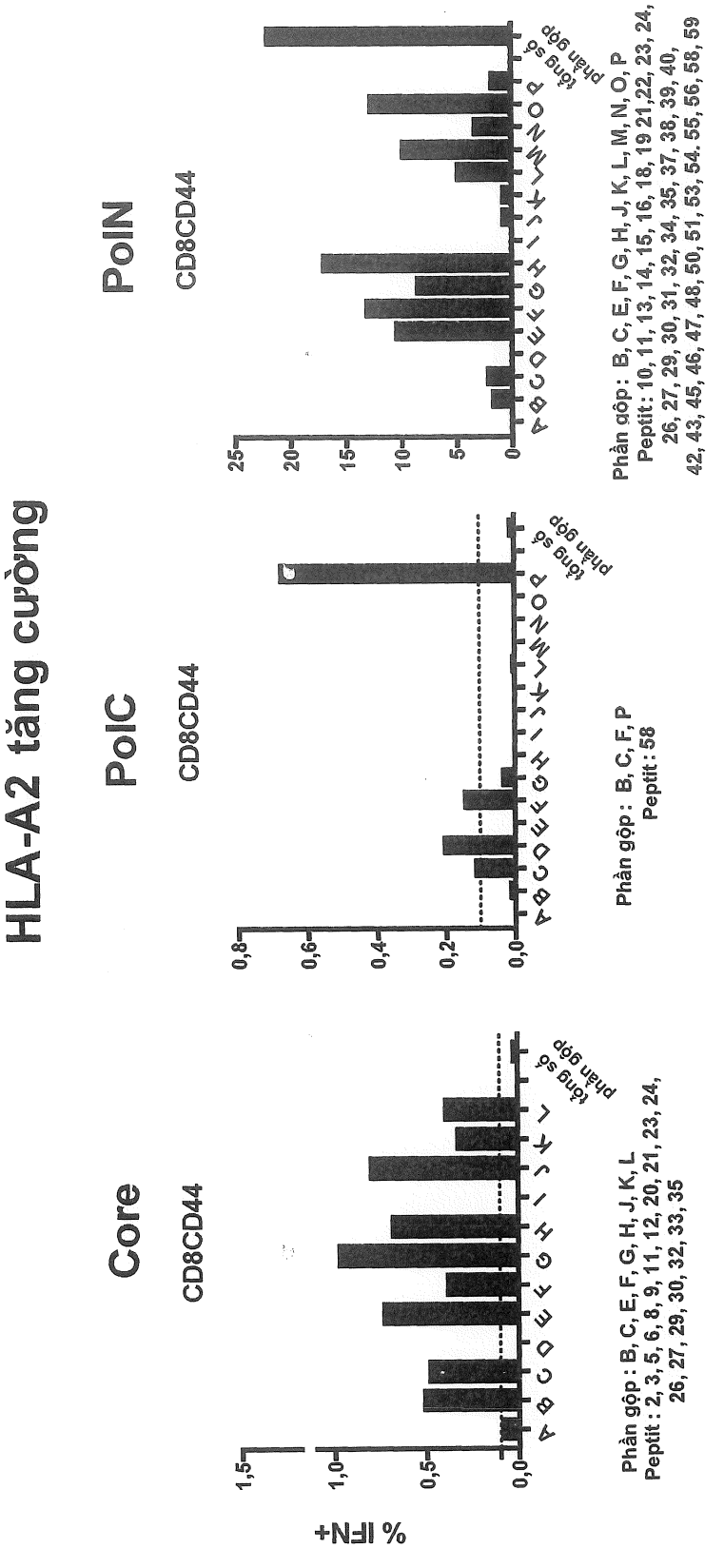

HLA-A2 tăng cường
Core
CD8CD44
% IFN+
1,5
1,0
0,5
0,0
A B C D E F G H I J K L
tổng số phần gộp
Phần gộp : B, C, E, F, G, H, J, K, L
Peptit : 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 20, 21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 32, 33, 35
PolC
CD8CD44
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
A B C D E F G H I J K L M N O P
tổng số phần gộp
Phần gộp : B, C, F, P
Peptit : 58
PolN
CD8CD44
25
20
15
10
5
0
A B C D E F G H I J K L M N O P
tổng số phần gộp
Phần gộp : B, C, E, F, G, H, J, K, L, M, N, O, P
Peptit : 10, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 19 21,22, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 50, 51, 53, 54. 55, 56, 58, 59

Fig 5C

FIG. 6

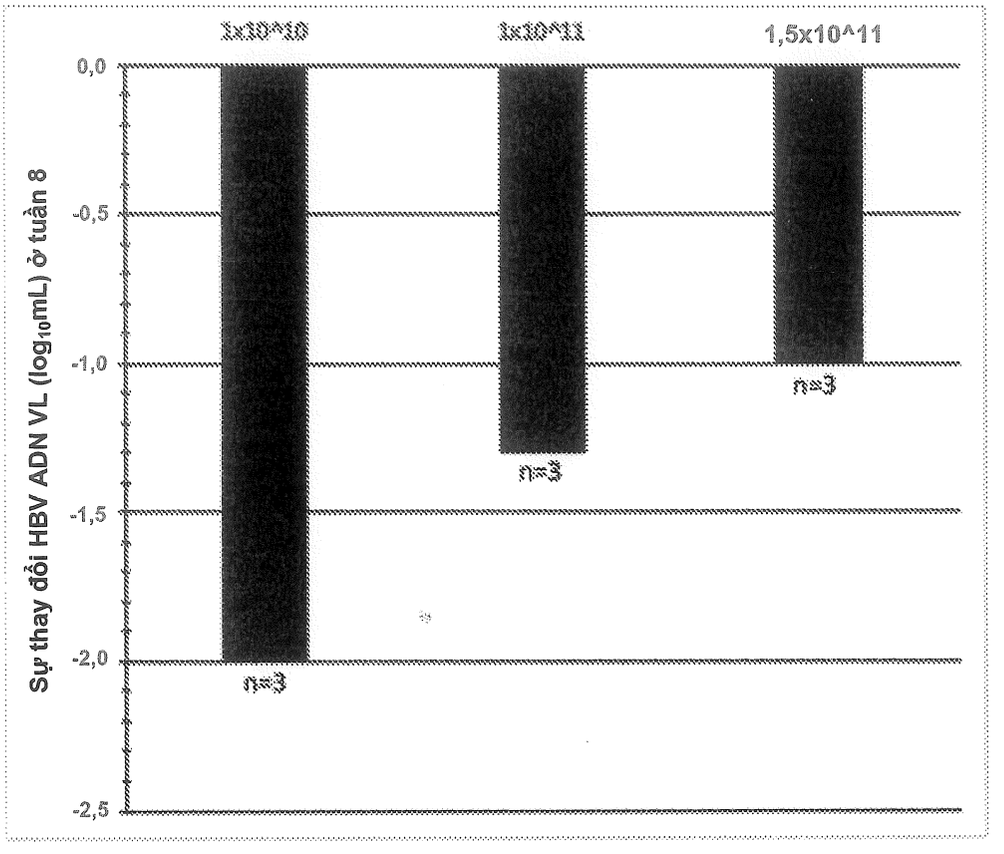

1x10^10
1x10^11
1,5x10^11
Liều vectơ AAV
Sự thay đổi HBV ADN VL (log10mL) ở tuần 8
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
-2,5
n=3
n=3
n=3

FIG. 7A

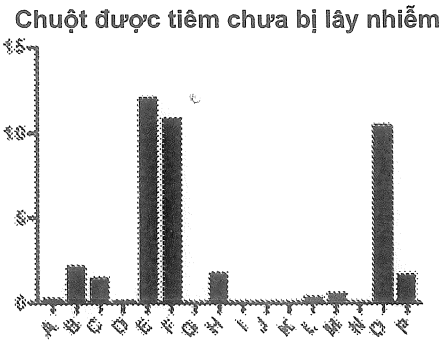


FIG. 7B

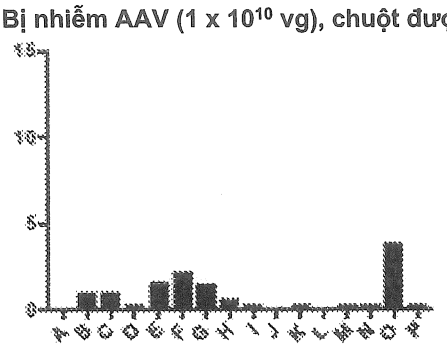
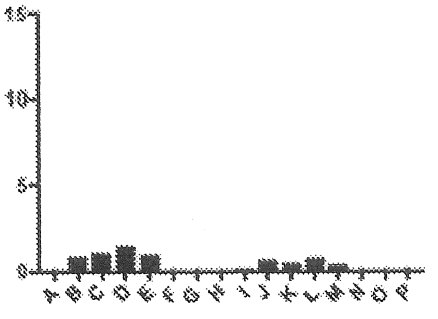


FIG. 7C



% tế bào IFN-gamma+CD44+CD8+/CD44+CD8+

FIG. 7D

Peptit trong các phần gộp

	A	B	C	D	E	F	G	H
I	1	2	3	4	5	6	7	8
J	9	10	11	12	13	14	15	16
K	17	18	19	20	21	22	23	24
L	25	26	27	28	29	30	31	32
M	33	34	35	36	37	38	39	40
N	41	42	43	44	45	46	47	48
O	49	50	51	52	53	54	55	56
P	57	58	59					

FIG. 7E

1	PLSYQ	HFRKL	LLLDE	
2	HFRKL	LLLDE	EAGPL	
3	LLLDE	EAGPL	EEELP	
4	EAGPL	EEELP	RLADE	
5	EEELP	RLADE	GLNRR	
6	RLADE	GLNRR	VAEDL	
7	GLNRR	VAEDL	NLGNL	
8	VAEDL	NLGNL	NVSIP	
9	NLGNL	NVSIP	WTHKV	
10	NVSIP	WTHKV	GNFTG	
11	WTHKV	GNFTG	LYSST	
12	GNFTG	LYSST	VPVFN	
13	LYSST	VPVFN	PEWQT	
14	VPVFN	PEWQT	PSFPK	
15	PEWQT	PSFPK	IHLQE	
16	PSFPK	IHLQE	DIVDR	
17	IHLQE	DIVDR	CKQFV	
18	DIVDR	CKQFV	GPLTV	
19	CKQFV	GPLTV	NEKRR	
20	GPLTV	NEKRR	LKLIM	
21	NEKRR	LKLIM	PARFY	
22	LKLIM	PARFY	PNVTK	
23	PARFY	PNVTK	YLPLD	
24	PNVTK	YLPLD	KGIKP	
25	YLPLD	KGIKP	YYPEH	
26	KGIKP	YYPEH	AVNHY	
27	YYPEH	AVNHY	FQTRH	
28	AVNHY	FQTRH	YLHTL	
29	FQTRH	YLHTL	WKAGI	
30	YLHTL	WKAGI	LYKRE	
31	WKAGI	LYKRE	TTRSA	
32	LYKRE	TTRSA	SFCGS	
33	TTRSA	SFCGS	PYSWE	
34	SFCGS	PYSWE	QELQH	
35	PYSWE	QELQH	GSCWW	
36	QELQH	GSCWW	LQFRN	
37	GSCWW	LQFRN	SKPCS	
38	LQFRN	SKPCS	EYCLT	
39	SKPCS	EYCLT	HLVNL	
40	EYCLT	HLVNL	LEDWG	
41	HLVNL	LEDWG	PCDEH	
42	LEDWG	PCDEH	GEHHI	
43	PCDEH	GEHHI	RIPRT	
44	GEHHI	RIPRT	PARVT	
45	RIPRT	PARVT	GGVFL	
46	PARVT	GGVFL	VDKNP	
47	GGVFL	VDKNP	HNTAE	
48	VDKNP	HNTAE	SRLVV	
49	HNTAE	SRLVV	DFSQF	
50	SRLVV	DFSQF	SRGIT	
51	DFSQF	SRGIT	RVSWP	
52	SRGIT	RVSWP	KFAVP	
53	RVSWP	KFAVP	NLQSL	
54	KFAVP	NLQSL	TNLLS	
55	NLQSL	TNLLS	SNLSW	
56	TNLLS	SNLSW	LSLDV	
57	SNLSW	LSLDV	SAAFY	
58	LSLDV	SAAFY	HIPLH	
59	SAAFYHIPLHPAAMP			

FIG. 8A

Chuột được tiêm chưa bị lây nhiễm

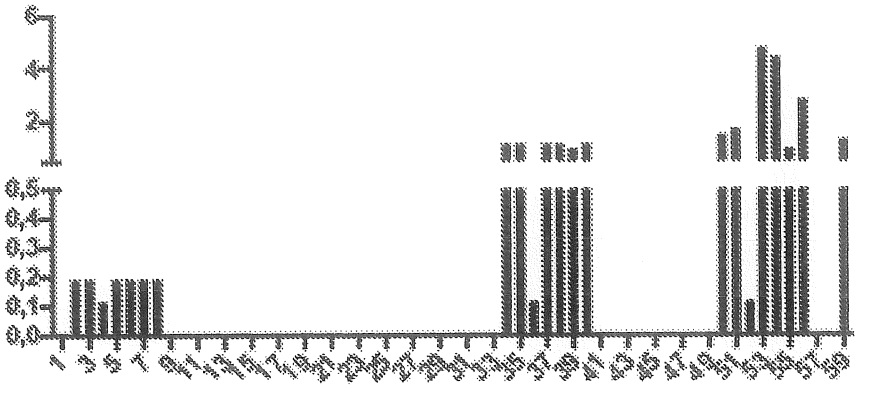


FIG. 8B

Bị nhiễm AAV (1 x 10^{10} vg), chuột được tiêm

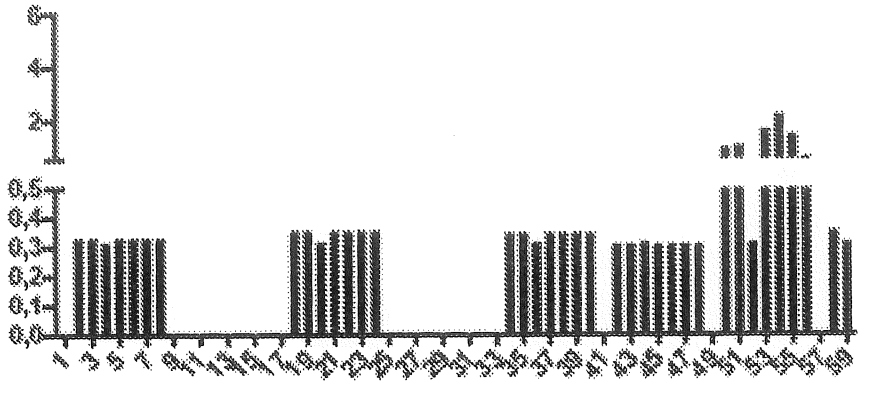
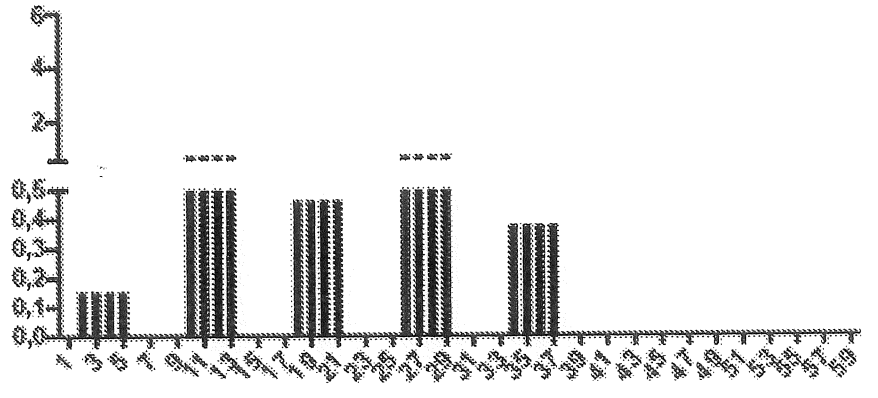


