



(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)



1-0052245

(51)^{2020.01} A61K 39/39; C07H 21/00

(13) B

(21) 1-2020-03980

(22) 07/12/2018

(86) PCT/EP2018/083956 07/12/2018

(87) WO2019/115385 20/06/2019

(30) 17207740.6 15/12/2017 EP; 17207750.5 15/12/2017 EP; 17207746.3 15/12/2017 EP

(45) 27/10/2025 451

(43) 25/09/2020 390A

(73) ELANCO ANIMAL HEALTH GMBH (DE)

Alfred-Nobel-Strasse 50, 40789 Monheim am Rhein, Germany

(72) ILG, Thomas (DE).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ CHẾ PHẨM NÀY

(21) 1-2020-03980

(57) Sáng chế đề cập đến các chế phẩm kích thích miễn dịch hữu hiệu để kích hoạt đáp ứng miễn dịch ở loài chim. Cụ thể hơn, các chế phẩm kích thích miễn dịch này chứa chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch mà khi được sử dụng sẽ kích thích thụ thể giống toll 21. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp bào chế các chế phẩm kích thích miễn dịch này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm và phương pháp kích thích protein thụ thể giống toll 21 (TLR21). Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến các oligonucleotit và chế phẩm kích thích miễn dịch, phương pháp tạo ra các oligonucleotit và chế phẩm kích thích miễn dịch, và phương pháp kích thích TLR21.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hệ miễn dịch của động vật có xương sống đã tiến hóa các cơ chế phân tử để nhận biết mầm bệnh xâm lấn và khởi động các con đường tín hiệu tế bào để chủ động chống lại sự lây nhiễm. Một số cơ chế phân tử là đặc hiệu cho vi sinh vật cụ thể và bao gồm các phân tử sinh học như kháng thể mà nhận biết các kháng nguyên bề mặt của loại mầm bệnh đơn. Không may là cơ chế kháng lại mầm bệnh cụ thể không hoàn toàn hiệu quả vì một số động vật không phát triển tính kháng đạt được bất kỳ nào cho đến sau khi sự lây nhiễm đã diễn ra, và trong một số trường hợp, mầm bệnh đã âm thầm phát triển các phương tiện để lẩn tránh các biện pháp phòng thủ đạt được của động vật có xương sống.

Động vật có xương sống cũng nhận biết sự lây nhiễm một cách chung hơn, và sự nhận biết này dẫn đến đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu như tăng cường biểu hiện cytokin. Biện pháp phòng thủ này có thể được kích hoạt khi các thụ thể tế bào liên kết với các mẫu phân tử liên quan đến mầm bệnh (pathogen-associated molecular pattern - PAMP). Tương tác giữa PAMP và thụ thể cùng nguồn gốc của vật chủ đối với PAMP có thể gây đáp ứng miễn dịch. Ví dụ, protein thụ thể giống toll 21 (TLR21) là phân tử chức năng tương ứng ở gà của TLR9 động vật có vú và có khả năng nhận biết các motif CpG không được metyl hóa, có hàm lượng CpG ở các vi sinh vật cao hơn so với ở động vật có xương sống. Các phương pháp đã biết tận dụng con đường đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu này bằng cách sử dụng các plasmit hoặc oligonucleotit có motif CpG không được metyl hóa, và sự hoạt hóa TLR21 bằng các axit nucleic chứa motif CpG đã thể hiện là hoạt hóa các tín hiệu tế bào liên quan để đáp ứng miễn dịch chống lại sự lây nhiễm vi sinh vật. Tuy nhiên, các plasmit hoặc oligonucleotit kích thích miễn dịch được sử dụng đơn độc có thể không kích hoạt được đáp ứng đủ để chống lại sự lây nhiễm.

Những nhà sản xuất động vật quy mô lớn có nhu cầu cấp thiết về các phương pháp thay thế cho việc điều trị bằng kháng sinh để chống lại sự lây nhiễm. Người tiêu dùng đang gây sức ép lên nhà sản xuất để đưa ra các sản phẩm từ động vật không chứa kháng sinh, và đồng thời, sự gia tăng khả năng lây nhiễm các mầm bệnh kháng kháng sinh cho thấy sự nguy hiểm khi sử dụng các chất kháng sinh phòng bệnh cho quần thể lớn. Tương tự, tính kháng kháng sinh đang trở thành vấn đề nổi bật quốc gia về sức khỏe con người. Bệnh viện và phòng khám đang trở thành những điểm nổi bật bùng nổ vi khuẩn kháng thuốc như *Staphylococcus aureus* (MRSA) kháng nhiều loại thuốc.

Do đó, có nhu cầu về các chế phẩm kích thích miễn dịch và phương pháp kích hoạt đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu chống lại các mầm bệnh. Phương pháp và chế phẩm được mô tả hướng đến những nhu cầu quan trọng này và cả những nhu cầu khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các chế phẩm kích thích miễn dịch chứa chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmid axit nucleic và chất dẫn phân phối liposom; và oligonucleotit kích thích miễn dịch có ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp tạo ra chế phẩm kích thích miễn dịch bao gồm bước kết hợp chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmid axit nucleic và oligonucleotit kích thích miễn dịch để tạo ra chế phẩm kích thích miễn dịch, ly tâm chế phẩm kích thích miễn dịch để tạo ra dịch nổi và phần kết viên; và tách phần kết viên.

Bản mô tả còn bộc lộ phương pháp kích thích TLR21 bao gồm việc cho đối tượng sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch, và trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmid axit nucleic không mã hóa và chất dẫn phân phối lipid cation.

Bản mô tả còn bộc lộ phương pháp kích hoạt đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bằng cách cho đối tượng sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch, hoặc chế phẩm kích thích miễn dịch chứa oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch có ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit

kích thích miễn dịch, và trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmit axit nucleic không mã hóa và chất dẫn phân phối lipit cation.

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 đây, sẽ được hiểu rõ hơn khi được xem xét kết hợp với các hình vẽ kèm theo. Nhằm mục đích minh họa các chế phẩm và phương pháp được mô tả, các hình vẽ thể hiện các phương án minh họa về các chế phẩm và phương pháp; tuy nhiên, các chế phẩm và phương pháp này không bị giới hạn ở các phương án cụ thể được mô tả. Trong các hình vẽ:

FIG. 1 minh họa cấu trúc hóa học của gốc cholesteryl gắn với cầu liên kết tetraetylen glycol.

FIG. 2A và FIG. 2B so sánh tính sinh miễn dịch của ADN plasmit, ADN plasmit kích thích miễn dịch được tạo phức với các liposom cation, và các oligonucleotit kích thích miễn dịch. **FIG. 2A** so sánh tính sinh miễn dịch của ADN plasmit kích thích miễn dịch (“pADN”) và pADN được tạo phức với các liposom cation (“pADN-F”). **FIG. 2B** so sánh tính sinh miễn dịch của pADN, pADN-F, và oligonucleotit kích thích miễn dịch GCGT3-TG4T có cải biến cholesteryl đầu 5’ (“5Chol-GCGT3-TG4T”).

FIG. 3A và FIG. 3B so sánh tính sinh miễn dịch của ADN plasmit kích thích miễn dịch, ADN plasmit kích thích miễn dịch được tạo phức với các liposom cation, oligonucleotit kích thích miễn dịch, và tổ hợp của chúng. **FIG. 3A** so sánh tính sinh miễn dịch của pADN, pADN-F, 5Chol-GCGT3-TG4T, pADN kết hợp với 5’Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-5Chol-GCGT3-TG4T”), và pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F-5Chol-GCGT3-TG4T”), trong đó các oligonucleotit kích thích miễn dịch ở nồng độ nM và pADN và pADN-F ở nồng độ µg/ml. **FIG. 3B** mô tả sự khác biệt về tính sinh miễn dịch giữa pADN, pADN-F, 5Chol-GCGT3-TG4T, pADN kết hợp với 5’Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-5Chol-GCGT3-TG4T”), và pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F-5Chol-GCGT3-TG4T”), trong đó các oligonucleotit kích thích miễn dịch ở nồng độ pM và pADN và pADN-F ở nồng độ ng/ml;

FIG. 4 minh họa khả năng của các phân đoạn pADN-F trong kích thích đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21. Cụ thể, tính sinh

miễn dịch của pADN-F được bảo quản ở 4°C được so sánh với tính sinh miễn dịch của pADN-F thu được trong phần kết viên (“phần kết viên pADN-F”) và dịch nổi (“dịch nổi pADN-F”) của mẫu đã ly tâm.

FIG. 5A và FIG. 5B minh họa bằng đồ thị khả năng tạo ra Đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 của pADN-F-5Chol-GCGT3-TG4T và 5Chol-GCGT3-TG4T lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp.

FIG. 6A và FIG. 6B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 của pADN-F-5Chol-GCGT3-TG4T ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp so với khả năng của 5Chol-GCGT3-TG4T thu được trong phần kết viên (“phần kết viên pADN-F 5Chol”) và phần dịch nổi (“phần dịch nổi pADN-F 5Chol”) của mẫu pADN-F đã ly tâm.

FIG. 7A và FIG. 7B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 của 5Chol-GCGT3-TG4T ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp so với khả năng của 5Chol-GCGT3-TG4T thu được trong phần kết viên (“phần kết viên 5Chol”) và phần dịch nổi (“phần dịch nổi 5Chol”) của mẫu pADN-F đã ly tâm.

FIG. 8A và FIG. 8B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 của 5Chol-GCGT3-TG4T lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp (“5Chol-GCGT3-TG4T 4°C”) so với khả năng của pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T “pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”).

FIG. 9A và FIG. 9B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 của pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp so với khả năng của pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T thu được trong phần kết viên (“phần kết viên pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) và phần dịch nổi (“phần dịch nổi pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) của mẫu pADN-F đã ly tâm.

FIG. 10A và FIG. 10B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 của pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F-5-Chol-GCGT3-TG4T”) lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp so với khả năng của pADN-F và oligonucleotit kích thích miễn dịch 5-Chol-GCGT3-TG4T.

FIG. 11A và FIG. 11B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 của pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F-5-Chol-GCGT3-TG4T”) lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp so với khả năng của pADN-F kết hợp với 5Chol-GCGT3-TG4T thu được trong phần kết viên (“phần kết viên pADN-F-5-Chol-GCGT3-TG4T”) và phần dịch nổi (“pADN-F-5-Chol-GCGT3-TG4T”) của mẫu pADN-F đã ly tâm.

FIG. 12A và FIG. 12B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 của pADN-F, oligonucleotit kích thích miễn dịch GCGT3-TG4T, và pADN-F được tạo phức lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp với GCGT3-TG4T (“pADN-F-GCGT3-TG4T”).

FIG. 13A và FIG. 13B so sánh khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian TLR21 ở các tế bào HEK293-bsd-cTLR21 của pADN-F kết hợp với oligonucleotit kích thích miễn dịch GCGT3-TG4T (“pADN-F-GCGT3-TG4T”) lần lượt ở nồng độ cao và nồng độ thấp so với khả năng của pADN-F kết hợp với oligonucleotit kích thích miễn dịch GCGT3-TG4T thu được trong (“phần kết viên pADN-F-GCGT3-TG4T”) và phần dịch nổi (“phần dịch nổi pADN-F-GCGT3-TG4T”) của mẫu pADN-F đã ly tâm.

FIG. 14 mô tả kết quả hiệu giá ức chế sự ngưng kết hồng cầu (Haemagglutination inhibition - HI) (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với ODN1 (GCGT3-TG4T-5Chol) vào ngày 14 (biểu đồ trên) và 21 (biểu đồ dưới) sau khi chủng ngừa (pv). Các dấu hoa thị thể hiện mức ý nghĩa (*= có nghĩa đến ****= có ý nghĩa cao).

FIG. 15 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với ODN1 (GCGT3-TG4T-5Chol) trong toàn bộ quá trình nghiên cứu.

FIG. 16 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với ODN2 (GCGT3-TG4T) vào ngày 14 (biểu đồ trên) và 21 (biểu đồ dưới) sau khi chủng ngừa. Các dấu hoa thị thể hiện mức ý nghĩa (*= có nghĩa đến ****= có ý nghĩa cao).

FIG. 17 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với ODN2 (GCGT3-TG4T) trong toàn bộ quá trình nghiên cứu.

FIG. 18 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với ODN3 (2006-PTO) vào ngày 14 (biểu đồ trên) và 21 (biểu đồ dưới) sau khi chủng ngừa. Các dấu hoa thị thể hiện mức ý nghĩa (*= có nghĩa đến ****= có ý nghĩa cao).

FIG. 19 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với ODN3 (2006-PTO) trong toàn bộ quá trình nghiên cứu.

FIG. 20 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với đối chứng dương và đối chứng âm của thử nghiệm vào ngày 14 (biểu đồ trên) và 21 (biểu đồ dưới) sau khi chủng ngừa. Các dấu hoa thị thể hiện mức ý nghĩa (*= có nghĩa đến ****= có ý nghĩa cao).

FIG. 21 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) đối với đối chứng dương và đối chứng âm của thử nghiệm trong toàn bộ quá trình nghiên cứu.

FIG. 22 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) ở các nồng độ tối ưu nhất của ODN trong toàn bộ quá trình nghiên cứu so với chỉ có vaccin NDV.

FIG. 23 mô tả kết quả hiệu giá HI trung bình (Log2) (với độ lệch chuẩn) ở các nồng độ tối ưu nhất của ODN vào ngày 14 (biểu đồ trên) và 21 (biểu đồ dưới) pv so với chỉ có vaccin NDV.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các chế phẩm và phương pháp được bộc lộ có thể được hiểu một cách dễ dàng hơn bằng cách tham chiếu đến phần mô tả chi tiết sau đây kết hợp với các hình vẽ kèm theo, những mục này là một phần của bản mô tả. Cần hiểu rằng các chế phẩm và phương pháp được bộc lộ không chỉ giới hạn ở các chế phẩm và phương pháp cụ thể được mô tả và/hoặc thể hiện ở đây, và thuật ngữ được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể làm ví dụ và không dự định để giới hạn các chế phẩm và phương pháp được yêu cầu bảo hộ.