FIG. 8C

Bị nhiễm AAV (1,5 x 10^{11} vg), chuột được tiêm



% tế bào IFN-gamma$^+$CD44$^+$CD8$^+$/CD44$^+$CD8$^+$

Peptit

FIG. 9A

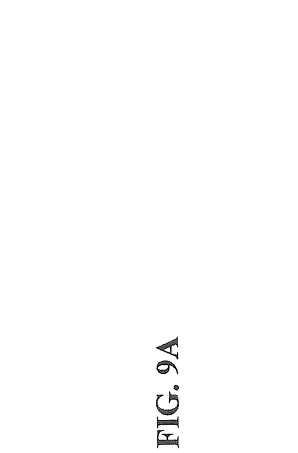


FIG. 9B

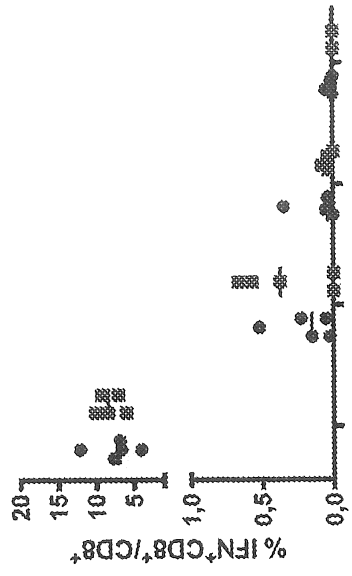


FIG. 9C



FIG. 10

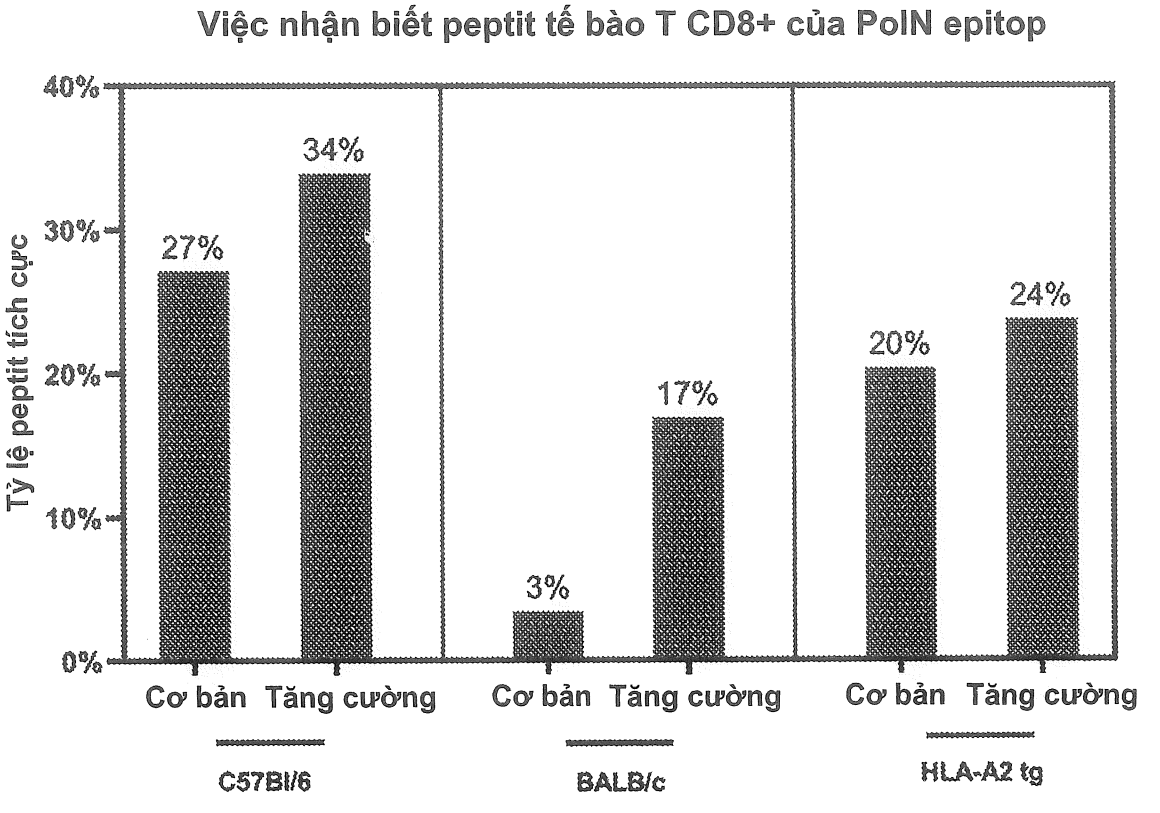

Việc nhận biết peptit tế bào T CD8+ của PolN epitop
Tỷ lệ peptit tích cực
40%
30%
20%
10%
0%
27%
34%
3%
17%
20%
24%
Cơ bản
Tăng cường
Cơ bản
Tăng cường
Cơ bản
Tăng cường
C57Bl/6
BALB/c
HLA-A2 tg

FIG. 11B

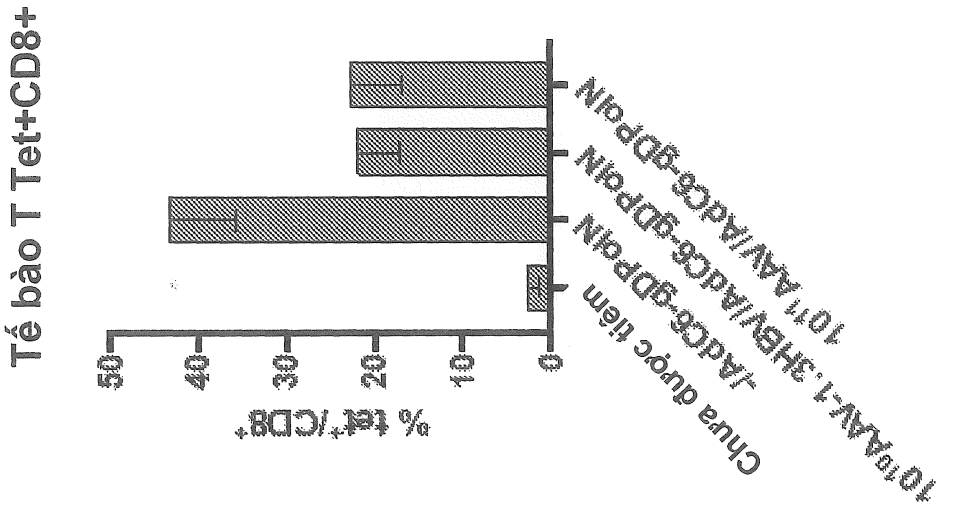


FIG. 11A

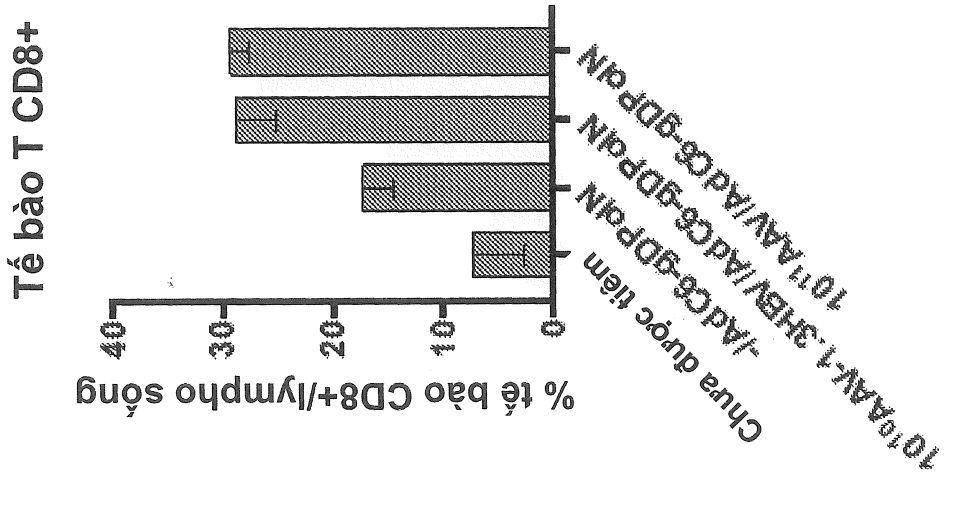
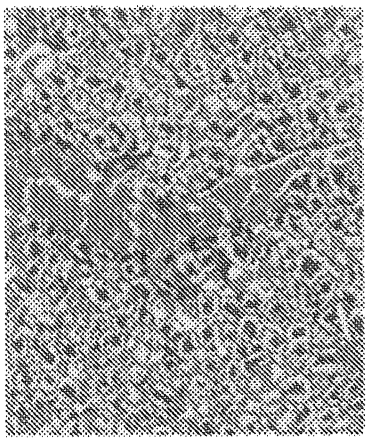


FIG. 12A



-/AdC6-gDPolN

FIG. 12B

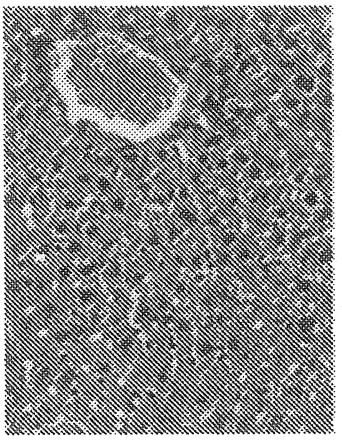
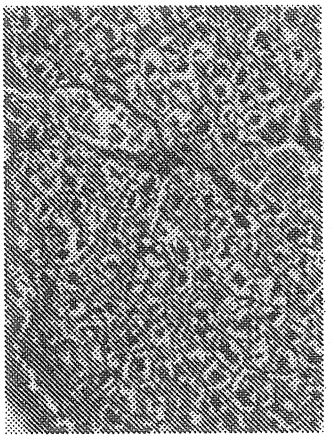


FIG. 12C



10^{11} vg AAV8-1.3HBV

FIG. 12D

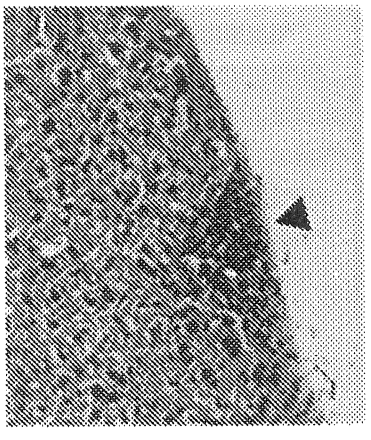


FIG. 12E

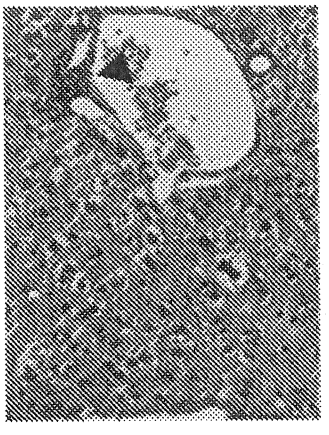
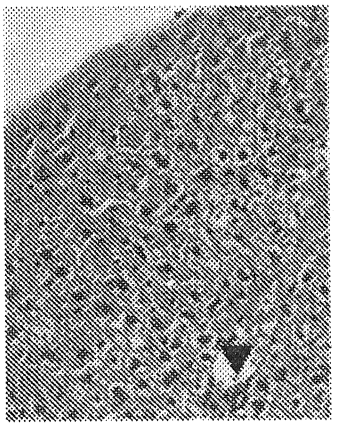


FIG. 12F



10^{11} vg AAV8-1.3HBV / AdC6-gDPolN

FIG. 13A

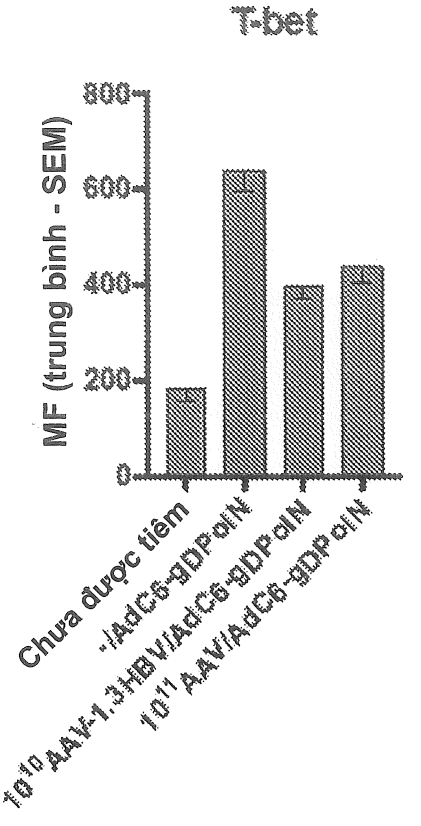


FIG. 13B

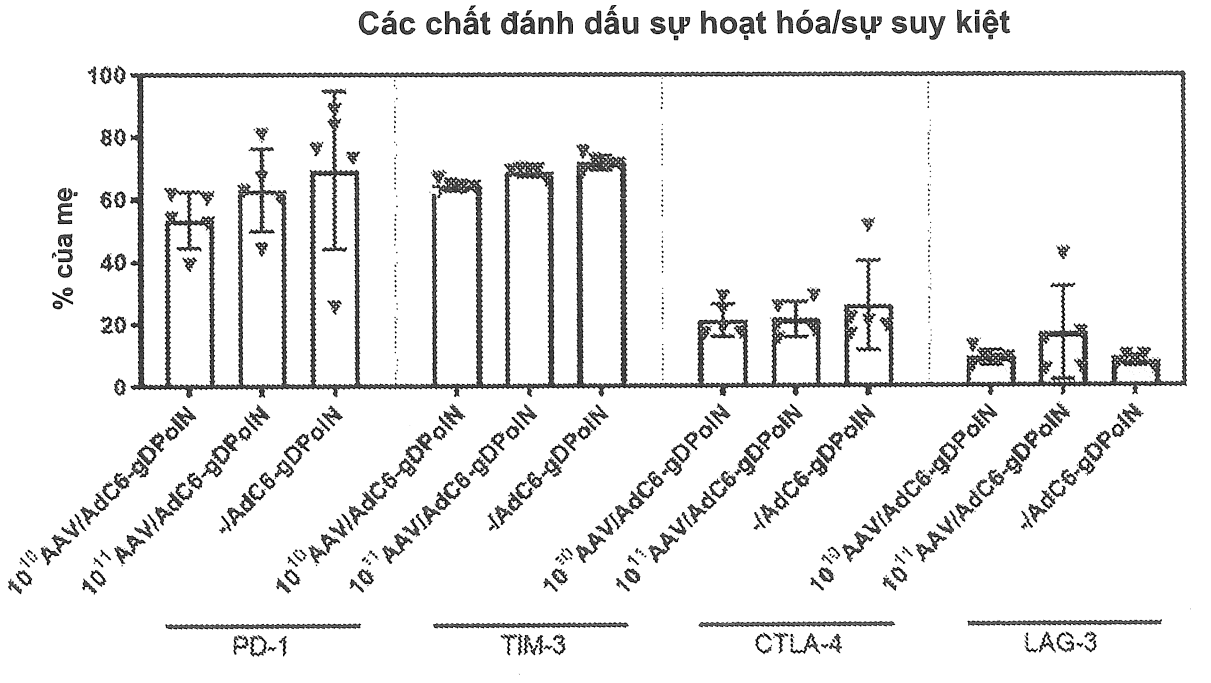


FIG. 14A

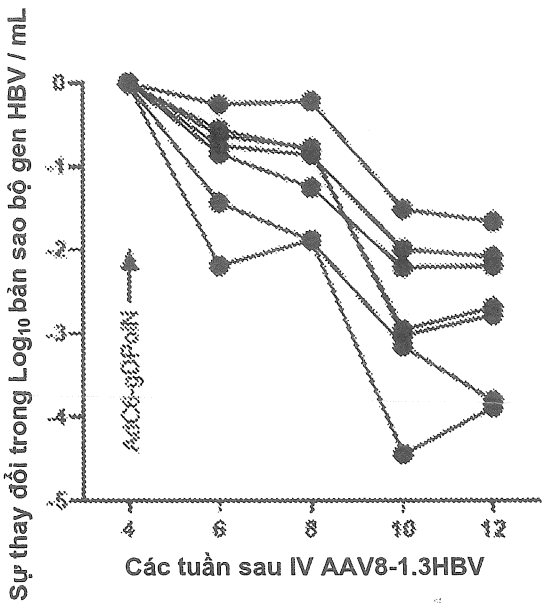


FIG. 14B

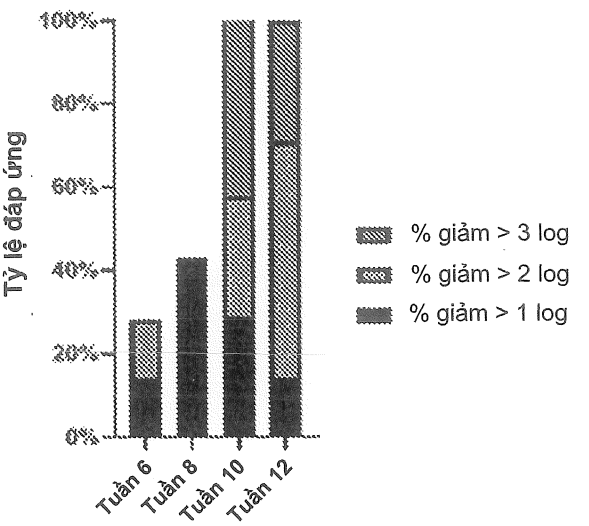


FIG. 15A

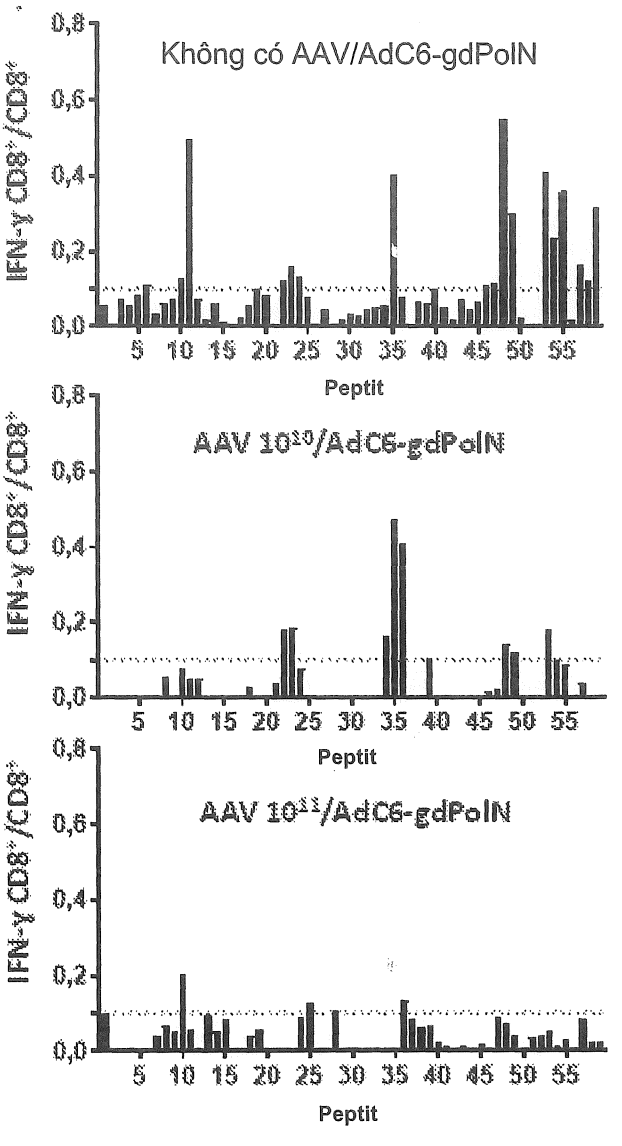


FIG. 15B

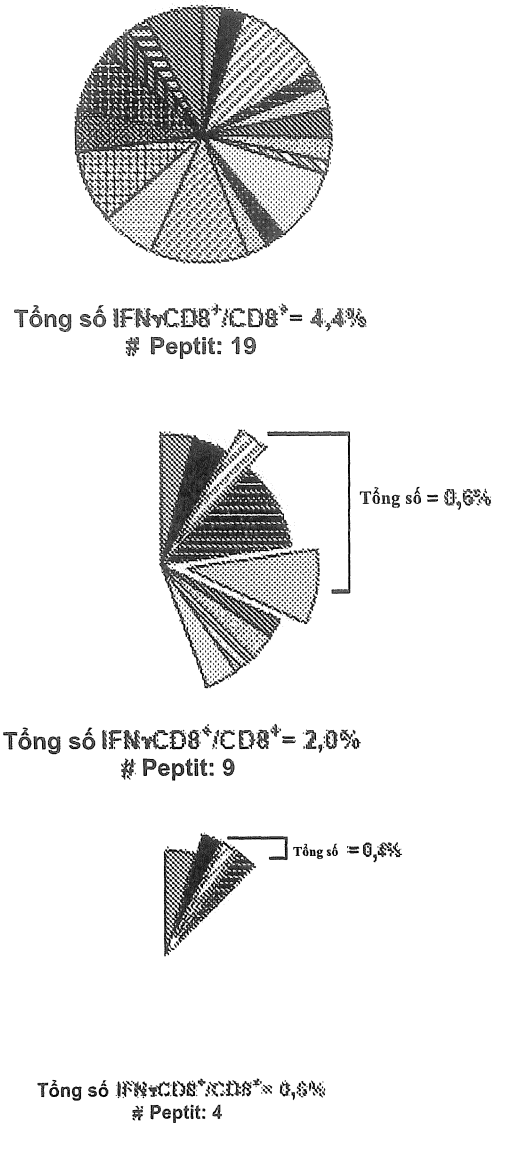


FIG. 16

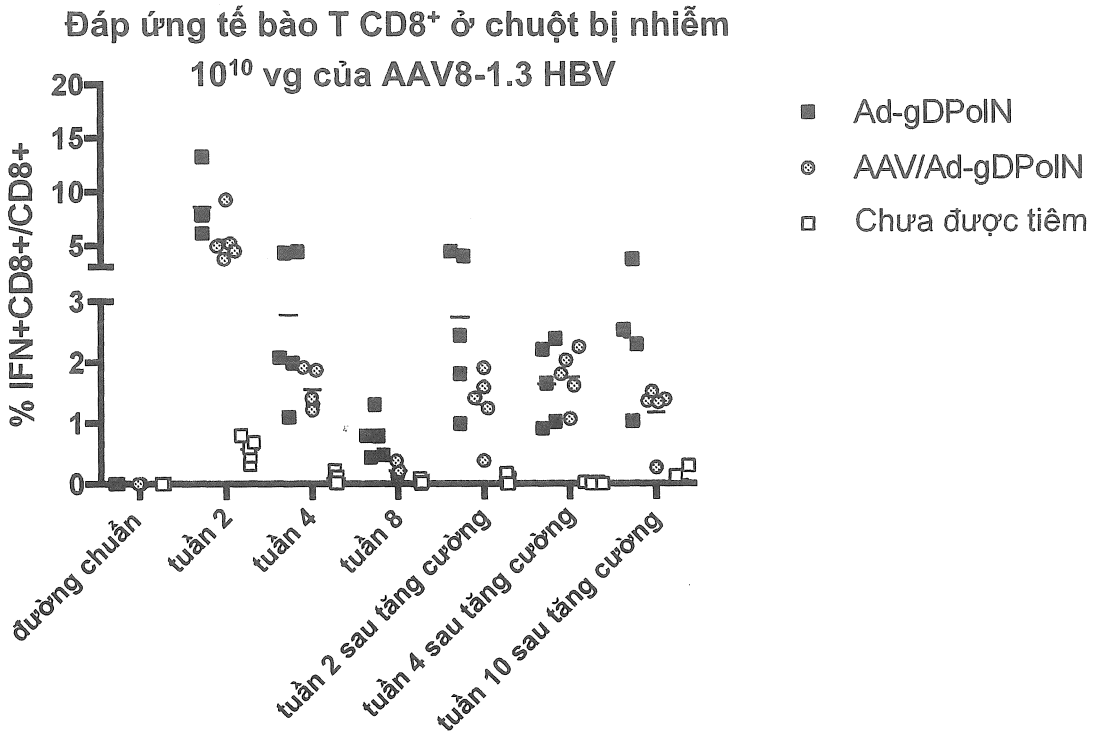

Đáp ứng tế bào T CD8+ ở chuột bị nhiễm
10^10 vg của AAV8-1.3 HBV
% IFN+CD8+/CD8+
20
15
10
5
3
2
1
0
đường chuẩn
tuần 2
tuần 4
tuần 8
tuần 2 sau tăng cường
tuần 4 sau tăng cường
tuần 10 sau tăng cường
Ad-gDPolN
AAV/Ad-gDPolN
Chưa được tiêm