Trừ khi được đề cập cụ thể theo cách khác, việc mô tả bất kỳ về cơ chế hoặc cách thức hoạt động hoặc nguyên nhân có thể có để cải thiện nghĩa là chỉ nhằm minh họa, và các chế phẩm và phương pháp được bộc lộ không bị giới hạn bởi tính chính xác hoặc không chính xác của cơ chế hoặc cách thức hoạt động hoặc nguyên nhân bất kỳ để cải thiện được đề xuất như vậy.

Trong toàn bộ bản mô tả, phần mô tả đề cập đến các chế phẩm và phương pháp sử dụng các chế phẩm này. Khi bản mô tả mô tả hoặc yêu cầu bảo hộ một dấu hiệu hoặc phương án có liên quan đến chế phẩm, dấu hiệu hoặc phương án như vậy có thể áp dụng ngang bằng với phương pháp sử dụng chế phẩm đó. Tương tự, khi bản mô tả mô tả hoặc

yêu cầu bảo hộ một dấu hiệu hoặc phương án có liên quan đến phương pháp sử dụng chế phẩm dấu hiệu hoặc phương án như vậy có thể áp dụng ngang bằng với chế phẩm.

Khi khoảng trị số được biểu thị, phương án khác bao gồm từ một trị số cụ thể và/hoặc đến trị số cụ thể khác. Ngoài ra, tham chiếu đến các trị số được nêu trong khoảng bao gồm từng trị số và tất cả các trị số trong khoảng đó. Tất cả các khoảng là bao gồm các đầu mút và có thể kết hợp được. Khi các trị số được biểu thị dưới dạng xấp xỉ, bằng cách sử dụng từ đứng trước “khoảng”, cần hiểu rằng trị số cụ thể tạo ra một phương án khác. Tham chiếu đến trị số bằng số cụ thể bao gồm ít nhất trị số cụ thể đó, trừ khi ngữ cảnh rõ ràng chỉ ra khác.

Cần hiểu rằng các dấu hiệu nhất định của các chế phẩm và phương pháp được bộ lộ mà để rõ ràng, được mô tả ở đây trong ngữ cảnh của các phương án riêng rẽ, cũng có thể được đưa ra ở dạng kết hợp trong một phương án. Trái lại, các dấu hiệu khác nhau của các chế phẩm và phương pháp được bộc lộ mà để ngắn gọn, được mô tả trong ngữ cảnh của một phương án đơn nhất, cũng có thể được đưa ra dạng tách riêng hoặc dạng kết hợp nhỏ hơn.

Như được sử dụng ở đây, dạng số ít bao gồm dạng số nhiều.

“Đồng sử dụng” như được sử dụng ở đây chỉ việc sử dụng chế phẩm điều biến miễn dịch kết hợp với oligonucleotit kích thích miễn dịch để đạt được hiệu quả kích thích miễn dịch mong muốn. Chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch có thể được đồng sử dụng dưới dạng các chế phẩm riêng rẽ hoặc sử dụng cùng nhau dưới dạng chế phẩm đơn nhất. Nếu chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch là các chế phẩm riêng rẽ, chúng có thể được đồng sử dụng theo kiểu dùng đồng thời hoặc lần lượt theo thứ tự. Để đồng sử dụng theo thứ tự, có thể có độ trễ tính theo phút, giờ, hoặc thậm chí một hoặc nhiều ngày giữa lần sử dụng chế phẩm điều biến miễn dịch và lần sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Như được sử dụng ở đây, “dung hợp” chỉ việc tạo ra liên kết hóa học giữa hai chất phản ứng hóa học. Trong ngữ cảnh của bản mô tả này, dung hợp thường chỉ nhất là việc kết hợp các phần tử cụ thể thành oligonucleotit. Ví dụ, loạt các nucleotit thymin có thể dung hợp vào đầu 3' của oligonucleotit.

Như được sử dụng ở đây, “trình tự G-quartet” chỉ sự trải rộng của các gốc guanin liên tiếp gần đầu 5' của oligonucleotit mà làm cho oligonucleotit có thể tương tác với

các trình tự G-quartet khác để tạo ra G-quartet. G-quartet tăng cường các đặc tính kích thích miễn dịch của axit nucleic. Ví dụ, các oligonucleotit chứa trình tự G-quartet có thể tương tác, tạo ra các G-quartet. Các trình tự G-quartet ở vùng khởi đầu của gen có thể tạo ra các cấu trúc bậc bốn có liên quan đến điều hòa sự biểu hiện gen. trong khi trình tự G-quartet không bị giới hạn ở trình tự cụ thể bất kỳ, ví dụ về trình tự G-quartet là TGGGGT.

Như được sử dụng ở đây, “trình tự G-wire”, “trình tự G wire,” “trình tự Gwire” và các thuật ngữ liên quan, chỉ nhiều, thường là hai, trong số ít nhất bốn nucleotit guanin liên tiếp. Nhiều nucleotit guanin, nằm tại hoặc gần đầu 5’ của oligonucleotit, được tách bởi hai hoặc nhiều nucleotit không phải là guanin (tức là thymine). Các trình tự G-wire có khả năng tương tác với các trình tự G-wire khác để tạo ra cấu trúc G-wire. Cấu trúc G-wire có thể tăng cường các đặc tính kích thích miễn dịch của axit nucleic. Trình tự G-wire làm ví dụ là GGGGTTGGGG (SEQ ID NO: 257) hoặc GGGGTTGGGGTTTT (SEQ ID NO: 258).

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ “trình tự giàu nucleotit guanin,” “trình tự giàu guanin” và tương tự, chỉ các trình tự chứa loạt các nucleotit guanin liên tiếp, thường từ bốn đến sáu nucleotit guanin, hoặc vùng axit nucleic, thường nằm tại hoặc gần đầu 5’ của oligonucleotit có nhiều nucleotit guanin hơn so với nucleotit adenine, xytosine, hoặc thymine. Trình tự giàu guanin như được mô tả ở đây có thể tăng cường các đặc tính kích thích miễn dịch của oligonucleotit. Cả trình tự G-quartet và G-wire đều thuộc loại trình tự giàu nucleotit guanin.

Thuật ngữ “chế phẩm điều biến miễn dịch” như được sử dụng ở đây chỉ chế phẩm chứa ít nhất plasmid axit nucleic sinh miễn dịch và chất dẫn phân phối liposome. Theo một số khía cạnh của sáng chế, các chế phẩm và phương pháp, plasmid axit nucleic có thể không mã hóa yếu tố sinh miễn dịch cụ thể và có thể sinh miễn dịch dựa vào các đặc tính vốn có của plasmid axit nucleic. Theo một số khía cạnh, chất dẫn phân phối liposome là cation.

“Plasmid axit nucleic sinh miễn dịch” là plasmid axit nucleic mà, khi được phát hiện bởi hệ miễn dịch của động vật có xương sống, kích hoạt đáp ứng miễn dịch. Một số plasmid axit nucleic sinh miễn dịch bao gồm tỷ lệ phần trăm motif CpG dinucleotide tăng so với các trình tự plasmid axit nucleic có trong tự nhiên ở một số động vật có xương

sống. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, đã cho rằng môtip CpG dinucleotit tăng có trong axit nucleic có nguồn gốc từ vi khuẩn, và do đó, axit nucleic giàu CpG như vậy thể hiện là yếu tố lạ đối với các hàng rào bảo vệ miễn dịch của vật chủ. Các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch có thể chứa các nucleotit không có trong tự nhiên và dẫn xuất của nucleotit.

“Chế phẩm kích thích miễn dịch” như được sử dụng ở đây chỉ chế phẩm chứa chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch bao gồm dạng bào chế đơn tức là chế phẩm kích thích miễn dịch. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit kích thích miễn dịch có thể có liên quan về mặt vật lý với chất dẫn phân phối liposom của chế phẩm điều biến miễn dịch.

Như được sử dụng ở đây, “chèn” chỉ việc thêm (các) nucleotit cụ thể ở các vị trí cụ thể trong quá trình tổng hợp oligonucleotit.

Như được sử dụng ở đây, “định hướng song song” chỉ tương tác có hướng giữa các oligonucleotit khác nhau. Ví dụ, các oligonucleotit riêng rẽ được định hướng theo cùng chiều từ 5' đến 3' là được định hướng song song.

Như được sử dụng ở đây, “tỷ lệ phần trăm tương đồng” và các thuật ngữ tương tự được sử dụng để mô tả mối quan hệ về trình tự giữa hai hoặc nhiều axit nucleic, polynucleotit, protein, hoặc polypeptit, và được hiểu trong ngữ cảnh và kết hợp với các thuật ngữ bao gồm: (a) trình tự tham chiếu, (b) cửa sổ so sánh, (c) độ tương đồng về trình tự và (d) tỷ lệ phần trăm tương đồng về trình tự.

(a) “Trình tự tham chiếu” được xác định là trình tự được sử dụng làm cơ sở để so sánh trình tự. trình tự tham chiếu có thể là trình tự con hoặc toàn bộ trình tự đã định; ví dụ, đoạn của cADN hoặc trình tự gen có chiều dài đầy đủ, hoặc cADN hoặc trình tự gen hoàn chỉnh.

(b) “Cửa sổ so sánh” bao gồm tham chiếu đến đoạn đã định liên kề của trình tự polynucleotit, trong đó trình tự polynucleotit có thể được so sánh với trình tự tham chiếu và trong đó phần trình tự polynucleotit trong cửa sổ so sánh có thể chứa các đoạn bổ sung, thay thế, hoặc xóa bỏ (tức là đoạn trống) so với trình tự tham chiếu (mà không chứa các đoạn bổ sung, thay thế, hay xóa bỏ) để sắp thẳng hàng tối ưu hai trình tự. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này

hiểu rằng để tránh sự tương tự cao một cách không chuẩn xác với trình tự tham chiếu do việc đưa vào các khoảng trống trong trình tự polynucleotit, điểm phạt khoảng trống tường được đưa ra và được trừ từ số đoạn phù hợp.

(c) Phương pháp sắp thẳng hàng các trình tự để so sánh cũng đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Việc sắp thẳng hàng tối ưu các trình tự để so sánh có thể được tiến hành bằng thuật toán thấu xạ cục bộ của Smith và Waterman, *Adv. Appl. Math.*, 2: 482, 1981; bằng thuật toán sắp thẳng hàng thấu xạ của Needleman và Wunsch, *J. Mol. Biol.*, 48: 443, 1970; bằng cách tìm kiếm phương pháp tương tự của Pearson và Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 8: 2444, 1988; bằng cách thực hiện những thuật toán này bằng máy tính, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở: CLUSTAL trong chương trình PC/Gene của Intelligenetics, Mountain View, Calif., GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA, và TFASTA trong gói phần mềm Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), 7 Science Dr., Madison, Wis., USA; chương trình CLUSTAL cũng được mô tả rõ bởi Higgins và Sharp, *Gene*, 73: 237-244, 1988; Corpet, et al., *Nucleic Acids Research*, 16:881-90, 1988; Huang, et al., *Computer Applications in the Biosciences*, 8:1-6, 1992; và Pearson, et al., *Methods in Molecular Biology*, 24:7-331, 1994. Họ chương trình BLAST có thể được sử dụng để tra cứu cơ sở dữ liệu tương tự bao gồm: BLASTN cho các trình tự nucleotit được quan tâm so với các trình tự trong cơ sở dữ liệu nucleotit; BLASTX cho các trình tự nucleotit được quan tâm so với các trình tự trong cơ sở dữ liệu protein; TBLASTN cho các trình tự protein được quan tâm so với các trình tự trong cơ sở dữ liệu nucleotit; và TBLASTX cho các trình tự nucleotit được quan tâm so với các trình tự trong cơ sở dữ liệu nucleotit. Xem, các quy trình hiện có trong tài liệu *Molecular Biology*, Chapter 19, Ausubel, et al., Eds., Greene Publishing và Wiley-Interscience, New York, 1995. Phiên bản mới của các chương trình nêu trên hoặc các chương trình mới rõ ràng sẽ khả dụng trong tương lai, và có thể được sử dụng theo bản mô tả này.

(d) “Tỷ lệ phần trăm tương đồng” nghĩa là trị số được xác định bằng cách so sánh hai trình tự được sắp thẳng hàng tối ưu qua cửa sổ so sánh, trong đó phần trình tự polynucleotit trong cửa sổ so sánh có thể bao gồm các đoạn bổ sung, thay

thế, hoặc xóa bỏ (tức là khoảng trống) so với trình tự tham chiếu (không bao gồm các đoạn bổ sung, thay thế, hoặc xóa bỏ) để sắp thẳng hàng tối ưu hai trình tự. Tỷ lệ phần trăm được tính toán bằng cách xác định số vị trí mà ở đó có các bazơ axit nucleic ở cả hai trình tự để tạo ra số vị trí khớp nhau, chia số các vị trí khớp cho tổng số vị trí trong cửa sổ so sánh và nhân kết quả với 100 để tạo ra tỷ lệ phần trăm độ tương đồng về trình tự.

“Lượng hữu hiệu điều trị” chỉ lượng chế phẩm điều biến miễn dịch và/hoặc oligonucleotit kích thích miễn dịch hoặc lượng chế phẩm kích thích miễn dịch điều trị cho đối tượng.

“Lượng có tác dụng hiệp đồng” chỉ lượng chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch mà tạo ra tác dụng hiệp đồng, hoặc tác dụng cao hơn tác dụng cộng hợp trong việc điều trị cho đối tượng. Thuật ngữ “đối tượng” như được sử dụng ở đây được dự định để chỉ động vật bất kỳ, nhưng cụ thể là, các loài chim. “Các loài chim” bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gà, gà tây nuôi, chim nước và gia cầm làm nguồn thức ăn khác bất kỳ.