FIG. 17A

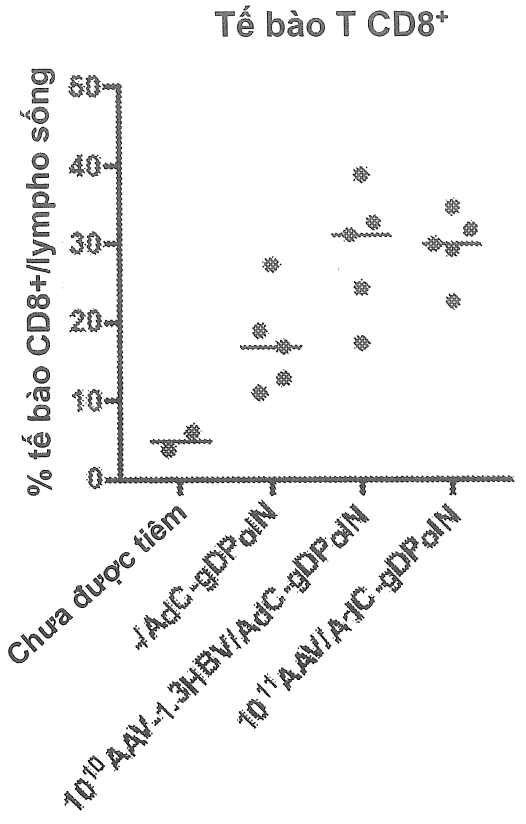


FIG. 17B

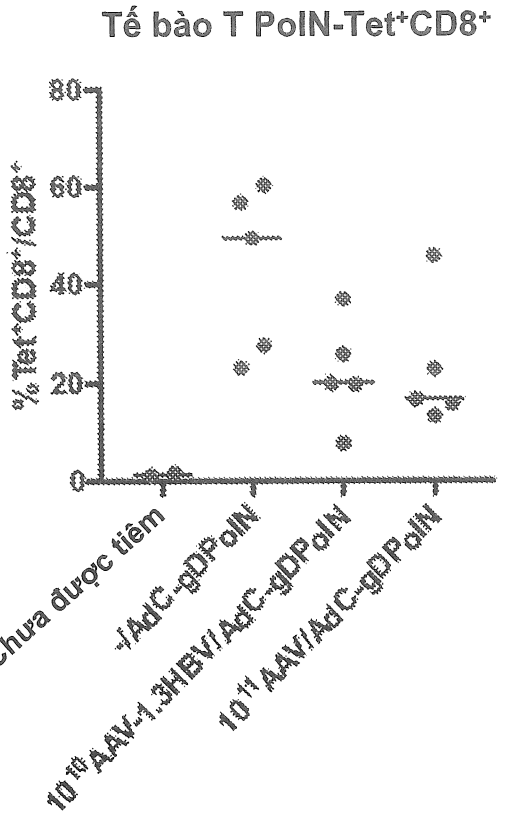


FIG. 18A

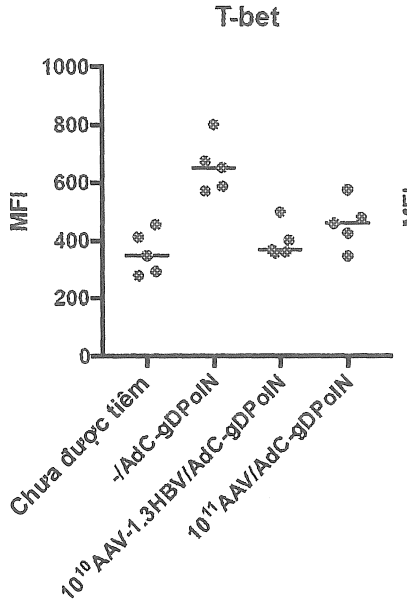


FIG. 18B

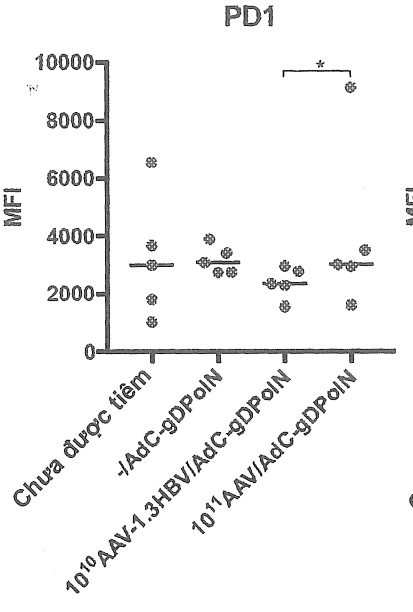


FIG. 18C

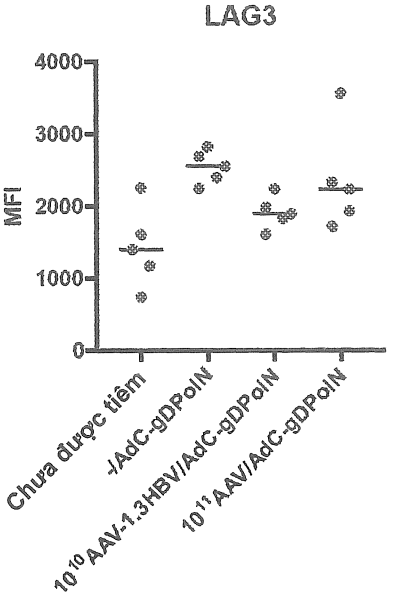


FIG. 18D

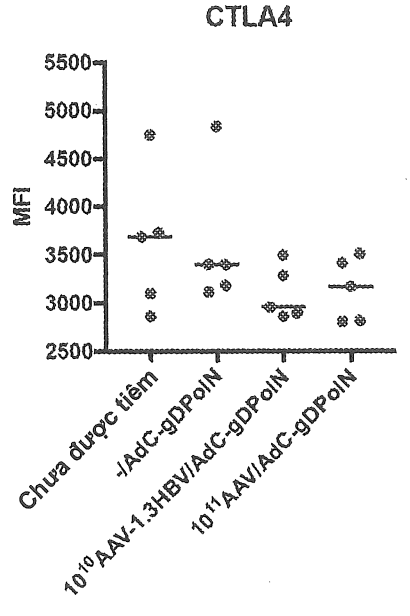


FIG. 18E

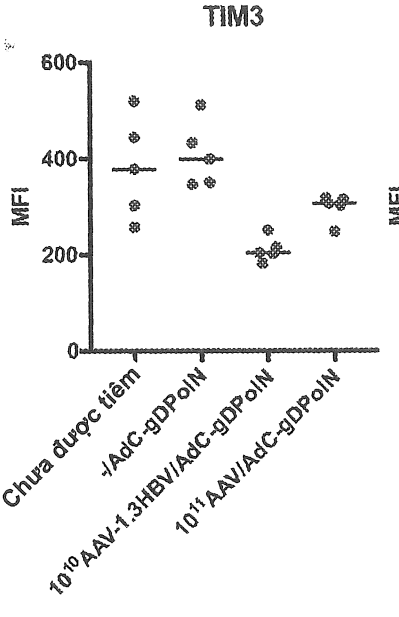


FIG. 18F

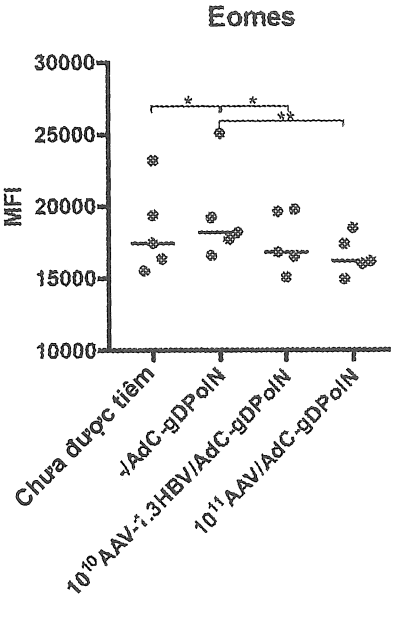


FIG. 19A

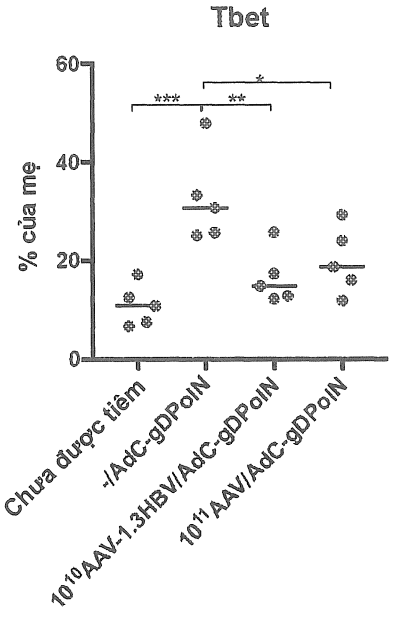


FIG. 19B

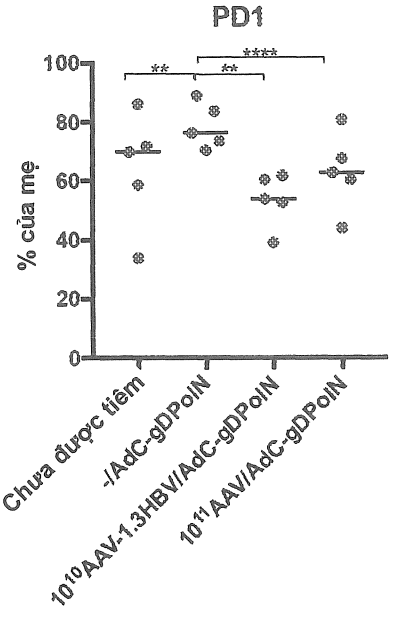


FIG. 19C

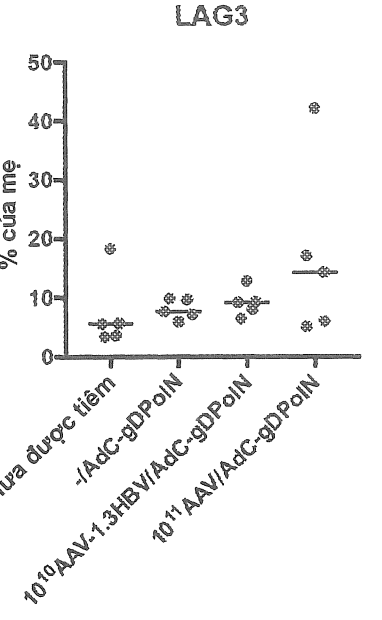


FIG. 19D

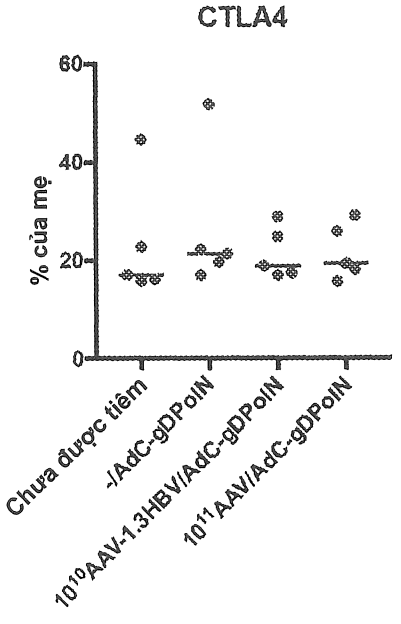


FIG. 19E

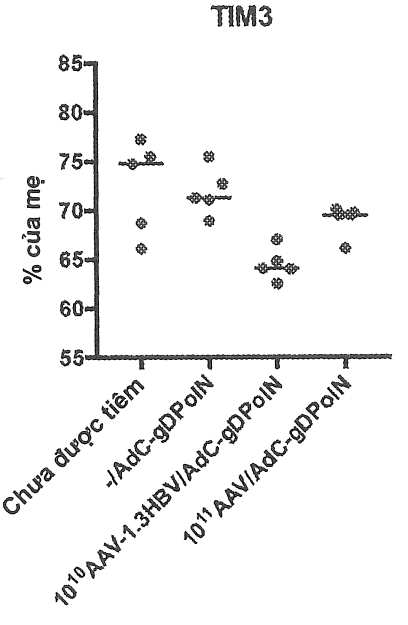


FIG. 19F

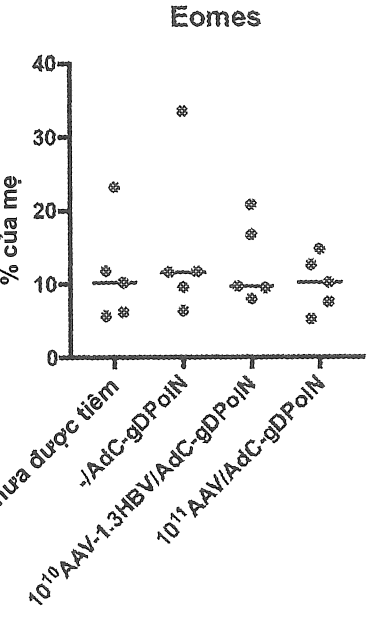


FIG. 20A

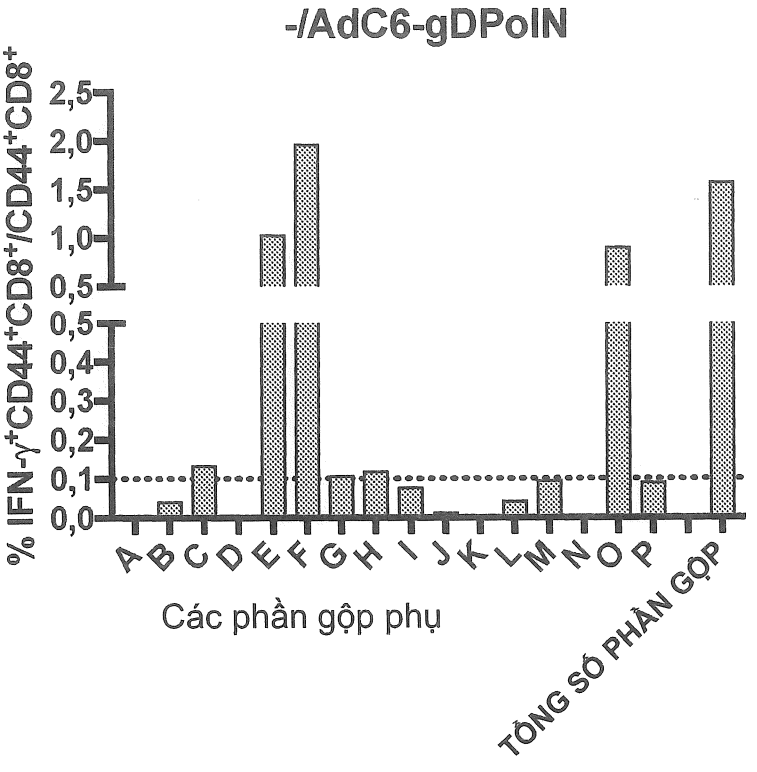


FIG. 20B

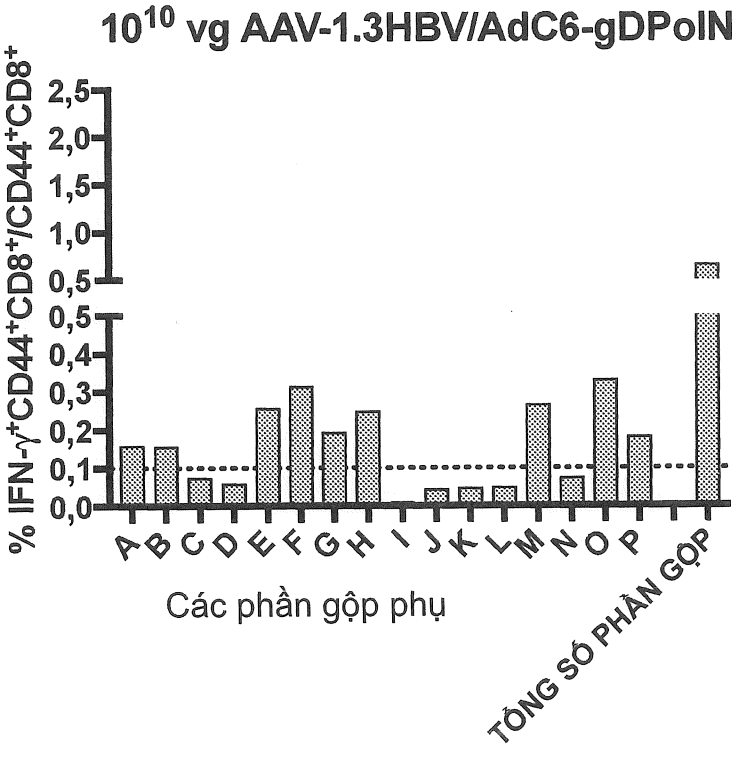


FIG. 20C

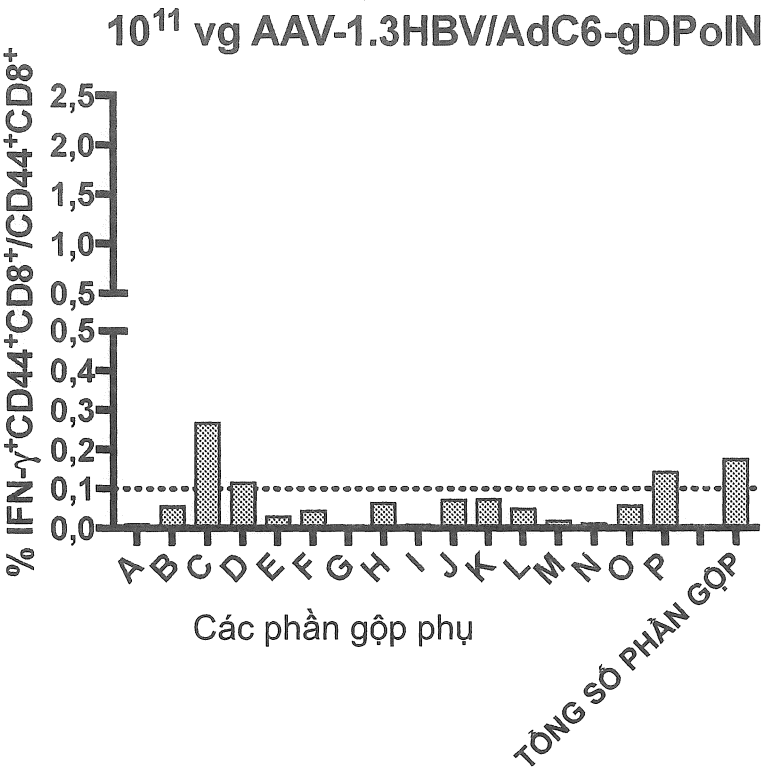


FIG. 20D

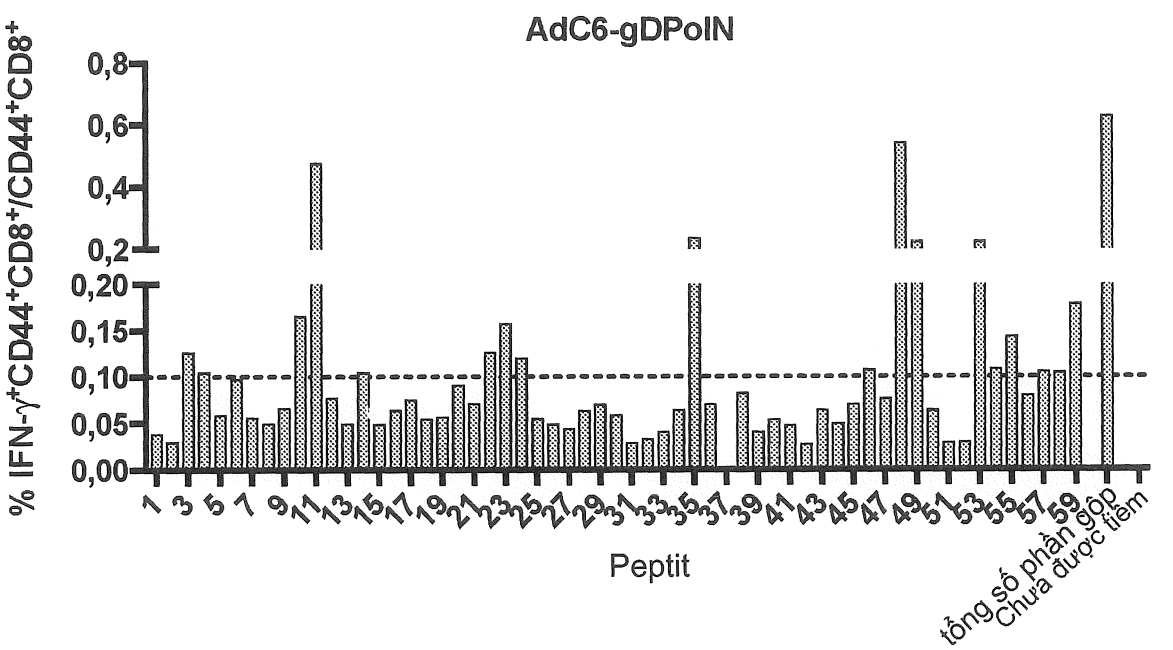


FIG. 20E

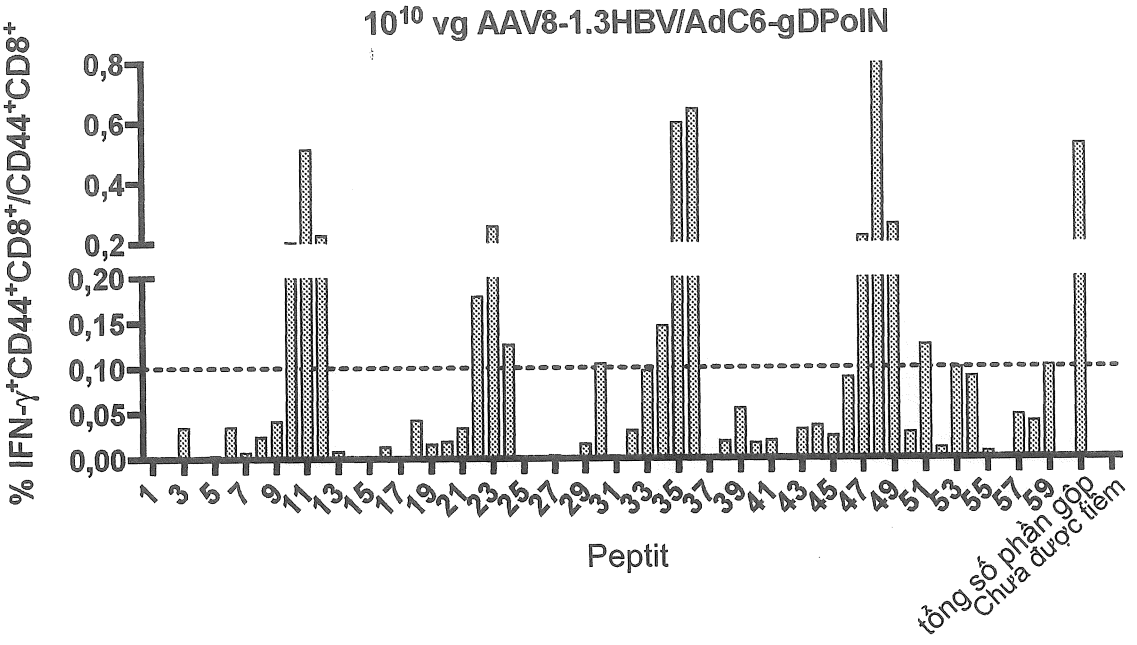


FIG. 20F

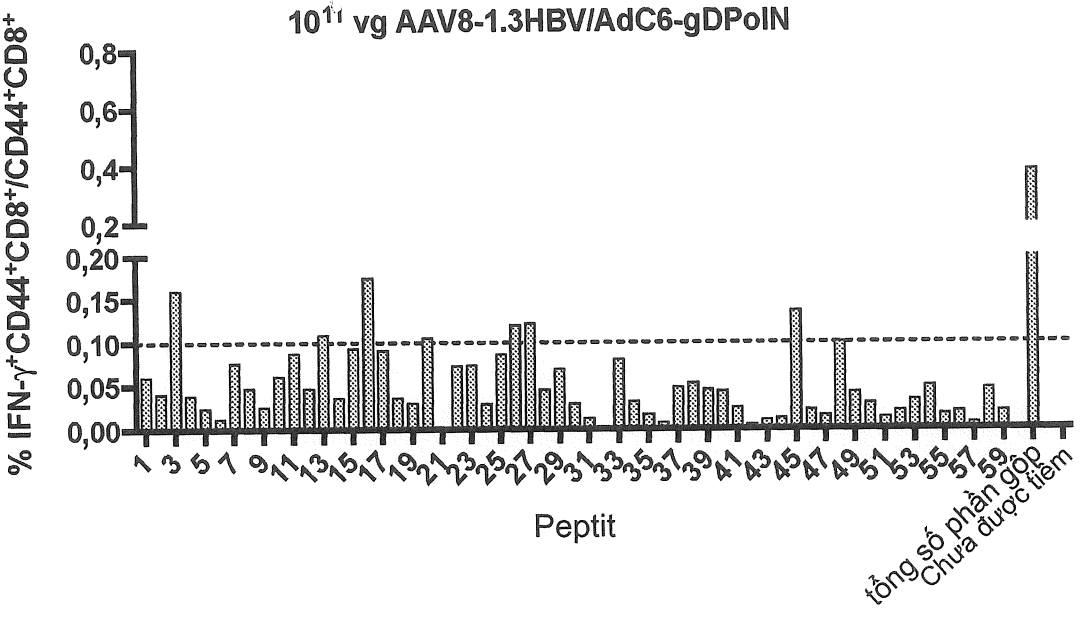


FIG. 21A

AAV8-1.3 HBV/AdC6-gDPolN cơ bản ± AdC7-gDPolN tăng cường:
Các chức năng của tế bào CD8+ đặc hiệu PolN