Như được sử dụng ở đây, “điều trị” và các thuật ngữ tương tự chỉ việc làm giảm độ nghiêm trọng và/hoặc tần suất của các triệu chứng nhiễm bệnh, loại trừ các triệu chứng và/hoặc nguyên nhân gây ra các triệu chứng đó, giảm tần suất hoặc khả năng mắc các triệu chứng và/hoặc nguyên nhân của chúng, và/hoặc cải thiện hoặc khắc phục các tổn thất trực tiếp hoặc gián tiếp do tác nhân gây nhiễm gây ra.

Các thuật ngữ khác liên quan đến các khía cạnh được mô tả được sử dụng trong bản mô tả và các yêu cầu bảo hộ. Các thuật ngữ như vậy được đưa ra với ý nghĩa thông thường của chúng trong lĩnh vực này trừ khi được chỉ định khác. Các thuật ngữ khác được xác định cụ thể ở đây được hiểu theo cách thống nhất với các định nghĩa được đưa ra ở đây.

Các chế phẩm kích thích miễn dịch được đề xuất ở đây chứa chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmit axit nucleic và chất dẫn phân phối liposom và oligonucleotit kích thích miễn dịch có ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Các oligonucleotit kích thích miễn dịch, như được mô tả ở đây, có thể tương tác với TLR21 để kích hoạt đáp ứng miễn dịch. Các oligonucleotit kích thích miễn dịch

chứa ít nhất một dinucleotit môtip CpG không được metyl hóa, mà tương tác với các thụ thể nhận biết mầm bệnh được biểu hiện trong sinh vật chủ. Các oligonucleotit kích thích miễn dịch cũng có trình tự giàu nucleotit guanin. Các trình tự này có thể tạo thuận lợi cho việc gấp cuộn sợi ADN thành cấu trúc bậc bốn hoặc thúc đẩy sự kết tụ một hoặc nhiều oligonucleotit kích thích miễn dịch mà có trình tự tăng cường guanin. Trình tự giàu guanin không nhất thiết chứa toàn các nucleotit guanin, mà nucleotit này cần được làm giàu. Trình tự giàu guanin, như được mô tả trên đây và minh họa trong bản mô tả, thường nằm tại hoặc gần (trong khoảng bốn nucleotit) đầu tận cùng của oligonucleotit. Thao tác bổ sung trên trình tự và cấu trúc oligonucleotit có thể tăng cường khả năng của oligonucleotit kích thích miễn dịch trong kích thích TLR21. Do đó, theo một phương án, bản mô tả bao gồm chế phẩm kích thích miễn dịch chứa ít nhất một oligonucleotit kích thích miễn dịch có ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu guanin bắt đầu tại hoặc trong khoảng bốn nucleotit đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Theo một số khía cạnh trong bản mô tả, việc thêm các đoạn nucleotit guanin vào đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa CpG có thể cải thiện đáng kể tính sinh miễn dịch của oligonucleotit kích thích miễn dịch. Không chỉ vị trí của trình tự guanin trong oligonucleotit kích thích miễn dịch ảnh hưởng đến khả năng tăng cường hoạt hóa TLR21, mà cả thành phần của trình tự cũng có ảnh hưởng. Vì lý do này, theo một số khía cạnh trong bản mô tả, các trình tự giàu guanin chứa nhóm nhiều nucleotit guanin liên tiếp.

Theo một số phương án, trình tự giàu guanin chứa nhóm nhiều nucleotit guanin liên tiếp thứ nhất. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa hai đến tám nucleotit guanin. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa hai nucleotit guanin. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa ba nucleotit guanin. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa bốn nucleotit guanin. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa năm nucleotit guanin. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa sáu nucleotit guanin. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa bảy nucleotit guanin. Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa tám nucleotit guanin. Theo các khía cạnh khác nữa, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa nhiều hơn tám nucleotit guanin.

Theo một số phương án của sáng chế, oligonucleotit chứa SEQ ID NO: 16, 17, 18, 19, 20, 21, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 92, 93, 96, 97, 100, 102, 104, 106, 108, hoặc 143. Theo các phương án khác, trình tự giàu guanin chứa TTAGGG, TTAGGGTTAGGG (SEQ ID NO: 261), TTTTGGGG, GGGGTTTT, GGGGTTTTGGGG (SEQ ID NO: 262), TTAGGG, TTAGGGTTAGGGTTTT (SEQ ID NO: 263), TGTGGGTGTGTGTGGG (SEQ ID NO: 269), GGAGG, TGGAGGC, hoặc TGGAGGCTGGAGGC (SEQ ID NO: 264). Theo các phương án khác nữa, oligonucleotit chứa SEQ ID NO: 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 124, 125, 126, 127, 129, 130, 131, 134, 136, 137, hoặc 138.

Một đoạn nucleotit guanin đơn không phải là biến đổi duy nhất ở đầu 5' mà có thể tăng cường kích thích TLR21. Ví dụ, các trình tự giàu adenin, xytosin, và thymine cũng có thể được thêm vào đầu 5' của oligonucleotit có môtip CpG và dẫn đến sự kích thích TLR21 được tăng cường, mặc dù ít hơn so với mức độ tăng cường do các trình tự giàu guanin ở đầu 5' của oligonucleotit đem lại. Trong khi một nhóm nhiều gốc guanin duy nhất ở đầu 5' của oligonucleotit có thể tạo ra sự kích thích TLR21, các nhóm nhiều nucleotit guanin bổ sung trong trình tự giàu guanin có thể còn tăng cường thêm các đặc tính kích thích của oligonucleotit. Do đó, theo một số khía cạnh, oligonucleotit trong bản mô tả chứa nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai nằm giữa nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và ít nhất một môtip CpG.

Theo một số khía cạnh, nhóm nhiều nucleotit guanin chứa trình tự G-quartet. Theo một số phương án, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai, hoặc cả hai nhóm chứa trình tự G-quartet. Các trình tự G-quartet, như xác định trên đây, cũng cho phép tương tác giữa các oligonucleotit. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, tương tác ở đầu 5' của các oligonucleotit cho phép sự tập trung các môtip dinucleotit CpG và tăng cường cơ hội tương ứng để nhận biết bởi TLR21. Theo một số phương án, chế phẩm kích thích miễn dịch còn chứa ít nhất một oligonucleotit bổ sung có trình tự G-quartet, trong đó oligonucleotit và ít nhất một oligonucleotit bổ sung có hướng song song trong cấu trúc bậc bốn. Theo một số khía cạnh, trình tự G-quartet chứa TGGGGT.

Một trình tự giàu guanin khác mà có thể được bổ sung tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit có các môtip CpG là trình tự G-wire. Theo một số khía cạnh trong bản mô tả, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và thứ hai chứa trình tự G-wire. Theo một số khía cạnh, trình tự G-wire chứa SEQ ID NO: 257 hoặc 258. Theo các khía cạnh khác nữa, trình tự G-wire chứa SEQ ID NO: 141, 142, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, hoặc GCGT-Gwire3. Hai nhóm nhiều nucleotit guanin có thể được phân tách bằng các nucleotit không phải là guanin, các dạng tương tự nucleotit, hoặc đoạn đệm hoặc đoạn liên kết bất kỳ khác. Ví dụ, theo một số khía cạnh trong bản mô tả, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai được phân tách bằng ít nhất một nucleotit. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đoạn đệm” chỉ liên kết hóa học giữa các môtip nucleotit tương tự, tức là, giữa hai môtip CpG hoặc giữa hai môtip trình tự giàu nucleotit guanin, trong khi đó thuật ngữ “đoạn liên kết” chỉ liên kết hóa học giữa các môtip nucleotit khác nhau, tức là, giữa trình tự giàu nucleotit guanin và môtip nucleotit khác, ví dụ môtip CpG. Các thuật ngữ “đoạn đệm” và “đoạn liên kết” được sử dụng để làm rõ trong việc mô tả khía cạnh về oligonucleotit nào đang được thảo luận. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần hiểu rằng các cấu trúc được bộc lộ ở đây cho đoạn đệm có thể thay đổi lẫn nhau với các cấu trúc được bộc lộ ở đây cho đoạn liên kết, và ngược lại.

Không bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể, trình tự G-wire kích hoạt oligonucleotit có thể được hiểu là tương tác và kết tụ với các oligonucleotit khác có các trình tự G-wire. Kết cấu hình thành bởi sự kết tụ các oligonucleotit có các trình tự G-wire được gọi là kết cấu G-wire, và sự tích tụ các oligonucleotit này và môtip CpG có thể dẫn đến sự kích thích TLR21 được tăng cường.

Các trình tự giàu guanin có thể được tách khỏi các môtip nucleotit CpG bằng các nucleotit, dạng tương tự nucleotit, hoặc các đoạn liên kết khác. Do đó, theo một số phương án trong bản mô tả, oligonucleotit còn chứa đoạn liên kết giữa trình tự giàu guanin và ít nhất một môtip CpG ở đoạn sau. Như được sử dụng ở đây, “đoạn sau” nghĩa là theo chiều 5' → 3'; tức là, nucleotit hoặc môtip ở “đoạn sau” là nucleotit hoặc môtip ở đầu 3' của phần trình tự so sánh. “Đoạn trước” nghĩa là theo chiều từ 3' → 5'; tức là, nucleotit hoặc môtip ở “đoạn trước” là nucleotit hoặc môtip ở đầu 5' của phần trình tự so sánh. Đoạn liên kết không nhất thiết liên kết trực tiếp với trình tự giàu guanin hoặc

môtip CpG; mà đoạn liên kết cần phải nằm giữa hai môtip trình tự bất kể việc xen kẽ các trình tự giữa trình tự giàu guanin và đoạn liên kết, cũng như giữa môtip CpG và đoạn liên kết. Theo một số phương án trong bản mô tả, đoạn liên kết chứa ít nhất ba nucleotit. Đoạn liên kết cũng có thể không chứa các bazơ nitơ. Ví dụ, theo một số khía cạnh, đoạn liên kết là hexaetylglycol, propandiol, trietylglycol, hoặc các dẫn xuất của chúng. Trong các ví dụ khác, oligonucleotit có đoạn liên kết chứa 2006-PDE5dG4-X1 hoặc 2006-PDE5dG4-X3.

Các môtip dinucleotit CpG có mặt trong các oligonucleotit trong bản mô tả được cho là các PAMP được nhận biết bởi TLR21 ở gà. Trong khi ngay cả môtip CpG đơn cũng có thể kích thích TLR21, nhiều CpG có trong oligonucleotit có thể làm tăng cường độ tính hiệu TLR21 được kích thích. Ví lý do này, theo một số khía cạnh của sáng chế, ít nhất một môtip CpG bao gồm hai, ba, bốn, hoặc năm môtip CpG. Theo một số khía cạnh, ít nhất một môtip CpG bao gồm sáu môtip CpG hoặc nhiều hơn. Theo một số khía cạnh, ít nhất một môtip CpG bao gồm hai môtip CpG. Theo một số khía cạnh, ít nhất một môtip CpG bao gồm ba môtip CpG. Theo một số khía cạnh, ít nhất một môtip CpG bao gồm bốn môtip CpG. Theo một số phương án, ít nhất một môtip CpG bao gồm bốn môtip CpG.

Theo một số phương án về các oligonucleotit được mô tả, mỗi môtip CpG có thể được tách khỏi các môtip CpG khác bằng ít nhất một nucleotit hoặc dạng tương tự nucleotit. Theo một số phương án, ít nhất một nucleotit là hai hoặc ba nucleotit thymin. Theo các khía cạnh khác, ít nhất một nucleotit nằm trong khoảng từ một đến bốn nucleotit, mặc dù số nucleotit xen kẽ có thể khác nhau tùy thuộc vào trình tự của các nucleotit xen kẽ. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa SEQ ID NO: 217, 218, 219, hoặc 220. Các nucleotit liền kề với CpG cùng với bản thân môtip CpG tạo thành phần từ trình tự CpG (ví dụ, XCGX, trong đó X = nucleotit bất kỳ). Các oligonucleotit trong bản mô tả, theo một số khía cạnh, chứa các đơn vị trình tự CpG là GCGA, GCGG, ACGC, CCGC, GCGT, TCGC, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.

Theo một số phương án trong bản mô tả, môtip CpG chứa đơn vị trình tự CpG có bốn nucleotit. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa ít nhất hai đơn vị trình tự CpG. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa ít nhất ba đơn vị trình tự CpG. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa ít nhất bốn đơn vị trình tự CpG. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa ít nhất năm đơn vị trình tự CpG. Theo một số khía cạnh,

ligonucleotit chứa ít nhất sáu đơn vị trình tự CpG. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa nhiều hơn tám, mười, mười lăm, hoặc thậm chí hai mươi đơn vị trình tự CpG.

Theo các phương án khác về các oligonucleotit được mô tả, mỗi môtip CpG được phân tách khỏi từng môtip CpG khác bằng đoạn đệm hoặc tổ hợp của đoạn đệm và ít nhất một nucleotit. Theo một số khía cạnh, ít nhất một môtip CpG được phân tách khỏi môtip CpG khác gần nhất bằng đoạn đệm hoặc tổ hợp của đoạn đệm và ít nhất một nucleotit, trong khi ít nhất hai môtip CpG khác là liền kề với nhau. Mặc dù các môtip CpG được tách riêng có thể tăng cường khả năng kích thích miễn dịch của các oligonucleotit mong muốn, các môtip CpG liền kề với nhau đã được công nhận là vẫn có thể kích thích TLR21.

Đoạn đệm được sử dụng để tách theo đường thẳng các môtip CpG có thể là liên kết bắc cầu qua ít nhất một phần của oligonucleotit nằm giữa các môtip CpG. Đoạn đệm có thể bao gồm, nhưng không nhất thiết giới hạn ở, cầu deoxyriboza phosphat, mạch nhiều cacbon, hoặc đơn vị hóa học lặp lại. Một đặc điểm chính của đoạn đệm là khả năng tạo liên kết hóa học với khung nucleotit của oligonucleotit. Do đó, theo một số phương án, đoạn đệm là cầu deoxyriboza phosphat. Theo một số phương án, cầu deoxyriboza phosphat có thể chứa các bazơ nitơ, trong khi theo các khía cạnh khác, cầu deoxyriboza phosphat là abasic (không có purin/pyrimidin). Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa SEQ ID NO: 221, chứa cầu deoxyriboza phosphat abasic.

Theo các phương án khác trong bản mô tả, đoạn đệm chứa mạch cacbon. Mạch cacbon có thể chứa hai đến mười hai nguyên tử cacbon. Các diol chứa mạch cacbon có thể được dùng làm nhóm rượu tận cùng, có thể phản ứng với các nhóm rượu và/hoặc phosphat tận cùng của oligonucleotit. Theo một số phương án, mạch cacbon chứa hai nguyên tử cacbon, và theo một số khía cạnh, mạch cacbon thu được từ etandiol. Theo một số phương án, oligonucleotit chứa ODN-X2, trong đó X2 là etandiol.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất mạch cacbon chứa ba nguyên tử cacbon. Theo một số khía cạnh của các phương án này, mạch cacbon thu được từ 1,3-propandiol. Theo một số phương án, oligonucleotit chứa CG-Gw2X2, CG-Gw2X2-2, hoặc ODN-X3, CG-Gw2X2-1, CG-Gw2X2-3, CG-Gw2X2-4, CG-Gw2X2-5, CG-G4T16X2-1, CG-G4T16X2-2, CG-G4T16X2-3, CG-G4T16X2-4, hoặc CG-G4T16X2-5, trong đó X2 là mạch ba cacbon; 2006-PDE5dG4-X2 trong đó X2 mạch ba cacbon thu

được từ propandiol; hoặc SEQ ID NO: 250, trong đó X4 mạch ba cacbon thu được từ propandiol.

Theo các phương án khác nữa trong bản mô tả, oligonucleotit chứa đoạn đệm mạch cacbon, trong đó mạch cacbon chứa bốn nguyên tử cacbon. Theo một số khía cạnh của các phương án này, mạch cacbon thu được từ 1,4-butandiol. Theo một số phương án, oligonucleotit chứa ODN-X4, trong đó X4 là mạch bốn cacbon thu được từ 1,4-butandiol.

Theo các phương án khác nữa trong bản mô tả, oligonucleotit chứa đoạn đệm có đơn vị hóa học lặp lại. Ví dụ, theo một số phương án, đơn vị hóa học lặp lại là etylen glycol. Đơn vị hóa học lặp lại có thể lặp lại hai đến mười hai lần. Theo một số phương án, etylen glycol được lặp lại sáu lần. Do đó, theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa CCGC-Gw2X1, trong đó X1 là đoạn đệm thu được từ hexaetylen glycol.

Mặc dù các đoạn guanin nucleotit ở đầu tận cùng 3' của oligonucleotit nếu có thì cũng chỉ tạo ra mức kích thích TLR21 thấp, các đoạn nucleotit khác có thể tăng cường tính sinh miễn dịch cho oligonucleotit. Đặc biệt, theo một số khía cạnh trong bản mô tả, oligonucleotit có thể chứa thêm nucleotit tri-thymin ở đầu tận cùng 3'. Theo một số khía cạnh, oligonucleotit chứa SEQ ID NO: 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, hoặc 215.

Đối với mỗi oligonucleotit được mô tả ở đây, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ thấy được rằng nucleotit có thể được thay thế bằng dạng tương tự nucleotit. Các oligonucleotit theo một số phương án chứa khung phosphodiester, mặc dù theo các phương án khác, các oligonucleotit được mô tả ở đây có thể chứa khung phosphorothioat. Trong một số trường hợp, các khung phosphorothioat có thể dễ sản xuất hơn và hiệu quả về chi phí sản xuất hơn.

Theo một số phương án trong bản mô tả, oligonucleotit có thể chứa gốc lipit, mà có thể làm tăng tính sinh miễn dịch của oligonucleotit. Một lời giải có thể có đối với tính sinh miễn dịch gia tăng là ở chỗ gốc lipit có thể có chức năng tăng cường độ sinh khả dụng của oligonucleotit. Theo một số phương án, gốc lipit nằm tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit. “Nắp” lipit này có thể ngăn sự thoái biến, tăng cường độ hòa tan, cải thiện độ ổn định của oligonucleotit trong dược phẩm, hoặc tổ hợp bất kỳ của các tác dụng này. Theo một số khía cạnh, gốc lipit là cholesteryl.

Liệu lực của oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm kích thích miễn dịch có thể được đặc trưng bởi nồng độ có hiệu quả bán tối đa của chúng (EC_{50}), là số đo nồng độ cần thiết để gây ra đáp ứng bằng một nửa đáp ứng tối đa có thể thu được bằng cách sử dụng chế phẩm. Nồng độ này càng thấp, hiệu lực của oligonucleotit càng cao. Theo một số khía cạnh trong bản mô tả, chế phẩm kích thích miễn dịch có thể có EC_{50} trong khoảng pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 đến 100 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 100 đến 200 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 200 đến 300 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 300 đến 400 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 400 đến 500 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 500 đến 600 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 600 đến 700 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 700 đến 800 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 800 đến 900 pM. Theo một số khía cạnh, EC_{50} nằm trong khoảng từ khoảng 900 đến 1 nM. Theo các khía cạnh khác nữa, EC_{50} là nhỏ hơn khoảng 100 pM.

Liên quan đến nồng độ oligonucleotit trong chế phẩm kích thích miễn dịch, theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 đến 10 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến 20 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 20 đến 30 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 30 đến 40 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 40 đến 50 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 50 đến 60 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 60 đến 70 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 70 đến 80 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 80 đến 90 nM. Theo một số khía cạnh, nồng độ oligonucleotit nằm trong khoảng từ khoảng 90 đến 100 nM. Theo các khía cạnh khác nữa, nồng độ oligonucleotit là nhỏ hơn khoảng 20 nM.

Chế phẩm kích thích miễn dịch có thể còn chứa ít nhất một oligonucleotit bổ sung có trình tự G-wire theo một số phương án trong bản mô tả. Do trình tự G-wire tạo thuận lợi cho sự kết tụ các oligonucleotit khác có cùng trình tự G-wire hoặc có trình tự G-wire tương tự, theo một khía cạnh, chế phẩm kích thích miễn dịch thêm chứa ít nhất một

oligonucleotit bổ sung có trình tự G-wire. Theo một số khía cạnh, trong đó chế phẩm kích thích miễn dịch chứa nhiều oligonucleotit có các trình tự G-wire, oligonucleotit và ít nhất một oligonucleotit bổ sung có kết cấu G-wire.

Khả năng kích thích TLR21 của oligonucleotit có thể được tăng cường thêm, theo một số khía cạnh của sáng chế, bằng cách chèn các môtip CpG bổ sung. Theo một số khía cạnh, ít nhất một môtip CpG là nhiều môtip CpG, và nhiều môtip CpG bao gồm hai, ba, bốn, hoặc năm môtip CpG. Khoảng cách giữa các môtip CpG có thể ảnh hưởng đến các đặc tính kích thích TLR21 của oligonucleotit. Ví lý do này, một số khía cạnh về oligonucleotit được mô tả đề xuất việc chèn ít nhất một nucleotit hoặc dạng tương tự nucleotit giữa các môtip CpG. Ít nhất một nucleotit có thể là hai hoặc ba nucleotit thymine.

Các phương án đề xuất việc đưa vào một đoạn đệm giữa mỗi môtip CpG. Đoạn đệm cần có khả năng liên kết với đầu 3' của sợi nucleotit liên kế và với đầu 5' của sợi nucleotit khác. Theo một số khía cạnh, đoạn đệm là cầu deoxyriboza phosphat, mà có thể abasic theo một số khía cạnh.

Đoạn đệm, theo một số khía cạnh, có thể chứa mạch cacbon. Theo một số phương án, mạch cacbon chứa hai nguyên tử cacbon. Theo một số khía cạnh, mạch cacbon thu được từ etandiol. Các phương án khác đề xuất mạch cacbon chứa ba nguyên tử cacbon. Theo một số khía cạnh, mạch cacbon thu được từ 1,3-propandiol. Theo một số phương án, mạch cacbon chứa bốn nguyên tử cacbon, và theo một số khía cạnh mạch cacbon thu được từ 1,4-butandiol. Theo các phương án khác nữa, đoạn đệm chứa đơn vị hóa học lặp lại. Theo một số khía cạnh, đơn vị hóa học lặp lại là etylen glycol, và theo một số khía cạnh, đoạn đệm thu được từ hexaethylenglycol.

Các oligonucleotit đại diện trong bản mô tả được xác định trong bảng 1.

Bảng 1: Các trình tự oligonucleotit (viết thường: liên kết PTO, viết hoa liên kết PDE)

5Chol-GCGT3-TG4T	SEQ ID NO: 1	XTGGGGTTTTTTTTGCGTTTTTGCGTTTTTGCGTTT TT X = 5'-Cholesteryl
2006-PTO	SEQ ID NO: 3	tcgtcgttttgtcgttttgtcgtt
2006-PDE	SEQ ID NO: 4	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE3dG1	SEQ ID NO: 5	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTG

2006-PDE3dG2	SEQ ID NO: 6	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTGG
2006-PDE3dG3	SEQ ID NO: 7	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTGGG
2006-PDE3dG4	SEQ ID NO: 8	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTGGGG
2006-PDE3dG5	SEQ ID NO: 9	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTGGGGG
2006-PDE3dG6	SEQ ID NO: 10	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTGGGGGG
2006-PDE3dG7	SEQ ID NO: 11	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTGGGGGGG
2006-PDE3dG8	SEQ ID NO: 12	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTGGGGGGGG
2006-PTO	SEQ ID NO: 3	tcgtcgtttttgtcgtttttgtcgtt
2006-PDEV3	SEQ ID NO: 13	TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG1	SEQ ID NO: 14	GTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG2	SEQ ID NO: 15	GGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG3	SEQ ID NO: 16	GGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4	SEQ ID NO: 17	GGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG5	SEQ ID NO: 18	GGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6	SEQ ID NO: 19	GGGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG7	SEQ ID NO: 20	GGGGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG8	SEQ ID NO: 21	GGGGGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dA6	SEQ ID NO: 22	AAAAAATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dC6	SEQ ID NO: 23	CCCCCCTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dT6	SEQ ID NO: 24	TTTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-Me	SEQ ID NO: 25	GGGGGGT <u>m5c</u> G <u>Tm5c</u> GTTTTGT <u>m5c</u> GTTTTGT <u>m5c</u> GTT <u>m5c</u> = 5-methyl-xytidin
2006-PDE5dC6-GC	SEQ ID NO: 26	CCCCCCTGCTGCTTTTTGTGCTTTTTGTGCTT

2006-PDE5dT6-CA	SEQ ID NO: 27	TTTTTTTCATCATTTTGTCAATTTGTCAAT
2006-PTO3dG5	SEQ ID NO: 28	tggggggtcgtcgttttgtcgttttgtcgtt
2006-PTO5dG6	SEQ ID NO: 29	tcgtcgttttgtcgttttgtcgttggggg
2006-PDE5dG6-A1	SEQ ID NO: 30	AGGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A2	SEQ ID NO: 31	GAGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A3	SEQ ID NO: 32	GGAGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A4	SEQ ID NO: 33	GGGAGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A5	SEQ ID NO: 34	GGGGAGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A6	SEQ ID NO: 35	GGGGGATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A12	SEQ ID NO: 36	AAGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A23	SEQ ID NO: 37	GAAGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A34	SEQ ID NO: 38	GGAAGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A45	SEQ ID NO: 39	GGGAAGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-A56	SEQ ID NO: 40	GGGGAATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C1	SEQ ID NO: 41	CGGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C2	SEQ ID NO: 42	GCGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C3	SEQ ID NO: 43	GGCGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C4	SEQ ID NO: 44	GGGCGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C5	SEQ ID NO: 45	GGGGCGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C6	SEQ ID NO: 46	GGGGGCTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C12	SEQ ID NO: 47	CCGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT

2006-PDE5dG6-C23	SEQ ID NO: 48	GCCGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C34	SEQ ID NO: 49	GGCCGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C45	SEQ ID NO: 50	GGGCCGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-C56	SEQ ID NO: 51	GGGGCCTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T1	SEQ ID NO: 52	TGGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T2	SEQ ID NO: 53	GTGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T3	SEQ ID NO: 54	GGTGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T4	SEQ ID NO: 55	GGGTGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T5	SEQ ID NO: 56	GGGGTGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T6	SEQ ID NO: 57	GGGGGTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T12	SEQ ID NO: 58	TTGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T23	SEQ ID NO: 59	GTTGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T34	SEQ ID NO: 60	GGTTGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T45	SEQ ID NO: 61	GGGTTGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG6-T56	SEQ ID NO: 62	GGGGTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-A1	SEQ ID NO: 63	AGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-A2	SEQ ID NO: 64	GAGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-A3	SEQ ID NO: 65	GGAGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-A4	SEQ ID NO: 66	GGGATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-C1	SEQ ID NO: 67	CGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-C2	SEQ ID NO: 68	GCGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT

2006-PDE5dG4-C3	SEQ ID NO: 69	GGCGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-C4	SEQ ID NO: 70	GGGCTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-T1	SEQ ID NO: 71	TGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-T2	SEQ ID NO: 72	GTGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-T3	SEQ ID NO: 73	GGTGTCTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE5dG4-T4	SEQ ID NO: 74	GGGTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
1668	SEQ ID NO: 75	TCCATGACGTTCCCTGATGCT
1668-3dG5	SEQ ID NO: 76	TCCATGACGTTCCCTGATGCTGGGGG
1668-5dG4	SEQ ID NO: 77	GGGGTCCATGACGTTCCCTGATGCT
1668-5dG6	SEQ ID NO: 78	GGGGGGTCCATGACGTTCCCTGATGCT
1826	SEQ ID NO: 79	TCCATGACGTTCCCTGACGTT
1826-3dG5	SEQ ID NO: 80	TCCATGACGTTCCCTGACGTTGGGGG
1826-5dG4	SEQ ID NO: 81	GGGGTCCATGACGTTCCCTGACGTT
1826-5dG6	SEQ ID NO: 82	GGGGGGTCCATGACGTTCCCTGACGTT
BW006	SEQ ID NO: 83	TCGACGTTCTCGTTCTCGTCGTTCTC
BW006-3dG5	SEQ ID NO: 84	TCGACGTTCTCGTTCTCGTCGTTCTGGGGG
BW006-5dG4	SEQ ID NO: 85	GGGGTCGACGTTCTCGTTCTCGTCGTTCTC
BW006-5dG6	SEQ ID NO: 86	GGGGGGTCGACGTTCTCGTTCTCGTCGTTCTC
D-SLO1	SEQ ID NO: 87	TCGCGACGTTCCCGGACGTTCCGGTA
D-SLO1-3dG5	SEQ ID NO: 88	TCGCGACGTTCCCGGACGTTCCGGTAGGGGG
D-SLO1-5dG4	SEQ ID NO: 89	GGGGTCGCGACGTTCCCGGACGTTCCGGTA