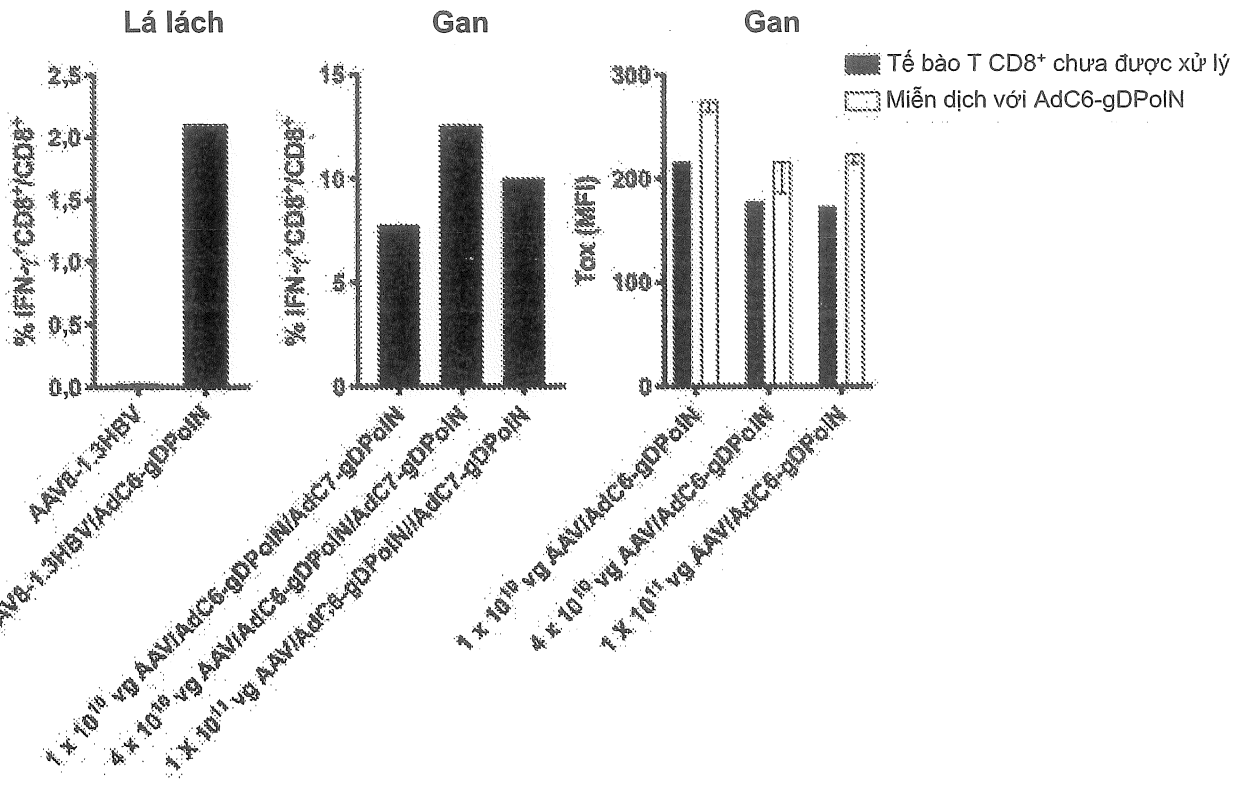


FIG. 21B

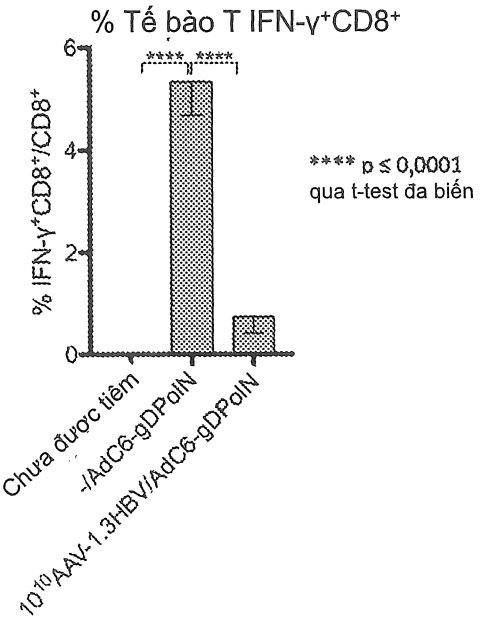


FIG. 22A

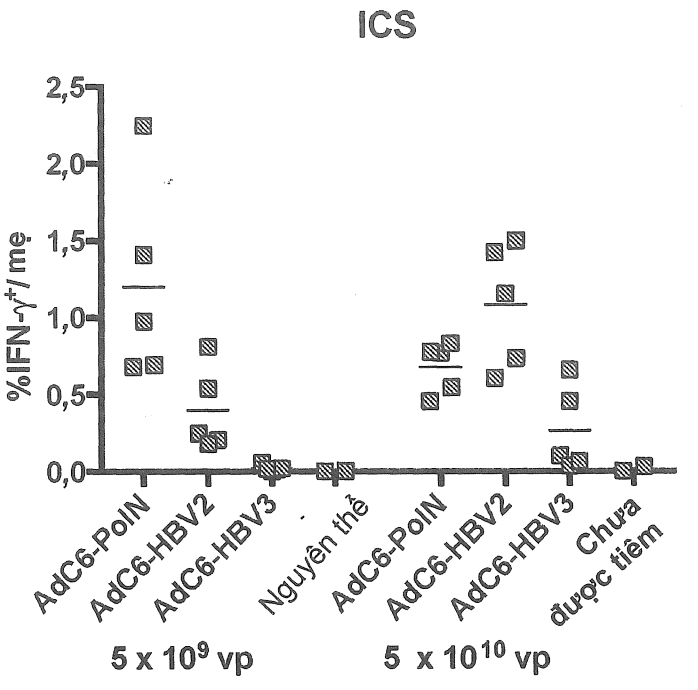


FIG. 22B

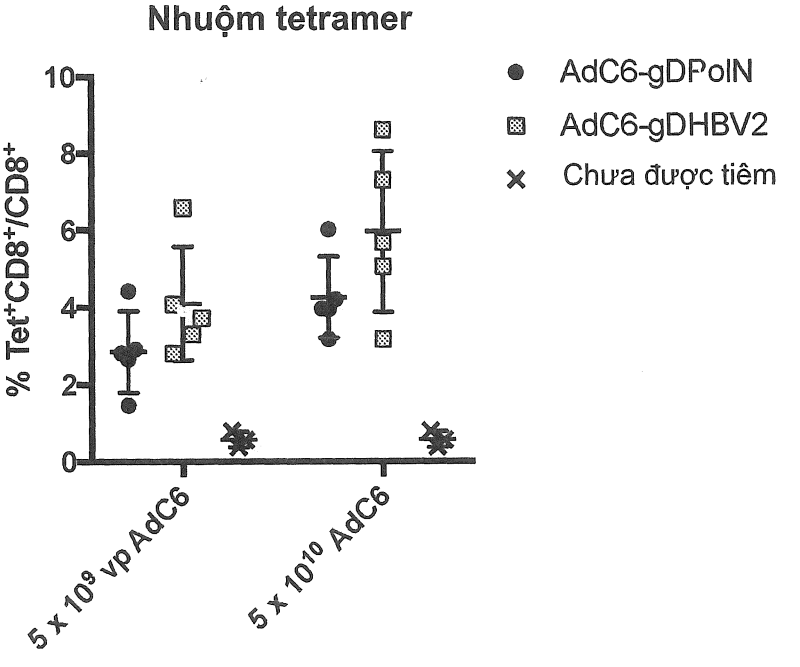


FIG. 23

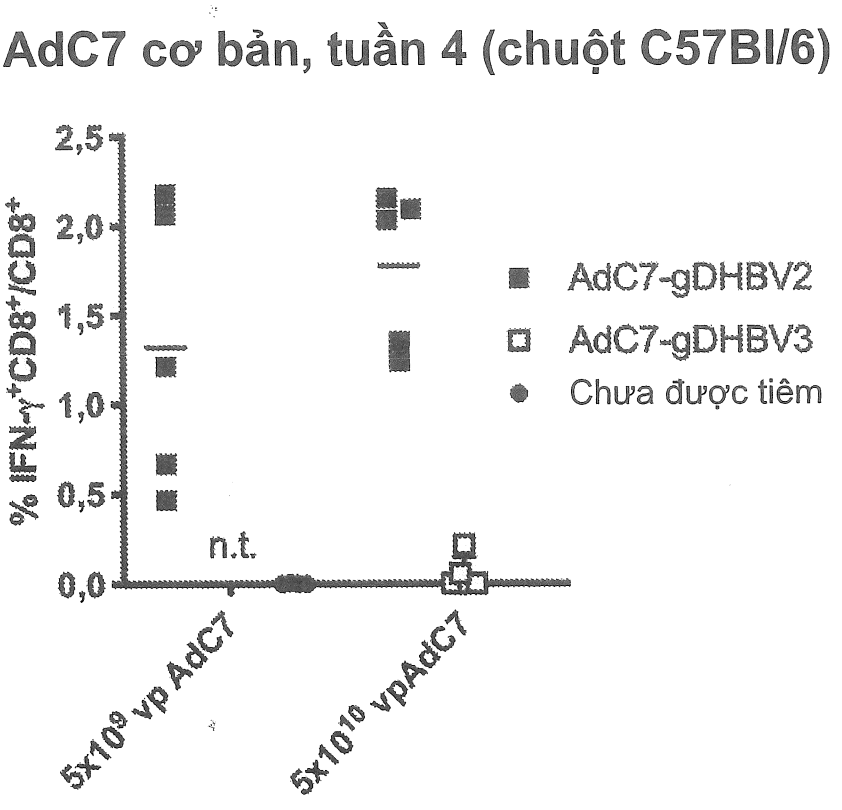

AdC7 cơ bản, tuần 4 (chuột C57Bl/6)
% IFN-γ+CD8+/CD8+
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
n.t.
AdC7-gDHBV2
AdC7-gDHBV3
Chưa được tiêm
5x10^9 vp AdC7
5x10^10 vpAdC7