D-SLO1-5dG6	SEQ ID NO: 90	GGGGGGTCGCGACGTTGCCCCGACGTTGCGTA
2395	SEQ ID NO: 91	TCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCG
2395-5dG4	SEQ ID NO: 92	GGGGTCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCG
2395-5dG6	SEQ ID NO: 93	GGGGGGTCGTCGTTTTTCGGCGCGCGCCG
M362	SEQ ID NO: 94	TCGTCGTCGTTTGAACGACGTTGAT
M362-3dG5	SEQ ID NO: 95	TCGTCGTCGTTTGAACGACGTTGATGGGGG
M362-5dG4	SEQ ID NO: 96	GGGGTCGTCGTCGTTTGAACGACGTTGAT
M362-5dG6	SEQ ID NO: 97	GGGGGGTCGTCGTCGTTTGAACGACGTTGAT
2007-PDE	SEQ ID NO: 98	TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT
2007-PDE3dG5	SEQ ID NO: 99	TCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTTGGGGG
2007-PDE5dG6	SEQ ID NO: 100	GGGGGGTCGTCGTTGTCGTTTTGTCGTT
CPG-202	SEQ ID NO: 101	GATCTCGCTCGCTCGCTAT
CPG-202-5dG6	SEQ ID NO: 102	GGGGGGGATCTCGCTCGCTCGCTAT
CPG-685	SEQ ID NO: 103	TCGTCGACGTCGTTTCGTTCTC
CPG-685-5dG6	SEQ ID NO: 104	GGGGGGTCGTCGACGTCGTTTCGTTCTC
CPG-2000	SEQ ID NO: 105	TCCATGACGTTCTGACGTTCTGACGTT
CPG-2000-5dG6	SEQ ID NO: 106	GGGGGGTCCATGACGTTCTGACGTTCTGACGTT
CPG-2002	SEQ ID NO: 107	TCCACGACGTTTTTCGACGTT
CPG-2002-5dG6	SEQ ID NO: 108	GGGGGGTCCACGACGTTTTTCGACGTT
2006-T4-PDE	SEQ ID NO: 109	TTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-HuTel-1	SEQ ID NO: 110	TTAGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-HuTel-2	SEQ ID NO: 111	TTAGGGTTAGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT

2006-PDE-Oxy1	SEQ ID NO: 112	TTTTGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE-Oxy2	SEQ ID NO: 113	GGGGTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-PDE-Oxy3	SEQ ID NO: 114	GGGGTTTTGGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-T4-HuTel-1	SEQ ID NO: 115	TTAGGGTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-T4-HuTel-2	SEQ ID NO: 116	TTAGGGTTAGGGTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-T4-ScerTel	SEQ ID NO: 117	TGTGGGTGTGTGTGGGTTTTTCGTCGTTTTGTCGTT
2006-T4-cMyc	SEQ ID NO: 118	GGAGGTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-T4-cMyc2	SEQ ID NO: 119	TGGAGGCTTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-T4-cMyc3	SEQ ID NO: 120	TGGAGGCTGGAGGCTTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
EA2-2006	SEQ ID NO: 121	GCTGCGAGGCGGGTGGGTGGGATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
EA2D-2006	SEQ ID NO: 122	GCTGCGGGCGGGTGGGTGGGATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
EA2a-2006	SEQ ID NO: 123	CGAGGCGGGTGGGTGGGATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
EA2aD-2006	SEQ ID NO: 124	CGGGCGGGTGGGTGGGATCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
HCV-2006	SEQ ID NO: 125	GGGCGTGGTGGGTGGGGTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
HIV-93del-2006	SEQ ID NO: 126	GGGGTGGGAGGAGGGTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
Hema-2006	SEQ ID NO: 127	GGGGTCGGGCGGGCCGGGTGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
Insu-2006	SEQ ID NO: 128	GGTGGTGGGGGGGGTGGTAGGGTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
IonK-2006	SEQ ID NO: 129	GGGTAGGGTTAGGGTAGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
Scle-2006	SEQ ID NO: 130	TGGGGGGGTGGGTGGGTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
STAT-2006	SEQ ID NO: 131	GGGCGGGCGGGCGGGCTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
TBA-2006	SEQ ID NO: 132	GGTGGTGTGGTTGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
TNF-2006	SEQ ID NO: 133	GGTGGATGGCGCAGTCGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT

apVEGF-D-2006	SEQ ID NO: 134	TGGGGGTGGACGGGCCGGGTTCGTCGTTTTGTCGT TTTGTTCGTT
apVEGF-2006	SEQ ID NO: 135	TGTGGGGGTGGACGGGCCGGGTTCGTCGTTTTGTC GTTTTGTTCGTT
HTR-2006	SEQ ID NO: 136	GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTCGTCGTTTTGTCG TTTTGTTCGTT
bcl-2-2006	SEQ ID NO: 137	GGGCGCGGGAGGAAGGGGGCGGGTCGTCGTTTTGT CGTTTTGTTCGTT
c-myc-2006	SEQ ID NO: 138	AGGGTGGGGAGGGTGGGGATCGTCGTTTTGTTCGTT TTGTTCGTT
c-kit87-2006	SEQ ID NO: 139	AGGGAGGGCGCTGGGAGGAGGGTCGTCGTTTTGTC GTTTTGTTCGTT
vegf-2006	SEQ ID NO: 140	GGGGCGGGCCGGGGGCGGGTCGTCGTTTTGTTCGTT TTTGTTCGTT
2006-PDE- Gwire1	SEQ ID NO: 141	GGGGTTGGGGTCGTCGTTTTGTTCGTTTTGTTCGTT
2006-PDE- Gwire2	SEQ ID NO: 142	GGGGTTGGGGTTTTTCGTCGTTTTGTTCGTTTTGT GTT
2006PDE5dG4- T1-6	SEQ ID NO: 143	TGGGGTTTCGTCGTTTTGTTCGTTTTGTTCGTT
1-ACGA	SEQ ID NO: 144	TTTTTTTACGATTT
2-GCGA	SEQ ID NO: 145	TTTTTTTGCGATTT
3-CCGA	SEQ ID NO: 146	TTTTTTTCCGATTT
4-TCGA	SEQ ID NO: 147	TTTTTTTTTCGATTT
5-ACGG	SEQ ID NO: 148	TTTTTTTACGGTTT
6-GCGG	SEQ ID NO: 149	TTTTTTTGCGGTTT
7-CCGG	SEQ ID NO: 150	TTTTTTTCCGGTTT
8-TCGG	SEQ ID NO: 151	TTTTTTTTTCGGTTT
9-ACGC	SEQ ID NO: 152	TTTTTTTACGCTTT
10-GCGC	SEQ ID NO: 153	TTTTTTTGCGCTTT
11-CCGC	SEQ ID NO: 154	TTTTTTTCCGCTTT
12-TCGC	SEQ ID NO: 155	TTTTTTTTTCGCTTT
13-ACGT	SEQ ID NO: 156	TTTTTTTACGTTTT
14-GCGT	SEQ ID NO: 157	TTTTTTTGCGTTTT
15-CCGT	SEQ ID NO: 158	TTTTTTTCCGTTTT
16-TCGT	SEQ ID NO: 159	TTTTTTTTTCGTTTT
17-ACGA-5dG6	SEQ ID NO: 160	GGGGGGTTTTTTTTACGATTT
18-GCGA-5dG6	SEQ ID NO: 161	GGGGGGTTTTTTTTGCGATTT
19-CCGA-5dG6	SEQ ID NO: 162	GGGGGGTTTTTTTTCCGATTT
20-TCGA-5dG6	SEQ ID NO: 163	GGGGGGTTTTTTTTTCGATTT

21-ACGG-5dG6	SEQ ID NO: 164	GGGGGGTTTTTTTACGGTTT
22-GCGG-5dG6	SEQ ID NO: 165	GGGGGGTTTTTTTGCGGTTT
23-CCGG-5dG6	SEQ ID NO: 166	GGGGGGTTTTTTTCCGGTTT
24-TCGG-5dG6	SEQ ID NO: 167	GGGGGGTTTTTTTTCGGTTT
25-ACGC-5dG6	SEQ ID NO: 168	GGGGGGTTTTTTTACGCTTT
26-GCGC-5dG6	SEQ ID NO: 169	GGGGGGTTTTTTTGCGCTTT
27-CCGC-5dG6	SEQ ID NO: 170	GGGGGGTTTTTTTCCGCTTT
28-TCGC-5dG6	SEQ ID NO: 171	GGGGGGTTTTTTTTCGCTTT
29-ACGT-5dG6	SEQ ID NO: 172	GGGGGGTTTTTTTACGTTTT
30-GCGT-5dG6	SEQ ID NO: 173	GGGGGGTTTTTTTGCGTTTT
31-CCGT-5dG6	SEQ ID NO: 174	GGGGGGTTTTTTTCCGTTTT
32-TCGT-5dG6	SEQ ID NO: 175	GGGGGGTTTTTTTTCGTTTT
33-ACGA- Gwire2	SEQ ID NO: 176	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTACGATTT
34-GCGA- Gwire2	SEQ ID NO: 177	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGATTT
35-CCGA- Gwire2	SEQ ID NO: 178	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCCGATTT
36-TCGA- Gwire2	SEQ ID NO: 179	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTTCGATTT
37-ACGG- Gwire2	SEQ ID NO: 180	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTACGTTT
38-GCGG- Gwire2	SEQ ID NO: 181	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTT
39-CCGG- Gwire2	SEQ ID NO: 182	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCCGTTT
40-TCGG- Gwire2	SEQ ID NO: 183	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTTCGTTT
41-ACGC- Gwire2	SEQ ID NO: 184	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTACGCTTT
42-GCGC- Gwire2	SEQ ID NO: 185	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGCTTT
43-CCGC- Gwire2	SEQ ID NO: 186	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCCGCTTT
44-TCGC- Gwire2	SEQ ID NO: 187	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTTCGCTTT
45-ACGT- Gwire2	SEQ ID NO: 188	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTACGTTTT
46-GCGT- Gwire2	SEQ ID NO: 189	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTT

47-CCGT-Gwire2	SEQ ID NO: 190	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCCGTTTT
48-TCGT-Gwire2	SEQ ID NO: 191	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCGTTTT
GCGT-Gwire2-GC	SEQ ID NO: 192	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGGCTTTT
GCGT-Gwire2-TG	SEQ ID NO: 193	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGTGTTTT
GCGT-Gwire2-CA	SEQ ID NO: 194	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCATTTT
GCGT-Gwire2-T1	SEQ ID NO: 195	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-T2	SEQ ID NO: 196	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-T3	SEQ ID NO: 197	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-T4	SEQ ID NO: 198	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-T5	SEQ ID NO: 199	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-T6	SEQ ID NO: 200	GGGGTTGGGGTTTTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-eT1	SEQ ID NO: 201	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTT
GCGT-Gwire2-eT2	SEQ ID NO: 202	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTT
GCGT-Gwire2-eT3	SEQ ID NO: 203	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGT
GCGT-Gwire3	SEQ ID NO: 224	GGGGTTGGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-do	SEQ ID NO: 204	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTTGCGTTTT
GCGT-Gwire2-tri	SEQ ID NO: 205	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGTTTTGCGTTTT TGCCTTTT
GCGA-Gwire2	SEQ ID NO: 177	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGATTT
GCGA-Gwire2-do	SEQ ID NO: 206	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGATTTGCGATTT
GCGA-Gwire2-tri	SEQ ID NO: 207	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGATTTGCGATTT GCGATTT
ACGC-Gwire2	SEQ ID NO: 184	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTACGCTTT

ACGC-Gwire2-do	SEQ ID NO: 208	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTACGCTTTACGCTTT
ACGC-Gwire2-tri	SEQ ID NO: 209	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTACGCTTTACGCTTT ACGCTTT
TCGC-Gwire2	SEQ ID NO: 187	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCGCTTT
TCGC-Gwire2-do	SEQ ID NO: 210	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCGCTTTTCGCTTT
TCGC-Gwire2-tri	SEQ ID NO: 211	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCGCTTTTCGCTTT TCGCTTT
CCGC-Gwire2	SEQ ID NO: 186	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCCGCTTT
CCGC-Gwire2-do	SEQ ID NO: 212	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCCGCTTTCCGCTTT
CCGC-Gwire2-tri	SEQ ID NO: 213	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTCCGCTTTCCGCTTT CCGCTTT
GCGG-Gwire2-mo	SEQ ID NO: 181	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGGTTT
GCGG-Gwire2-do	SEQ ID NO: 214	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGGTTTGCGGTTT
GCGG-Gwire2-tri	SEQ ID NO: 215	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTTTGCGGTTTGCGGTTT GCGGTTT
CG-Gw2-T0	SEQ ID NO: 216	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGCGCGTTT
CG-Gw2-T1	SEQ ID NO: 217	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGTTCGTTCGTTT
CG-Gw2-T2	SEQ ID NO: 218	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGTTCGTTCGTTT
CG-Gw2-T3	SEQ ID NO: 219	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGTTCGTTCGTTT
CG-Gw2-T4	SEQ ID NO: 220	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGTTCGTTCGTTT
CG-Gw2-abase	SEQ ID NO: 221	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGXCGXCGTTT X = vj trí abasic
CG-Gw2X1	SEQ ID NO: 222**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX1CGX1CGTTT X1=C18
CG-Gw2X2	SEQ ID NO: 223**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGTTT X2=C3
CG-Gw2X2-1	SEQ ID NO: 225**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX2CGTTT X2=C3
CG-Gw2X2-2	SEQ ID NO: 223**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGTTT X2=C3

CG-Gw2X2-3	SEQ ID NO: 226**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGX2CGTTT X2=C3
CG-Gw2X2-4	SEQ ID NO: 227**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGX2CGX2C GTTT X2=C3
CG-Gw2X2-5	SEQ ID NO: 228**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGX2CGX2C GX2CGTTT X2=C3
CG-G4T16X2-1	SEQ ID NO: 229**	TGGGGTTTTTTTTTCGX2CGTTT X2=C3
CG-G4T16X2-2	SEQ ID NO: 230**	TGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGTTT X2=C3
CG-G4T16X2-3	SEQ ID NO: 231**	TGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGX2CGTTT X2=C3
CG-G4T16X2-4	SEQ ID NO: 232**	TGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGX2CGX2CGTTT X2=C3
CG-G4T16X2-5	SEQ ID NO: 233**	TGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGX2CGX2CGX2CG TTT X2=C3
ODN-X2	SEQ ID NO: 234**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX2CGX2CGTTT (X2 = Etandiol)
ODN-X3	SEQ ID NO: 223**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX3CGX3CGTTT (X3 = Propandiol)
ODN-X4	SEQ ID NO: 235**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX4CGX4CGTTT (X4 = Butandiol)
ODN-X6	SEQ ID NO: 236**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX6CGX6CGTTT (X6 = Hexandiol)
ODN-X9	SEQ ID NO: 237**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX9CGX9CGTTT (X9 = Nonandiol)
ODN-X12	SEQ ID NO: 238**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGX12CGX12CGTTT (X12 = Dodecandiol)
ODN-Xab	SEQ ID NO: 239	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGXabCGXabCGTTT (Xab = dSpacer (abasic))
ODN-XtrEG	SEQ ID NO: 240**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCGXtrCGXtrCGTTT (Xtr = Triethylenglycol)
ACGC-Gw2X1	SEQ ID NO: 241**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTACGCX1ACGCX1ACGCT TT X1 = C18 (HEG*)
CCGC-Gw2X1	SEQ ID NO: 242**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTCCGCX1CCGCX1CCGCT TT X1 = C18 (HEG*)
ACGC-Gw2X2	SEQ ID NO: 243**	GGGGTTGGGGTTTTTTTTTACGCX2ACGCX2ACGCT TT

		X2 = Propandiol
CCGC-Gw2X2	SEQ ID NO: 244**	GGGGTTGGGGTTTTTTTCCGCX2CCGCX2CCGCTTT X2 = Propandiol
ACGC-G4T16-X2	SEQ ID NO: 245**	TGGGGTTTTTTTACGCX2ACGCX2ACGCTTT X2 = Propandiol
CCGC-G4T16-X2	SEQ ID NO: 246**	TGGGGTTTTTTTCCGCX2CCGCX2CCGCTTT X2 = Propandiol
2006-PDE5dG4-X1	SEQ ID NO: 247**	GGGGX1TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT X1 = C18 (HEG*)
2006-PDE5dG4-X2	SEQ ID NO: 248**	GGGGX2TCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT X2 = Propandiol
2006-PDE5dG4-X3	SEQ ID NO: 249**	GGGGX3GGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT X3 = C18 (HEG*)
2006-PDE5dG4-X4	SEQ ID NO: 250**	GGGGX4GGGGTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT X4 = Propandiol
2006-T4-5dTG4T	SEQ ID NO: 251	TGGGGTTTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTT
2006-T4TG4T-3C	SEQ ID NO: 251	TGGGGTTTTTTTCGTCGTTTTGTCGTTTTGTCGTTX 3'-Cholesteryl
5Chol-GCGT3-TG4T	SEQ ID NO: 1	XTGGGGTTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTTTCGTT TT X = 5'-Cholesteryl
GCGT3-TG4T	SEQ ID NO: 252	TGGGGTTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTTTCGTTTT T
GCGT-3-Gw2-5Chol	SEQ ID NO: 253	XGGGGTTGGGGTTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT GCGTTTT 5'-Cholesteryl
GCGT-3-Gw2	SEQ ID NO: 253	GGGGTTGGGGTTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT CGTTTT
GCGT3-5Chol	SEQ ID NO: 254	XTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT X = 5'-Cholesteryl
GCGT3	SEQ ID NO: 254	TTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT
5Chol-CCGC3-Gw2	SEQ ID NO: 255	XGGGGTTGGGGTTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT CCGTTTT X = 5'-Cholesteryl
CCGC3-Gw2	SEQ ID NO: 255	GGGGTTGGGGTTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT CGTTTT
5Chol-CCGC3	SEQ ID NO: 256	XTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT X = 5'-Cholesteryl
CCGC3	SEQ ID NO: 256	TTTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTTTCGTTTTT

*Hexaethylenglycol

**Nhu được đề cập ở đây, nên gọi của các trình tự (ví dụ, "CG-Gw2X1," v.v.) chỉ các trình tự đầu đủ được thể hiện trong bảng này, bao gồm đoạn liên kết không chứa nucleotit X1, X2, X3, X4, X6, X9, X12, và Xtr.

Các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch được mô tả ở đây được làm giàu môtip CpG. Theo một số khía cạnh, các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa nhiều hơn 20% môtip CpG so với tần suất của môtip CpG được phát hiện ở các trình tự axit nucleic của động vật có xương sống.

Theo một số khía cạnh, bản mô tả đề cập đến các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch mà không chứa gen kháng kháng sinh. Theo một số khía cạnh, các plasmit này không chứa trình tự axit nucleic mã hóa dấu chuẩn chức năng hoặc đầy đủ độ dài phát hiện được hoặc sàng lọc được. Ví dụ, plasmit pGCMB75.6 được mô tả ở đây không chứa các gen dấu chuẩn chức năng hoặc đầy đủ độ dài phát hiện được hoặc sàng lọc được. Trình tự của pGCMB75.6 được nêu trong SEQ ID NO: 265 (Bảng 1A). Theo một số khía cạnh, các plasmit được mô tả ở đây không mã hóa thành phần sinh miễn dịch (immunogen).

Theo một số khía cạnh, các plasmit sinh miễn dịch có thể chứa trình tự axit nucleic mã hóa gen dấu chuẩn phát hiện được hoặc sàng lọc được mà không phải là gen kháng kháng sinh. Ví dụ, plasmit pLacZMB75.6 được mô tả ở đây chứa gen LacZ làm dấu chuẩn sàng lọc được. Trình tự của pLacZMB75.6 được nêu trong SEQ ID NO: 268. Theo các khía cạnh khác nữa, plasmit sẽ chứa gen kháng kháng sinh. Ví dụ, pMB75.6 chứa trình tự axit nucleic mã hóa tính kháng kháng sinh kanamycin. Trình tự của pMB75.6 được nêu trong SEQ ID NO: 266.

Cần thấy rằng trình tự nucleotit của plasmit pMB75.6, pGCMB75.6, hoặc pLacZMB75.6 có thể thay đổi trong phạm vi nhất định mà không ảnh hưởng bất lợi đáng kể đến các đặc tính kích thích miễn dịch của nó. Một số khía cạnh đề xuất plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa hoặc bao gồm trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 89% so với trình tự of pGCMB75.6 (SEQ ID NO: 265). Theo một số khía cạnh, plasmit sinh miễn dịch chứa trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75%, ít nhất 76%, ít nhất 77%, ít nhất 78%, ít nhất 79%, ít nhất 80%, ít nhất 81%, ít nhất 82%, ít nhất 83%, ít nhất 84%, ít nhất 85%, ít nhất 86%, ít nhất 87%, ít nhất 88%, ít nhất 89%, ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất

95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, hoặc ít nhất 99% so với trình tự pGCMB75.6 (SEQ ID NO: 265). Theo một số khía cạnh, plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa trình tự pGCMB75.6 (SEQ ID NO: 265).

Một số khía cạnh đề xuất các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 84% so với trình tự pLacZMB75.6 (SEQ ID NO: 268). Theo một số khía cạnh, plasmit sinh miễn dịch chứa hoặc bao gồm trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75%, ít nhất 76%, ít nhất 77%, ít nhất 78%, ít nhất 79%, ít nhất 80%, ít nhất 81%, ít nhất 82%, ít nhất 83%, ít nhất 84%, ít nhất 85%, ít nhất 86%, ít nhất 87%, ít nhất 88%, ít nhất 89%, ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, hoặc ít nhất 99% so với trình tự pLacZMB75.6 (SEQ ID NO: 268). Theo một số khía cạnh, axit nucleic sinh miễn dịch chứa plasmit có trình tự của pLacZMB75.6 (SEQ ID NO: 268).

Một số khía cạnh đề xuất các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 80% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 266. Theo một số khía cạnh, plasmit sinh miễn dịch chứa hoặc bao gồm trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75%, ít nhất 76%, ít nhất 77%, ít nhất 78%, ít nhất 79%, ít nhất 80%, ít nhất 81%, ít nhất 82%, ít nhất 83%, ít nhất 84%, ít nhất 85%, ít nhất 86%, ít nhất 87%, ít nhất 88%, ít nhất 89%, ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, hoặc ít nhất 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 266. Theo một số khía cạnh, plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO: 266.

Một số khía cạnh đề xuất plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 80% so với trình tự pMB75.6_AscI (SEQ ID NO: 267). Theo một số khía cạnh, plasmit sinh miễn dịch chứa hoặc bao gồm trình tự axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75%, ít nhất 76%, ít nhất 77%, ít nhất 78%, ít nhất 79%, ít nhất 80%, ít nhất 81%, ít nhất 82%, ít nhất 83%, ít nhất 84%, ít nhất 85%, ít nhất 86%, ít nhất 87%, ít nhất 88%, ít nhất 89%, ít nhất 90%, ít nhất 91%, ít nhất 92%, ít nhất 93%, ít nhất 94%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, hoặc ít nhất 99% so với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 267. Theo một số khía cạnh, plasmit axit nucleic sinh miễn dịch chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO: 267.

Bảng 1A: Các trình tự plasmit

pGCMB75.6						
(SEQ ID NO:265)						
tgaccgcccc	acgacccccg	cccattgacg	tcaataatga	cgtatgtttcc	catagtaacg	60
ccaatagggga	ctttccattg	acgtcaatgg	gtggagtatt	tacgggtaaac	tgcccacttg	120
gcagtacatc	aagtgtatca	tatgccaa	ccgcccccta	ttgacgtcaa	tgacggtaaa	180
tggcccgccct	ggcattatgc	ccagtacatg	accttacggg	acttttcctac	ttggcagtac	240
atctacgtat	tagtcatcgc	tattaccatg	gtgatgcggt	tttggcagta	catcaatggg	300
cgtggatagc	ggtttgactc	acggggattt	ccaagtctcc	accccattga	cgtcaatggg	360
agtttgTTTT	ggcaccaaaa	tcaacgggac	tttccaaaat	gtcgtaaaaa	ctccgccccca	420
ttgacgcaaa	tgggcggtag	gcgtgtacgg	tgggaggtct	atataagcag	agctcgttta	480
gtgaaccgtc	agatcgccctg	gagacgccat	ccacgctgtt	ttgacctcca	tagaagacac	540
cgggaccgat	ccagccctccc	ctcgaagccg	atctgataac	ggtaccgata	agctggcggc	600
cgattaagct	acagaagttg	gtcgtgaggc	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	660
caggtttaag	gagaccaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	720
tgataggcac	ctattggtct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	aggtgtccac	780
tcccaggttc	aattacagct	cttaagcagc	cgcaagcttg	atatcgaatt	cctgcagccc	840
gggggatcca	ctagttctag	agcggccgcc	accgcggtgg	agctcgaatt	atcagatcga	900
ttataacta	tgctcaaaaa	ttgtgtacct	ttagcttttt	aatttgtaaa	gggggttaata	960
aggaatatatt	gatgtatagt	gccttgacta	gagatcataa	tcagccatac	cacatttgta	1020
gaggtttttac	ttgcttttaa	aaacctccca	cacctccccc	tgaacctgaa	acataaaatg	1080
aatgcaattg	ttgttggttaa	cttgtttatt	gcagcttata	atggttacia	ataaagcaat	1140
agcatcacia	atttcacaaa	taaagcattt	ttttcactgc	attctagttg	tggtttgtcc	1200
aaactcatca	atgtatctta	tcattgtctg	atcatcagat	ctgccggtct	ccctatagtg	1260
agtcgtatta	atttcgataa	gccaggttaa	cctgcattaa	tgaatcggcc	aacgcgcggg	1320
gagaggcggg	ttgcgtattg	ggcgtctctc	cgcttcctcg	ctcactgact	cgctgcgtc	1380
ggtcgttcgg	ctgcggcgag	cggtatcagc	tcactcaaag	gcggtaatac	ggttatccac	1440
agaatcaggg	gataacgcag	gaaagaacat	gtgagcaaaa	ggccagcaaa	aggccaggaa	1500
ccgtaaaaag	gccgcgttgc	tggcgttttt	ccataggctc	cgccccctg	acgagcatca	1560
caaaaatoga	cgctcaagtc	agagggtggc	aaacccgaca	ggactataaa	gataaccaggc	1620
gtttccccct	ggaagctccc	tcgtgcgctc	tcctgttccg	accctgccgc	ttaccggata	1680
cctgtccgcc	tttctccctt	cgggaagcgt	ggcgctttct	catagctcac	gctgtaggta	1740
tctcagttcg	gtgtaggtcg	ttcgctccaa	gctgggctgt	gtgcacgaac	ccccgttca	1800
gcccgaccgc	tgcgccttat	ccggtaaacta	tcgtcttgag	tccaaccg	taagacacga	1860
cttatcgcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	agagcgagg	atgtaggcgg	1920
tgctacagag	ttcttgaagt	ggtggcctaa	ctacggctac	actagaagaa	cagtatttgg	1980
tatctgcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	gttggttagct	cttgatccgg	2040
caaacaacc	accgctggta	gcggtggttt	ttttgtttgc	aagcagcaga	ttacgcgcag	2100
aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	gggtctgacg	ctcagtggaa	2160
cgaaaactca	cgttaaggga	ttttggtcat	gggcgcgcct	aggcttttgc	aaagatcgat	2220
caagagacag	gatgaggatc	gtttcgcagc	ttttcattct	gactgcaacg	ggcaataagt	2280
ctctgtgtgg	attaaaaaaaa	gagtgtctga	tagcagcttc	tgaactgggt	acctgccgtg	2340