FIG. 24A

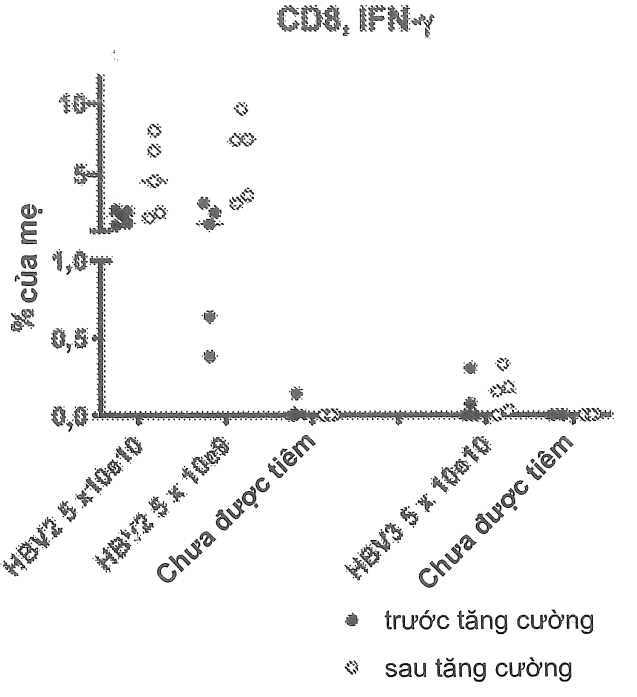


FIG. 24B

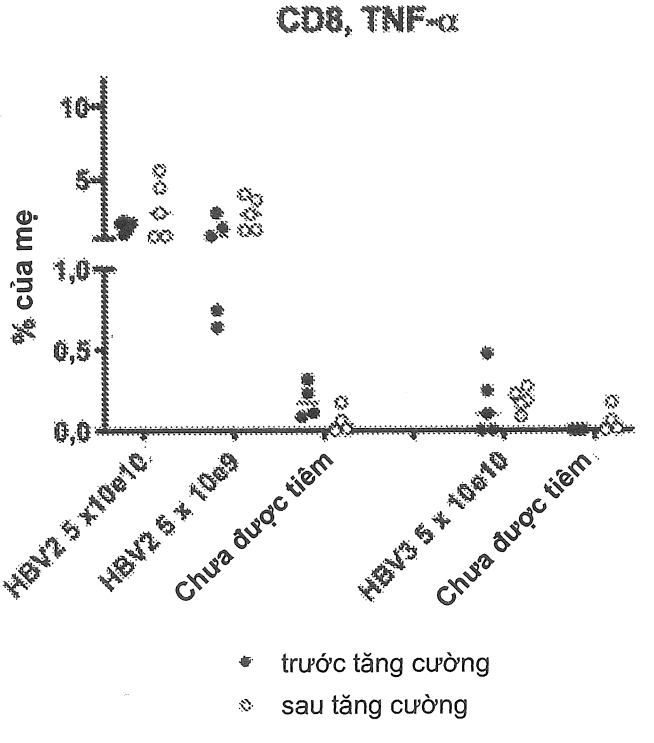


FIG. 24C

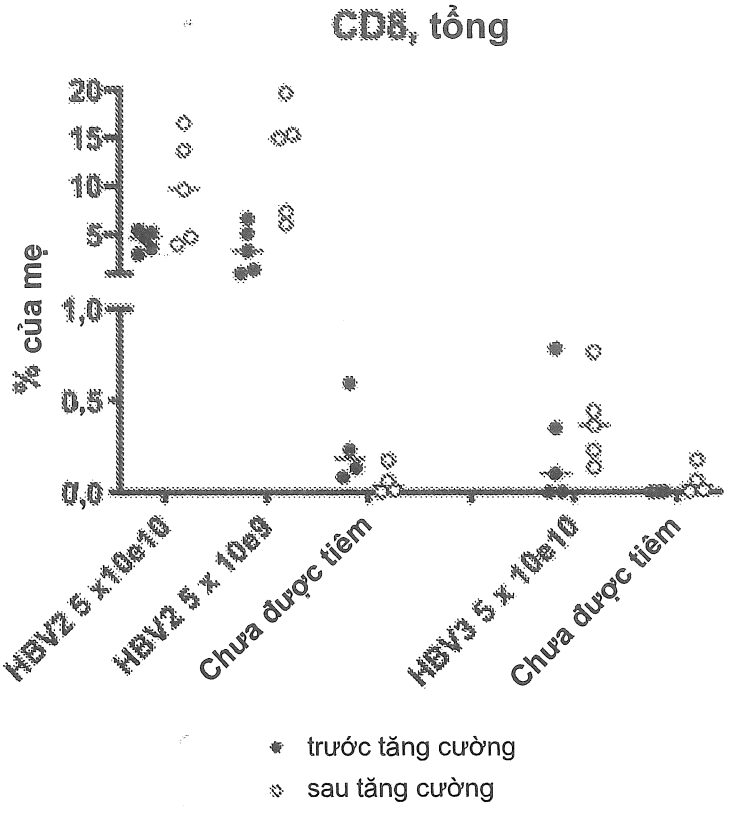


FIG. 24D

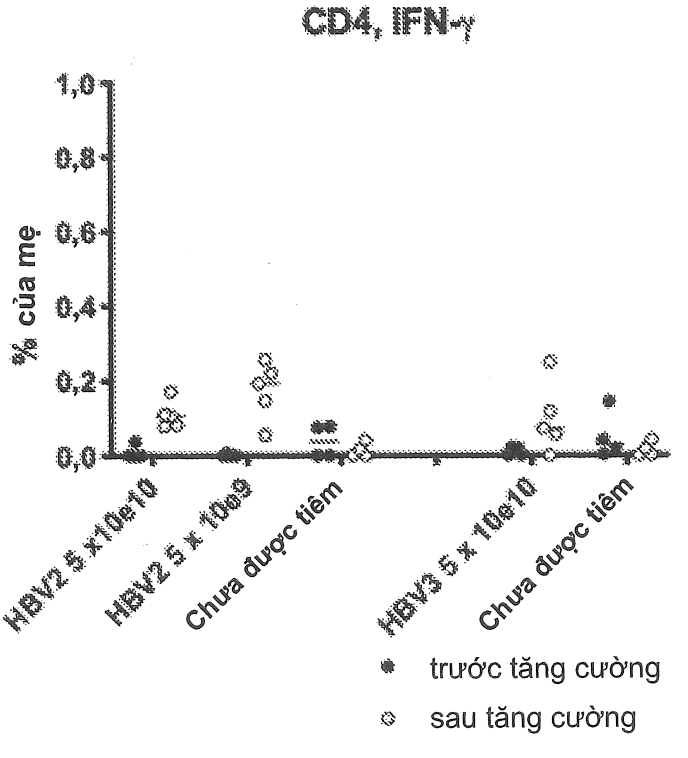


FIG. 24E

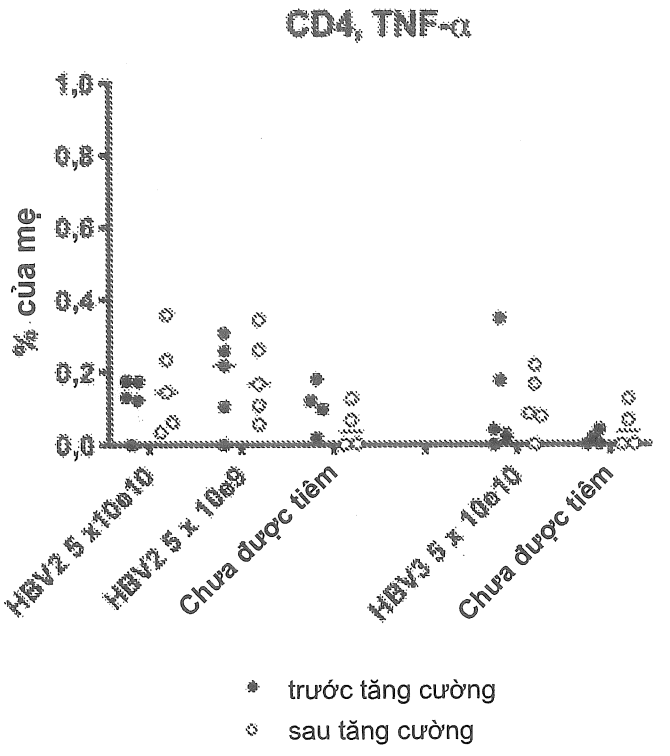


FIG. 24F

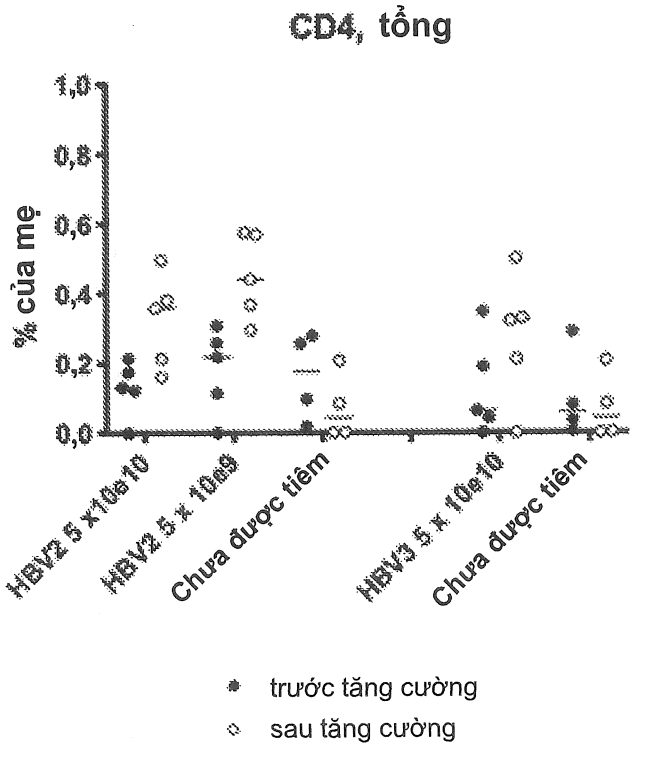


FIG. 25A

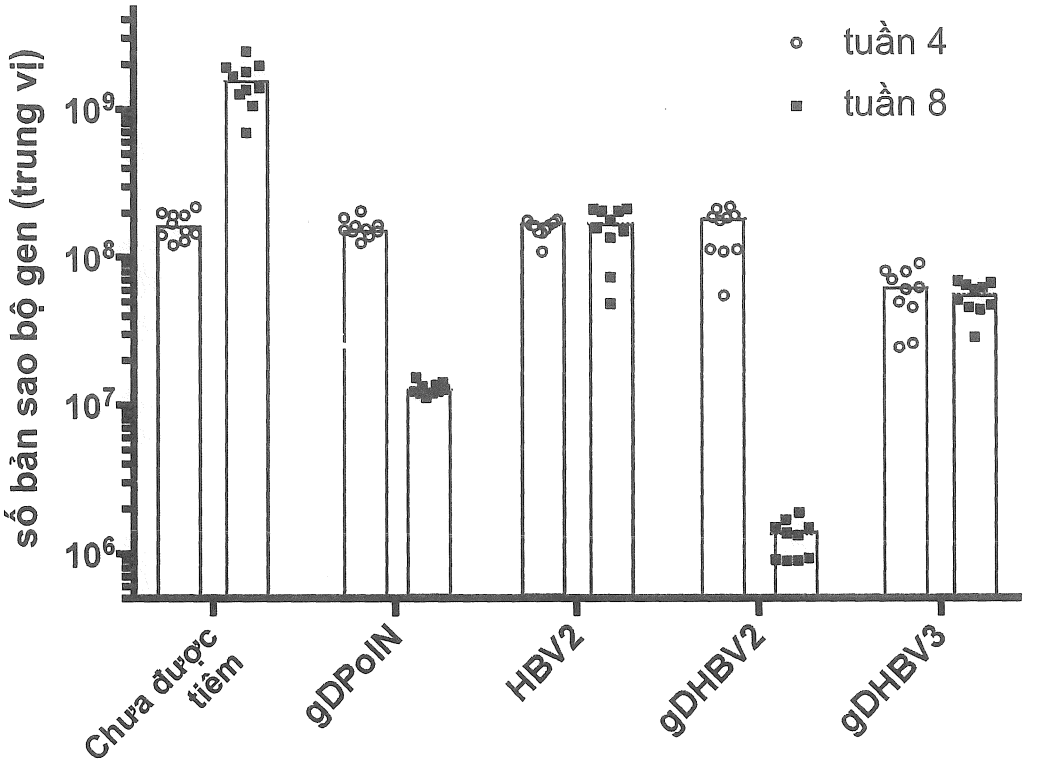
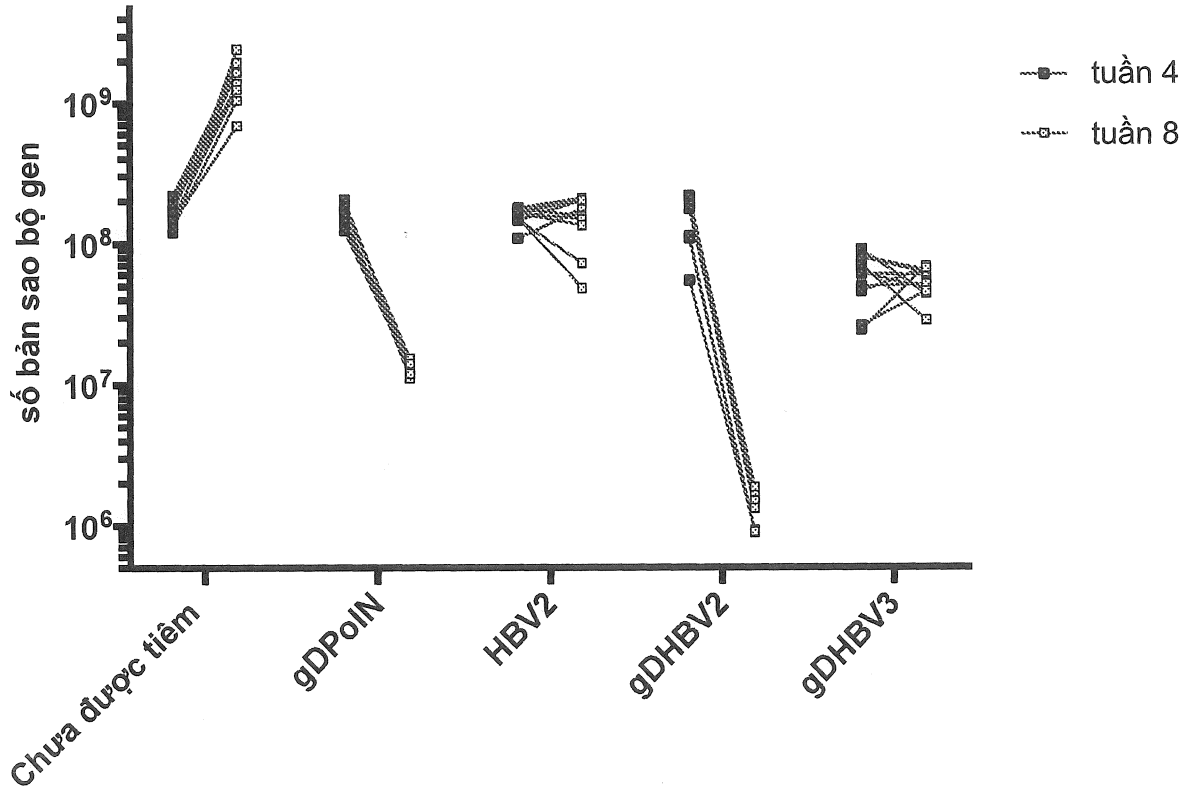