agtaaattaa aatatttattg acttaggtca ctaaggcgcc ttgcgctgag gttgcgtcgt	2400
gatatcatca gggcagaccg gttacatccc cctaacaagc tgtataaaga gaaatactat	2460
ctcattggcg ttgcccgcac ctgacagtgc gacgttgggc tgcgtccgtc gaccaacggt	2520
accgaggtaa cagcccaatc tatccatgat ctgggccagg ccgggtcggc cgttatgcag	2580
cccggctcgg gtatgaagcc attaaggagc cgaccagcg cgaccgggcg gccggtcacg	2640
ctgcctctgc tgaagcctgc ctgtcactcc ctgcgcggcg taccgcctgt tctcatcgag	2700
taggctccgg atcgcgaccc cggacgggcc ctggggccag gagcggccta tgacaaatgc	2760
cgggtagcga tccggcattc agcattgact gcgcacggat ccagtccttg caggagcctt	2820
atgccgaccg tagcaaaaaa tgagcccag ccgatcgca gttgtgatcc ggtcccgcg	2880
attgccggtc gcgatgacgg tcctgtgtaa gcgttatcgt taccaattgt ttaagaagta	2940
tatacgctac gaggtacttg ataacttctg cgtagcatac atgaggtttt gtataaaaat	3000
ggcgggcgat atcaacgcag tgtcagaaat ccgaaacagt ctgcgggact ctggggttcg	3060
aaatgaccga ccaagcgacg cccaacctgc catcacgaga tttcgattcc accgcgcct	3120
tctatgaaag gttgggcttc ggaatcgttt tccgggacgc cggctggatg atcctccagc	3180
gcggggatct catgctggag ttcttcgccc accctaggcg cgctcatgag cggatacata	3240
tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagtg	3300
ccacctaaat tgtaagcgtt aatattttgt taaaattcgc gttaaatttt tgttaaataca	3360
gctcattttt taaccaatag gccgaaatcg gcaaaatccc ttataaatca aaagaataga	3420
ccgagatagg gttgagtgtt gttccagttt ggaacaagag tccactatta aagaacgtgg	3480
actccaacgt caaaggcgca aaaaccgtct atcaggcgca tggcccacta cgtgaaccat	3540
caccctaatac aagttttttg gggtcgaggt gccgtaaagc actaaatcgg aaccctaaag	3600
ggagcccccg atttagagct tgacggggaa agccggcgaa cgtggcgaga aaggaaggga	3660
agaaagcgaa aggagcgggc gctagggcg tggaagtgt agcggtcacg ctgcgcgtaa	3720
ccaccacacc cgccgcgctt aatgcgcgcg tacaggcgcg gtcccatcgc ccattcaggc	3780
tgcgcaactg ttgggaaggc gatcgggtgc gggcctcttc gctattacgc cagctggcga	3840
aagggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac	3900
gttgtaaaac gacggccagt gagcgcgcgt aatacgactc actatagggc gaattgggta	3960
ccgggcccc cctcgagcag gatctataca ttgaatcaat attggcaatt agccatatta	4020
gtcattgggt atatagcata aatcaatatt ggctattggc cattgcatac gttgtatcta	4080
tatcataata tgtacattta tattggctca tgtccaatat gaccgccatg ttgacattga	4140
ttattgacta gttattaata gtaatcaatt acggggtcat tagttcatag cccatatatg	4200
gagttccgcg ttacataaact tacggtaaat ggccgcgctg gc	4242
pMB75.6	
(SEQ ID NO:266)	
ctaaattgta agcgttaata ttttgttaaa attcgcgtta aatttttggt aaatcagctc	60
attttttaac caataggcog aaatcggcaa aatcccttat aaatcaaaag aatagaccga	120
gatagggttg agtggtgttc cagtttgga caagagtcca ctattaaaga acgtggactc	180
caacgtcaaa gggcgaaaaa ccgtctatca gggcgatggc ccactacgtg aaccatcacc	240
ctaatacagt tttttggggc cgaggtgccg taaagcacta aatcggaacc ctaaagggag	300
ccccgattt agagcttgac ggggaaagcc ggcgaaacgt gcgagaaagg aagggaagaa	360
agcgaaagga gcgggcgcta gggcgctggc aagtgtagcg gtcacgctgc gcgtaaccac	420
cacaccgcgc gcgcttaatg cgccgctaca gggcgcgctc cattcgccat tcaggctgcg	480

caactgttgg	gaagggcgat	cggtgcgggc	ctcttcgcta	ttacgccagc	tggcgaaagg	540
gggatgtgct	gcaaggcgat	taagttgggt	aacgccaggg	ttttcccagt	cacgacgttg	600
taaaacgacg	gccagtgagc	gcgcgtaata	cgactcacta	tagggcgaat	tgggtaccgg	660
gccccccctc	gagcaggatc	tatacattga	atcaatattg	gcaattagcc	atattagtca	720
ttggttatat	agcataaatc	aatattggct	attggccatt	gcatacgttg	tatctatata	780
ataatatgta	cattttatatt	ggctcatgtc	caatatgacc	gccatgttga	cattgattat	840
tgactagtta	ttaatagtaa	tcaattacgg	ggtcattagt	tcatagccca	tatatggagt	900
tccgcgttac	ataaacttac	gtaaatggcc	cgccctggctg	accgcccaac	gacccccgcc	960
cattgacgtc	aataatgacg	tatgttccca	tagtaacgcc	aatagggact	ttccattgac	1020
gtcaatgggt	ggagtattta	cggtaaactg	cccacttggc	agtacatcaa	gtgtatcata	1080
tgccaagtcc	gccccctatt	gacgtcaatg	acggtaaatg	gcccgcctgg	cattatgccc	1140
agtacatgac	cttacgggac	tttcctactt	ggcagtacat	ctacgtatta	gtcatcgcta	1200
ttaccatggt	gatgcggttt	tggcagtaca	tcaatgggcg	tggatagcgg	tttgactcac	1260
ggggatttcc	aagtctccac	ccattgacg	tcaatgggag	tttgttttgg	cacaaaaatc	1320
aacgggactt	tccaaaatgt	cgtaacaact	ccgccccatt	gacgcaaatg	ggcggtaggc	1380
gtgtacgggtg	ggaggtctat	ataagcagag	ctcgtttagt	gaaccgtcag	atcgcttggg	1440
gacgccatcc	acgctgtttt	gacctccata	gaagacaccg	ggaccgatcc	agcctcccct	1500
cgaagccgat	ctgataacgg	taccgataag	ctggcgggccg	attaagctac	agaagttggg	1560
cgtgaggcac	tgggcaggta	agtatcaagg	ttacaagaca	ggtttaagga	gaccaataga	1620
aactgggctt	gtcgagacag	agaagactct	tgcgtttctg	ataggcacct	attgggtctta	1680
ctgacatcca	ctttgccttt	ctctccacag	gtgtccactc	ccaggttcaa	ttacagctct	1740
taagcagccg	caagcttgat	atcgaattcc	tgcagcccgg	gggatccact	agttctagag	1800
cggccgccac	cgcggtggag	ctcgaattat	cagatcgatt	aataactatg	ctcaaaaatt	1860
gtgtaccttt	agctttttta	tttgtaaagg	ggttaataag	gaatatttga	tgtatagtgc	1920
cttgactaga	gatcataatc	agccatacca	catttgtaga	ggttttactt	gctttaaaaa	1980
acctcccaca	cctccccctg	aacctgaaac	ataaaatgaa	tgcaattgtt	gttgttaaact	2040
tgtttattgc	agcttataat	ggttacaaat	aaagcaatag	catcacaaat	ttcacaaata	2100
aagcattttt	ttcactgcat	tctagttgtg	gtttgtccaa	actcatcaat	gtatcttata	2160
atgtctggat	catcagatct	gccggtctcc	ctatagttag	tcttattaat	ttcgataagc	2220
cagggttaacc	tgcattaatg	aatcggccaa	cgcgcgggga	gaggcggttt	gcgtattggg	2280
cgctcttccg	cttcctcgct	cactgactcg	ctgcgctcgg	tcggttcggct	gcggcgagcg	2340
gtatcagctc	actcaaaggc	ggtaatacgg	ttatccacag	aatcagggga	taacgcagga	2400
aagaacatgt	gagcaaaagg	ccagcaaaag	gccaggaacc	gtaaaaaggc	cgcggttgctg	2460
gcgtttttcc	ataggctccg	ccccctgac	gagcatcaca	aaaatcgacg	ctcaagtcag	2520
aggtggcgaa	acccgacagg	actataaaga	taccaggcgt	ttccccctgg	aagctccctc	2580
gtgcgctctc	ctgttccgac	cctgccgctt	accggatacc	tgtccgcctt	tctcccttcg	2640
ggaagcgtgg	cgctttctca	tagctcacgc	tgtaggatat	tcagttcggg	gtaggtcggt	2700
cgctccaagc	tgggctgtgt	gcacgaaccc	cccgttcagc	cgcaccgctg	cgccttatcc	2760
ggtaactatc	gtcttgagtc	caaccgggta	agacacgact	tatcgccact	ggcagcagcc	2820
actggtaaca	ggattagcag	agcgaggat	gtaggcggtg	ctacagagtt	cttgaagtgg	2880
tggcctaact	acggctacac	tagaagaaca	gtatttggtg	tctgcgctct	gctgaagcca	2940
gttaccttcg	gaaaaagagt	tggtagctct	tgatccggca	aacaaaccac	cgctggtagc	3000

ggtggttttt	ttgtttgcaa	gcagcagatt	acgcgcagaa	aaaaaggatc	tcaagaagat	3060
cctttgatct	tttctacggg	gtctgacgct	cagtggaaacg	aaaactcacg	ttaagggatt	3120
ttggtcatga	gcgcgcctag	gcttttgcaa	agatcgatca	agagacagga	tgaggatcgt	3180
ttcgcatgat	tgaacaagat	ggattgcacg	caggttctcc	ggccgcttgg	gtggagaggc	3240
tattcggcta	tgactgggca	caacagacaa	tcggctgctc	tgatgccgcc	gtgttcgggc	3300
tgtcagcgca	ggggcgccc	gttctttttg	tcaagaccga	cctgtccggg	gccctgaatg	3360
aactgcaaga	cgaggcagcg	cggctatcgt	ggctggccac	gacgggcgtt	cottgcgcag	3420
ctgtgctcga	cgttgtcact	gaagcgggaa	gggactggct	gctattgggc	gaagtgccgg	3480
ggcaggatct	cctgtcatct	caccttgctc	ctgccgagaa	agtatccatc	atggctgatg	3540
caatgcggcg	gctgcatacg	cttgatccgg	ctacctgcc	attcgaccac	caagcgaaac	3600
atcgcatcga	gcgagcacgt	actcggatgg	aagccggctc	tgatgatcag	gatgatctgg	3660
acgaagagca	tcaggggctc	gcgccagccg	aactgttcgc	caggctcaag	gcgagcatgc	3720
ccgacggcga	ggatctcgtc	gtgacctatg	gcgatgcctg	cttgccgaat	atcatggtgg	3780
aaaatggccg	cttttctgga	ttcatcgact	gtggccggct	gggtgtggcg	gaccgctatc	3840
aggacatagc	gttggtacc	cgtgatattg	ctgaagagct	tggcggcgaa	tgggctgacc	3900
gcttctcgt	gctttacggg	atcgccgctc	ccgattcgca	gcgcacgcc	ttctatcgcc	3960
ttcttgacga	gttcttctga	gcgggactct	ggggttcgaa	atgaccgacc	aagcgacgcc	4020
caacctgcca	tcacgagatt	tcgattccac	cgccgccttc	tatgaaagg	tgggcttcgg	4080
aatcgttttc	cgggacgcgc	gctggatgat	cctccagcgc	ggggatctca	tgctggagtt	4140
cttcgcccac	cctaggcgcg	ctcatgagcg	gatacatatt	tgaatgtatt	tagaaaaata	4200
aacaaatagg	ggttccgcgc	acatttcccc	gaaaagtgcc	ac		4242
pMB75.6_AscI (SEQ ID NO:267)						
tgaccgccc	acgaccccc	cccattgacg	tcaataatga	cgtatgttcc	catagtaacg	60
ccaataggga	ctttccattg	acgtcaatgg	gtggagtatt	tacggtaaac	tgcccacttg	120
gcagtacatc	aagtgtatca	tatgccaagt	ccgcccccta	ttgacgtcaa	tgacggtaaa	180
tggcccgcc	ggcattatgc	ccagtacatg	accttacggg	actttcctac	ttggcagtac	240
atctacgtat	tagtcatcgc	tattaccatg	gtgatgcggg	tttggcagta	catcaatggg	300
cgtggatagc	ggtttgactc	acggggattt	ccaagtctcc	accccatgga	cgtcaatggg	360
agtttgtttt	ggcacaaaa	tcaacgggac	tttccaaaat	gtcgtaacaa	ctccgcccc	420
ttgacgcaaa	tgggcggtag	gcgtgtacgg	tgggaggtct	atataagcag	agctcgttta	480
gtgaaccgtc	agatcgccctg	gagacgccat	ccacgctgtt	ttgacctcca	tagaagacac	540
cgggaccgat	ccagcctccc	ctogaagccg	atctgataac	ggtaccgata	agctggcggc	600
cgattaagct	acagaagttg	gtcgtgaggc	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	660
caggtttaag	gagaccaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	720
tgataggcac	ctattggtct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	aggtgtccac	780
tcccaggttc	aattacagct	cttaagcagc	cgcaagcttg	atatcgaatt	cctgcagccc	840
gggggatcca	ctagttctag	agcggccgcc	accgcgggtg	agctcgaatt	atcagatcga	900
ttaataacta	tgctcaaaaa	ttgtgtacct	ttagcttttt	aatttgtaaa	ggggtttaata	960
aggaatat	gatgtatagt	gccttgacta	gagatcataa	tcagccatac	cacatttgta	1020
gaggttttac	ttgcttttaa	aaacctccca	cacctcccc	tgaacctgaa	acataaaatg	1080
aatgcaattg	ttgttggtta	cttggtttatt	gcagcttata	atggttataa	ataaagcaat	1140