FIG. 25B



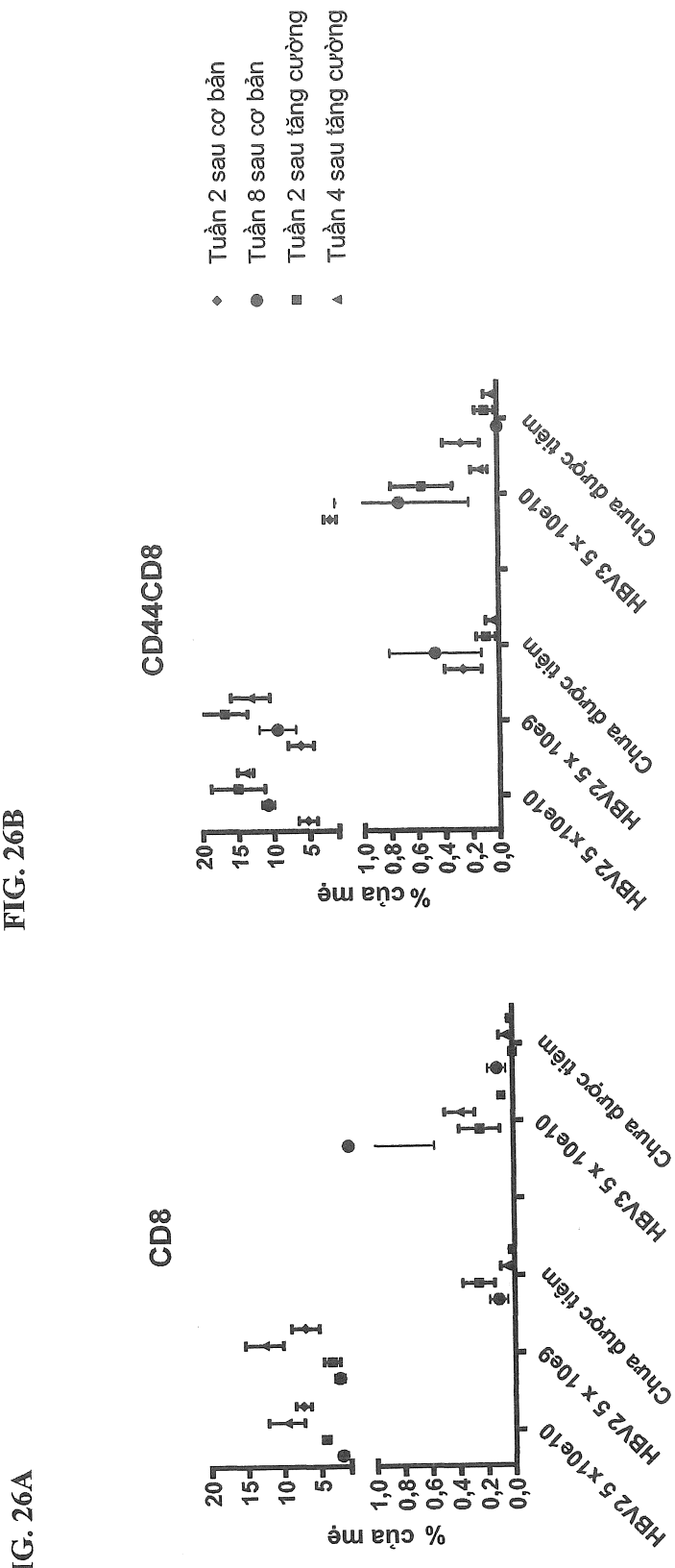


FIG. 26B

FIG. 26A

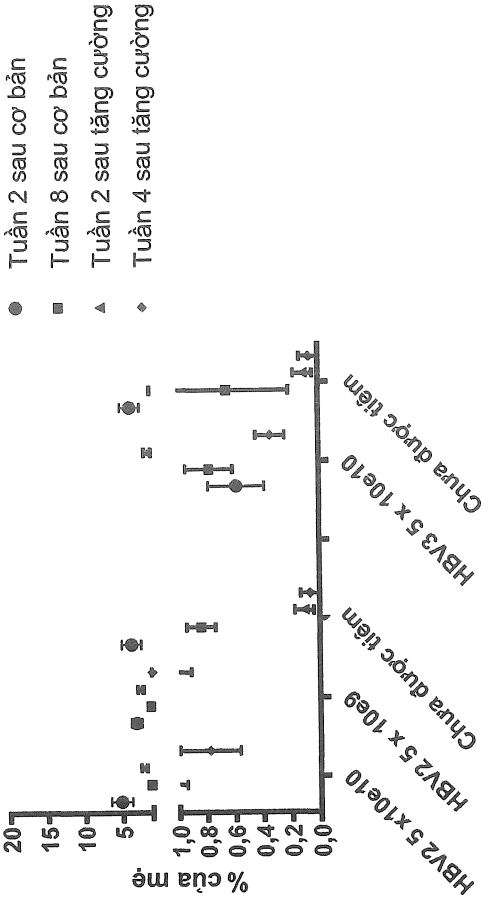


FIG. 26D

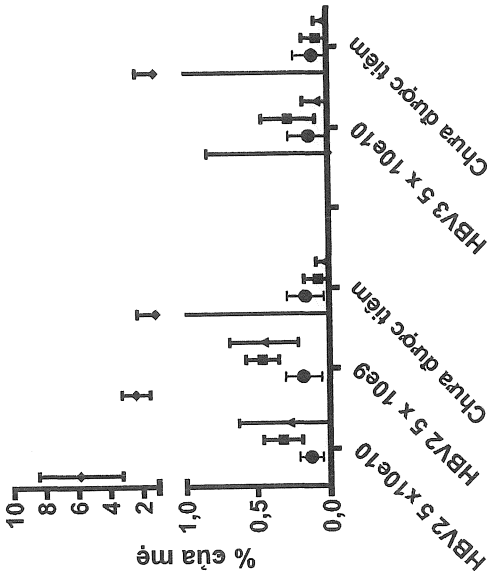


FIG. 26C

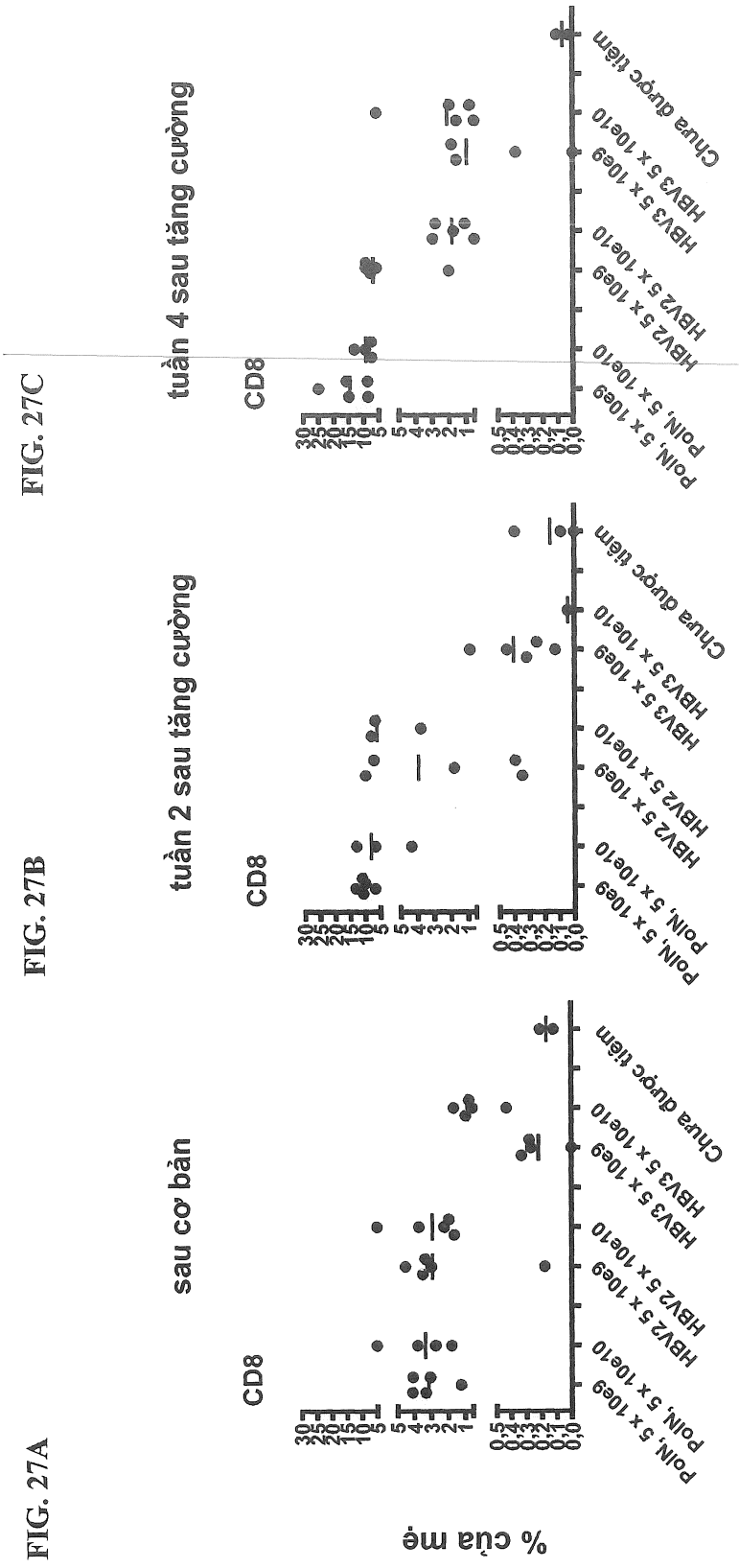


FIG. 27A

FIG. 27B

FIG. 27C

FIG. 28A

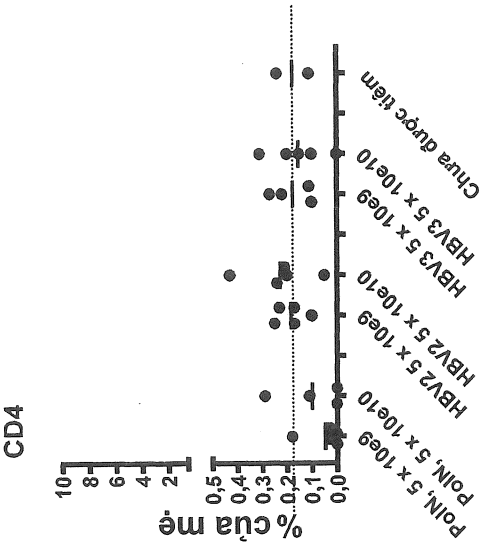


FIG. 28B

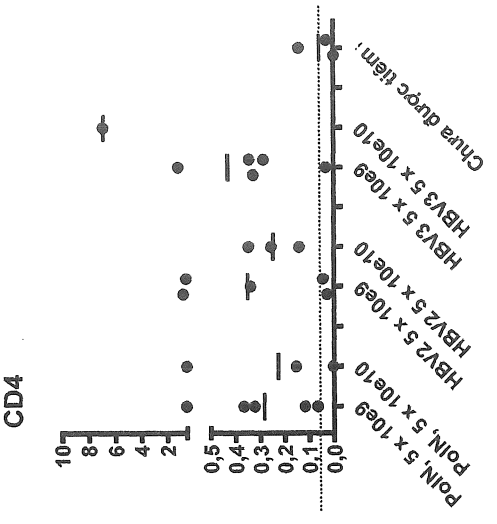


FIG. 28C

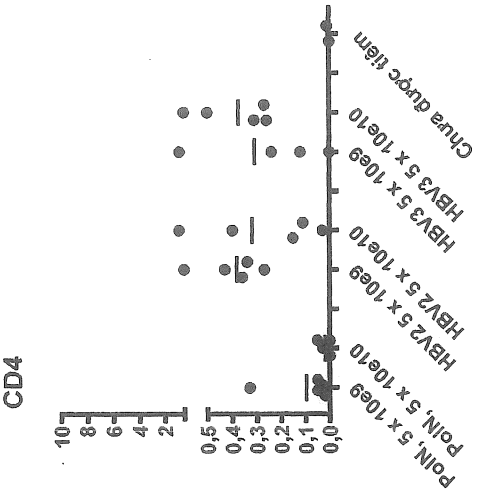


FIG. 29A

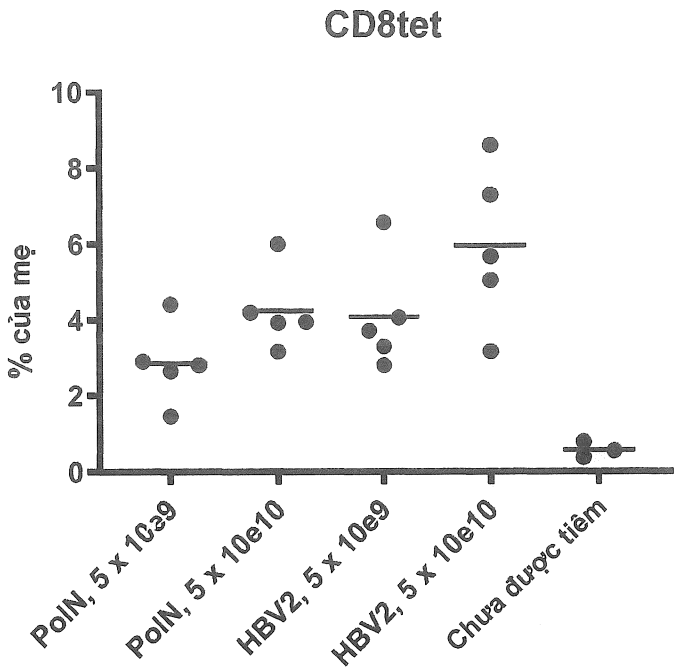


FIG. 29B

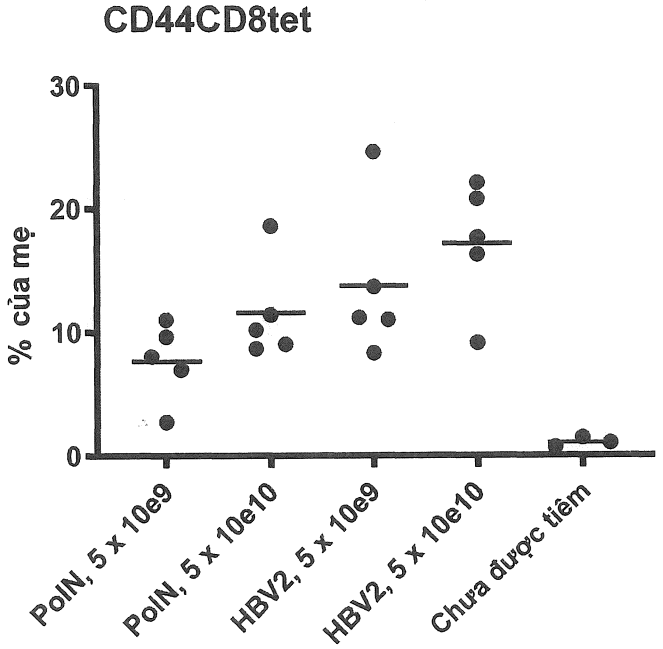


FIG. 30A

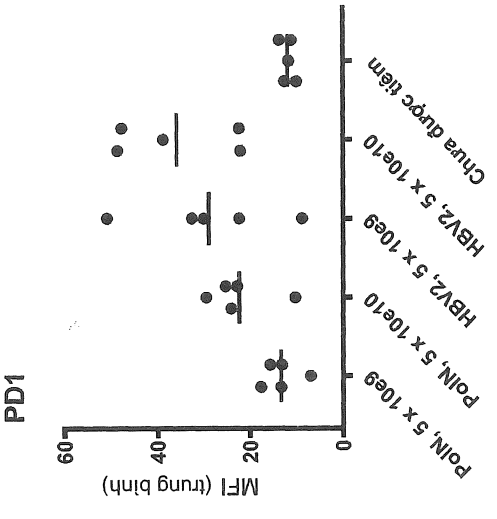


FIG. 30B

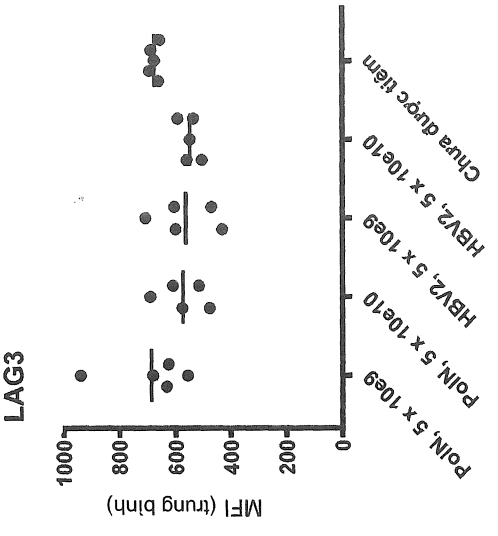


FIG. 30C

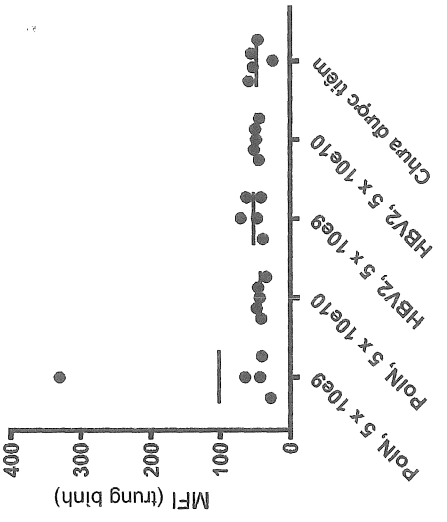


FIG. 30D

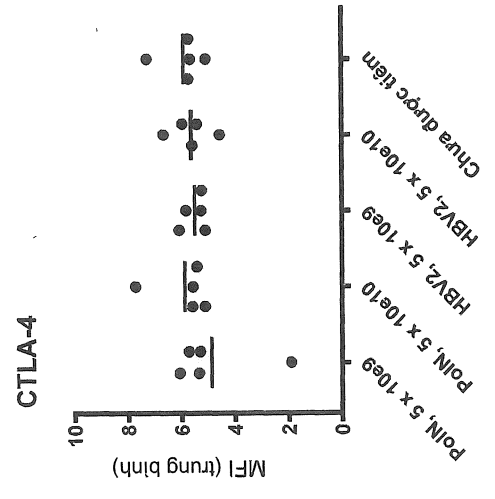


FIG. 30E

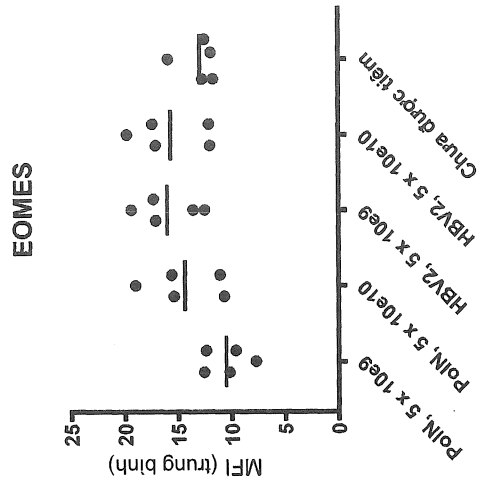


FIG. 30F

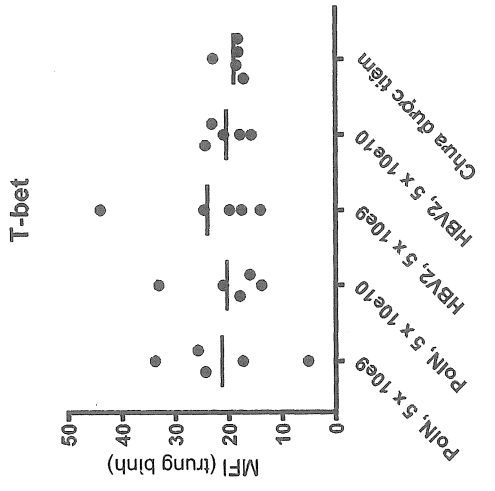
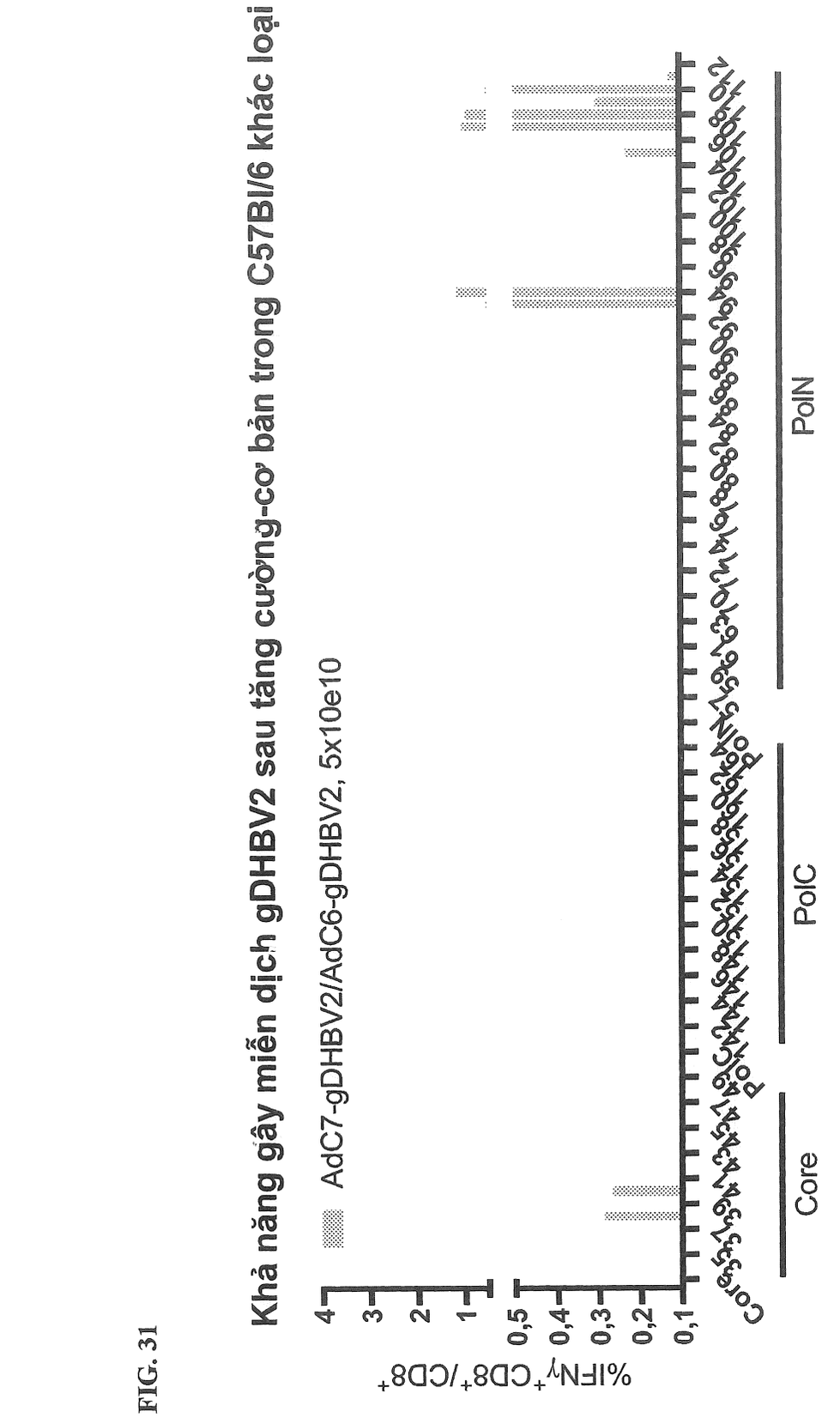


FIG. 31


Khả năng gây miễn dịch gDHBV2 sau tăng cường-cơ bản trong C57Bl/6 khác loại
AdC7-gDHBV2/AdC6-gDHBV2, 5x10e10
%IFNγ+CD8+/CD8+
4
3
2
1
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Core
PolC
PolN

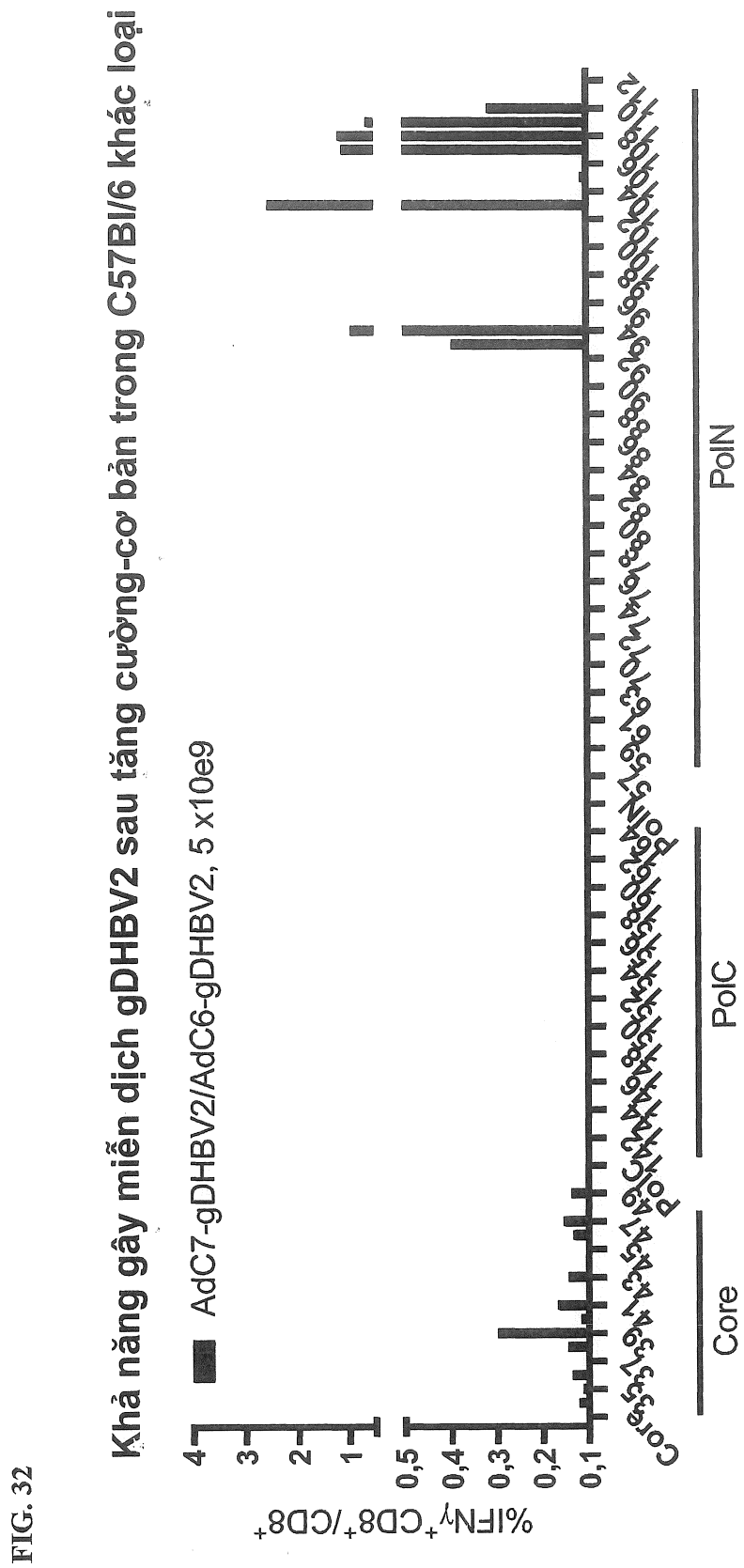

Khả năng gây miễn dịch gDHBV2 sau tăng cường-cơ bản trong C57Bl/6 khác loại
AdC7-gDHBV2/AdC6-gDHBV2, 5 x10e9
%IFNγ+CD8+/CD8+
4
3
2
1
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Core
PolC
PolN

FIG. 32

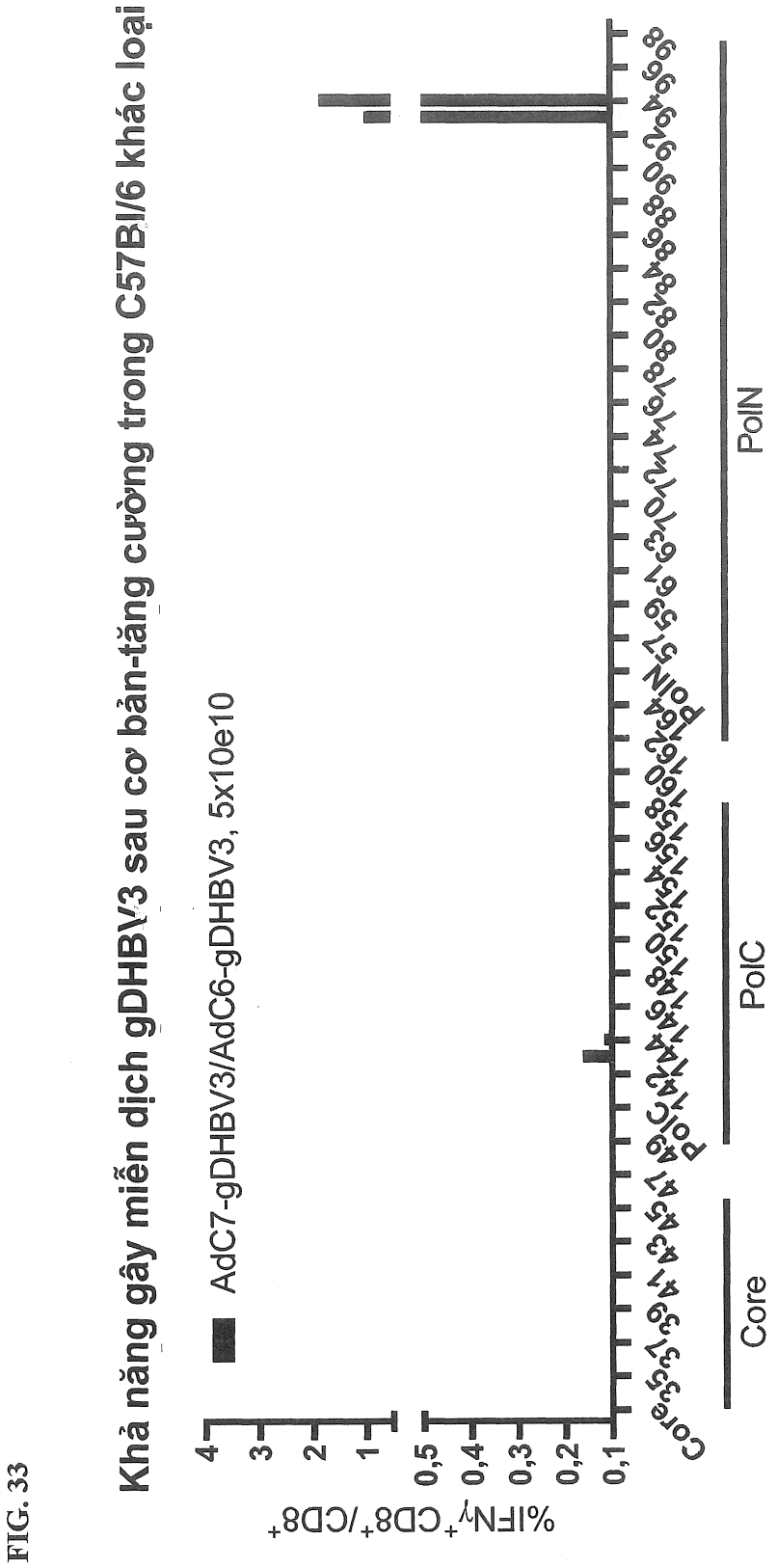

Khả năng gây miễn dịch gDHBV3 sau cơ bản-tăng cường trong C57Bl/6 khác loại
AdC7-gDHBV3/AdC6-gDHBV3, 5x10e10
%IFNγ+CD8+/CD8+
4
3
2
1
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Core
PolC
PolN

FIG. 33

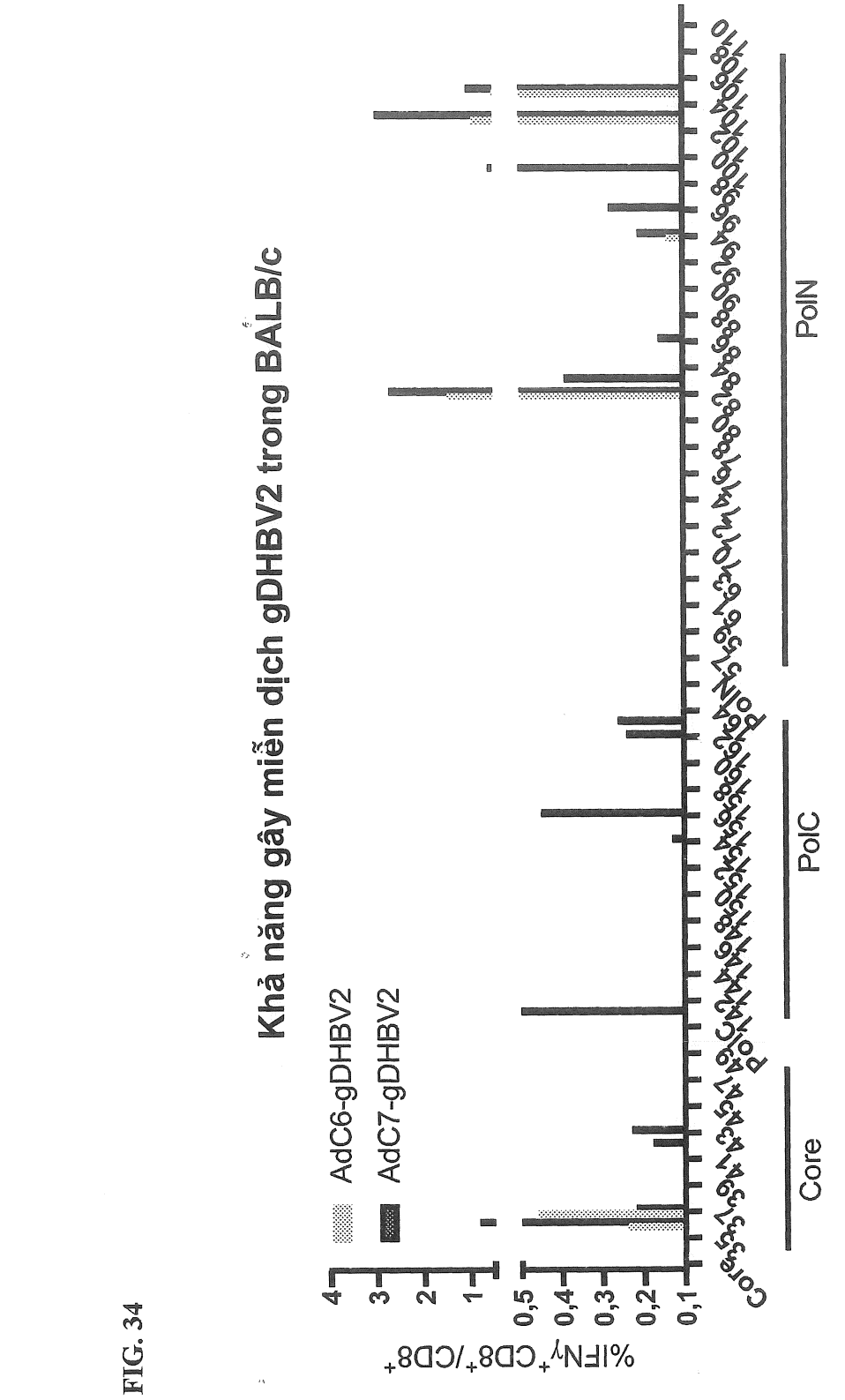

Khả năng gây miễn dịch gDHBV2 trong BALB/c
AdC6-gDHBV2
AdC7-gDHBV2
%IFNγ+CD8+/CD8+
4
3
2
1
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Core
PolC
PolN

FIG. 34

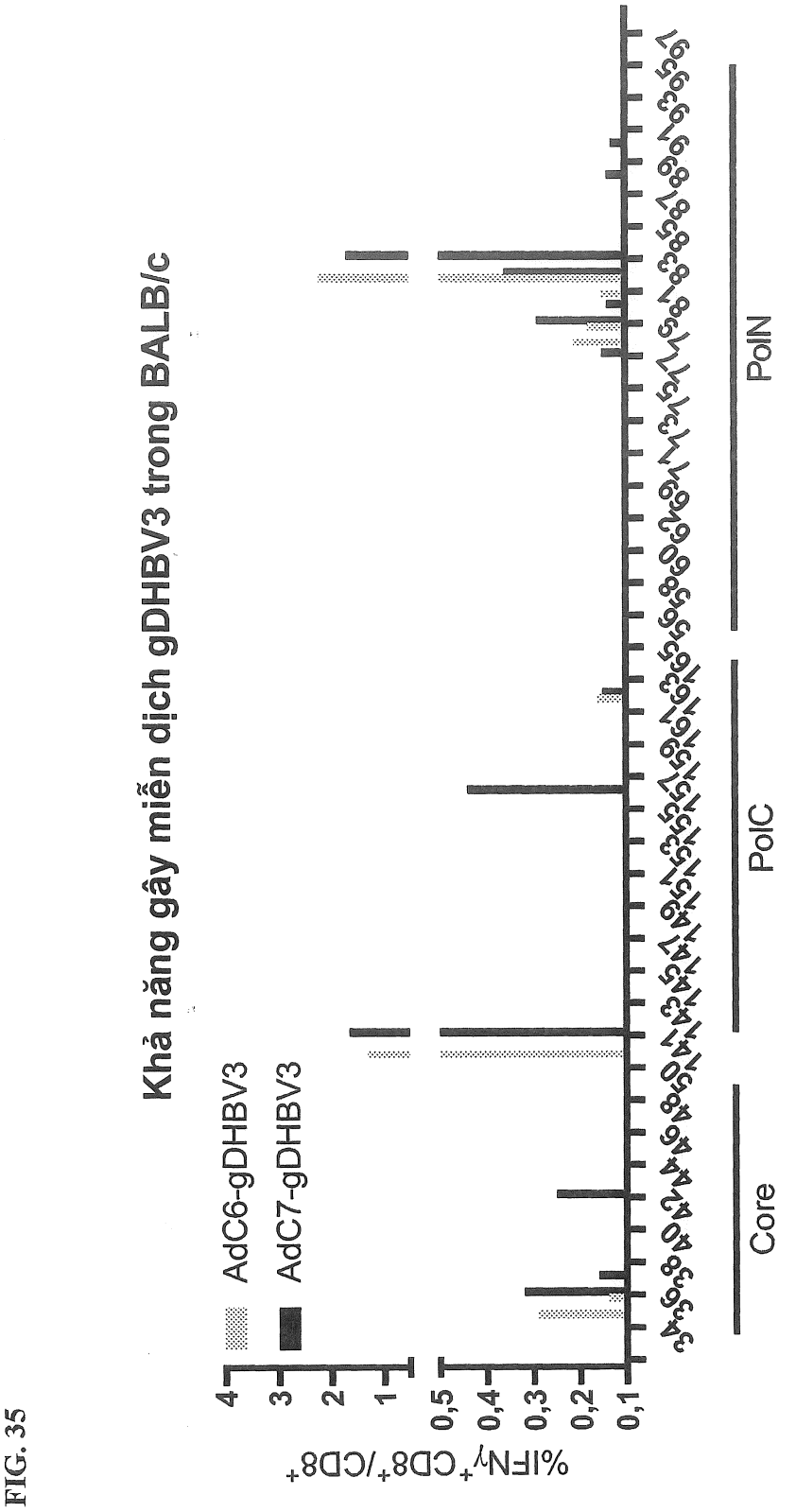

Khả năng gây miễn dịch gDHBV3 trong BALB/c
AdC6-gDHBV3
AdC7-gDHBV3
%IFNγ+CD8+/CD8+
4
3
2
1
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Core
PolC
PolN

FIG. 35