agcatcacaa atttcacaaa taaagcattt ttttactgc attctagttg tggtttgtcc	1200
aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg atcatcagat ctgccgtct ccctatagtg	1260
agtcgtatta atttcgataa gccaggttaa cctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg	1320
gagaggcggg ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc	1380
ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tcaotcaaag gcggtataac ggttatccac	1440
agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa	1500
ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca	1560
caaaaatcga cgctcaagtc agagggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc	1620
gtttccccc ctggaagctccc tcgtgcgctc tctgtttccg accctgccgc ttaccggata	1680
cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta	1740
tctcagttcg gtgtaggctg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca	1800
gcccagccgc tgcgccttat ccgtaacta tcgtcttgag tccaaccgg taagacacga	1860
cttatcgcca ctggcagcag cactggttaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg	1920
tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg	1980
tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg	2040
caaacaaacc accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag	2100
aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctcagtggaa	2160
cgaaaactca cgttaaggga ttttggctcat gggcgcgctt aggtttttgc aaagatcgat	2220
caagagacag gatgaggatc gtttcgcatg attgaacaag atggattgca cgcaggttct	2280
ccggccgctt ggggtgagag gctattcggc tatgactggg cacaacagac aatcggtgc	2340
tctgatgccg cgtgttccg gctgtcagcg cagggcgcc cggttctttt tgtcaagacc	2400
gacctgtccg gtgccctgaa tgaactgcaa gacgaggcag cgcggctatc gtggctggcc	2460
acgacgggcg ttccttgccg agctgtgctc gacgttgtca ctgaagcggg aagggactgg	2520
ctgctattgg gcgaagtgcc ggggcaggat ctctgtcat ctacacttgc tctgccgag	2580
aaagtatcca tcatggctga tgcaatgcgg cggctgcata cgcttgatcc ggctacctgc	2640
ccattcgacc accaagcgaa acatcgcac gagcgagcac gtactcggat ggaagccggt	2700
cttgtcgatc aggatgatct ggacgaagag catcaggggc tcgcgccagc cgaactgttc	2760
gccaggctca aggcgagcat gcccgacggc gaggatctcg tcgtgacca tggcgatgcc	2820
tgcttgccga atatcatggt ggaaaatggc cgcttttctg gattcatcga ctgtggccgg	2880
ctgggtgtgg cggaccgcta tcaggacata gcgttggtta cccgtgatat tgctgaagag	2940
cttggcggcg aatgggctga ccgcttcctc gtgctttacg gtatcgccgc tcccgattcg	3000
cagcgcacgc cttctatcgc ctttcttgac gagttcttct gagcgggact ctggggttcg	3060
aaatgaccga ccaagcgacg cccaacctgc catcacgaga tttcgattcc accgccgct	3120
tctatgaaag gttgggcttc ggaatcgttt tccgggacgc cggttgatg atcctccagc	3180
gcggggatct catgctggag ttcttcgccc accctaggcg cgctcatgag cggatacata	3240
tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagtg	3300
ccacctaaat tgtaagcgtt aatattttgt taaaattcgc gttaaatttt tgttaaatca	3360
gctcatTTTT taaccaatag gccgaaatcg gcaaaatccc ttataaatca aaagaataga	3420
ccgagatagg gttgagtgtt gttccagttt ggaacaagag tccactatta aagaacgtgg	3480
actccaacgt caaaggcgca aaaaccgtct atcagggcga tggccacta cgtgaacat	3540
caccctaate aagttttttg gggtcgaggt gccgtaaagc actaaatcgg aaccctaaag	3600
ggagcccccg atttagagct tgacggggaa agccggcgaa cgtggcgaga aaggaaggga	3660

agaaagcgaa aggagcgggc gctagggcgc tggcaagtgt agcggtcacg ctgcgcgtaa	3720
ccaccacacc cgccgcgctt aatgcgccgc tacagggcgc gtcccatcgc ccattcaggg	3780
tgcgcaactg ttgggaaggg cgatcgggtgc gggcctcttc gctattacgc cagctggcga	3840
aaggggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcaogac	3900
gttgtaaaac gacggccagt gagcgcgcgt aatacgactc actatagggc gaattgggta	3960
ccggggccccc cctcgagcag gatctataca ttgaatcaat attggcaatt agccatatta	4020
gtcattgggtt atatagcata aatcaatatt ggctattggc cattgcatac gttgtatcta	4080
tatcataata tgtacattta tattggctca tgtccaatat gaccgccatg ttgacattga	4140
ttattgacta gttattaata gtaatcaatt acgggggtcat tagttcatag cccatatatg	4200
gagttccgcg ttacataact tacggtaaatt ggcccgcctg gc	4242
pLacZMB75.6 (SEQ ID NO:268)	
tgaccgcca acgacccccg ccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg	60
ccaataggga ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg	120
gcagtacatc aagtgtatca tatgccaagt ccgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa	180
tggcccgccct ggcattatgc ccagtacatg accttacggg actttcctac ttggcagtac	240
atctacgtat tagtcatgcg tattaccatg gtgatgcggg tttggcagta catcaatggg	300
cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg	360
agtttggtttt ggcacaaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccc	420
ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctcgttta	480
gtgaaccgtc agatcgccct gagacgccat ccacgctgtt ttgacctcca tagaagacac	540
cgggaccgat ccagcctccc ctggaagccg atctgataac ggtaccgata agctggcggc	600
cgattaagct acagaagttg gtcgtgaggc actgggcagg taagtatcaa ggttacaaga	660
caggtttaag gagaccaata gaaactgggc ttgtcgagac agagaagact cttgcgtttc	720
tgataggcac ctattgggtct tactgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac	780
tcccagggtt aattacagct cttaagcagc cgccaaaaca aaattcctca aaaatcatca	840
tcgaatgaat ggtgaaataa tttccctgaa taactgtagt gttttcaggg cgcggcataa	900
taattaacta tgctcaaaaa ttgtgtacct ttagcttttt aatttgtaaa ggggttaata	960
aggaatattt gatgtatagt gccttgacta gagatcataa tcagccatac cacatttgta	1020
gagggttttac ttgctttaaa aaacctccca cacctcccc tgaacctgaa acataaaatg	1080
aatgcaattg ttgttggtta cttgtttatt gcagcttata atggttaca ataaagcaat	1140
agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttactgac attctagttg tggtttgccc	1200
aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg atcatcagat ctgccgggtc ccctatagtg	1260
agtcgtatta atttcgataa gccagggtta cctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg	1320
gagaggcggg ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc	1380
ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tcaactcaaag gcggtaatac gggttatccac	1440
agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa	1500
ccgtaaaaaa gccgcgttgc tggcggtttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca	1560
caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg aaaccgcaca ggactataaa gataccaggc	1620
gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg acctgccgc ttaccggata	1680
cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta	1740
tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca	1800

gcccgaaccgc	tgcgcccttat	ccggtaaacta	togtcttgag	tccaaccccg	taagacacga	1860
cttatcgcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	agagcgaggt	atgtaggcgg	1920
tgctacagag	ttcttgaagt	ggtggcctaa	ctacggctac	actagaagaa	cagtatttgg	1980
tatctgcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	gttggtagct	cttgatccgg	2040
caaacaaacc	accgctggta	gcggtggttt	ttttgtttgc	aagcagcaga	ttacgcgcag	2100
aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	gggtctgacg	ctcagtggaa	2160
cgaaaactca	cgttaaggga	ttttggtcac	gggcgcgcct	aggcttttgc	aaagatcgat	2220
caagagacag	gatgaggatc	gtttcgcagc	ttttcattct	gactgcaacg	ggcaataagt	2280
ctctgtgtgg	attaaaaaaa	gagtgtctga	tagcagcttc	tgaactgggt	acctgccgtg	2340
agtaaattaa	aattttattg	acttaggtca	ctaaggcgcc	ttgcgctgag	gttgcgtcgt	2400
gatatcatca	gggcagaccg	gttacatccc	cctaacaagc	tgtataaaga	gaaatactat	2460
ctcattggcg	ttgccgcgac	ctgacagtgc	gacgttgggc	tgcgcccgtc	gaccaacggt	2520
accgaggtaa	cagcccaatc	tatccatgat	ctcggccagg	ccgggtcggc	cgttatgcag	2580
cccggctcgg	gtatgaagcc	attaaggagc	cgaccacgag	cgaccgggag	gccggtcacg	2640
ctgcctctgc	tgaagcctgc	ctgtcactcc	ctgcgcggcg	taccgcgctt	tctcatcgag	2700
taggctccgg	atcgcgaccc	cggacggggc	ctggggccag	gagcggccta	tgacaaatgc	2760
cgggtagcga	tccggcattc	agcattgact	gcgcacggat	ccagtccttg	caggagcctt	2820
atgccgaccg	tagcaaaaaa	tgagcccagc	ccgatcgcga	gttgtgatcc	ggccccgcg	2880
attgccggtc	gcgatgaagg	tctgtgttaa	gcgttatcgt	taccaattgt	ttaagaagta	2940
tatacgctac	gaggtacttg	ataacttctg	cgtagcatac	atgaggtttt	gtataaaaat	3000
ggcggggcga	atcaacgcag	tgtcagaaat	ccgaaacagt	ctgcgggact	ctgggggttcg	3060
aaatgaccga	ccaagcgagc	cccaacctgc	catcacgaga	tttcgattcc	accgccgcct	3120
tctatgaaaag	gttgggcctt	ggaatcgttt	tccgggacgc	cggctggatg	atcctccagc	3180
gcggggatct	catgctggag	ttcttcgccc	accctaggcg	cgctcatgag	cggatacata	3240
tttgaatgta	tttagaaaaa	taaacaaata	ggggttccgc	gcacatttcc	ccgaaaagtg	3300
ccacctaaat	tgtaagcggt	aatattttgt	taaaattcgc	gttaaatttt	tgtaaataca	3360
gctcattttt	taaccaatag	gccgaaatcg	gcaaaatccc	ttataaatca	aaagaataga	3420
ccgagatagg	gttgagtgtt	gttccagttt	ggaacaagag	tcactatta	aagaacgtgg	3480
actccaacgt	caaagggcga	aaaaccgtct	atcagggcga	tgcccacta	cgtgaaccat	3540
caccctaata	aagttttttg	gggtcgaggt	gccgtaaagc	actaaatcgg	aaccctaaag	3600
ggagcccccg	atttagagct	tgacggggaa	agccggcgaa	cgtggcgaga	aaggaaggga	3660
agaaagcgaa	aggagcgggc	gctagggcgc	tggcaagtgt	agcggtcacg	ctgcgcgtaa	3720
ccaccacacc	cgccgcgctt	aatgcgcgcg	tacagggcgc	gtcccattcg	ccattcaggc	3780
tgcgcaactg	ttgggaaggg	cgatcgggtg	gggcctcttc	gctattacgc	cagctggcga	3840
aaggggggatg	tgctgcaagg	cgattaagtt	gggtaacgcc	agggttttcc	cagtcacgac	3900
gttgtaaaaac	gacggccagt	gagcgcgcgt	aatacgactc	actatagggc	gaattgggta	3960
ccggggcccc	cctcgaggtc	gacggtatcg	ataagcttga	tatcgaattc	ctgcagcccc	4020
ggggatccac	tagttctaga	gcggccgcga	ccgcggtgga	gctccagctt	ttgttccctt	4080
tagtgagggt	taattgcgcg	cttggcgtaa	tcatggtcat	agctgtttcc	tgtgtgaaat	4140
tgttatccgc	tcacaattcc	acacaacata	cgagccggaa	gcataaagtg	taaagcctgg	4200
ggtgcctaata	gagtgaagta	actcacatta	attgcgttgc	gc		4242

Bản mô tả cũng đề xuất các axit nucleic sinh miễn dịch hoặc plasmit sinh miễn dịch có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch bao gồm các trình tự axit nucleic lai trong các điều kiện nghiêm ngặt cao với SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 267, hoặc SEQ ID NO: 268. Các trình tự axit nucleic thích hợp bao gồm các trình tự tương đồng, hầu như tương tự, hoặc giống với các axit nucleic được mô tả ở đây. Theo một số khía cạnh, các trình tự axit nucleic tương đồng sẽ có tỷ lệ phần trăm tương đồng về trình tự ít nhất khoảng 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% so với SEQ ID NO: 265 hoặc trình tự bổ sung tương ứng. Theo các khía cạnh khác, các trình tự axit nucleic tương đồng sẽ có độ tương tự về trình tự ít nhất khoảng 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 266 hoặc trình tự bổ sung tương ứng. Theo các khía cạnh khác, các trình tự axit nucleic tương đồng sẽ có độ tương tự về trình tự ít nhất khoảng 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 267 hoặc trình tự bổ sung tương ứng. Độ tương tự về trình tự có thể được tính toán bằng cách sử dụng một số thuật toán đã biết trong lĩnh vực này, như BLAST, được mô tả trong tài liệu của Altschul, S. F., và các đồng tác giả, J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990. Các axit nucleic có thể khác về trình tự so với các axit nucleic được mô tả trên đây do sự thoái biến mã di truyền. Nhìn chung, trình tự tham chiếu sẽ gồm 18 nucleotit, phổ biến hơn là gồm 30 nucleotit hoặc nhiều hơn, và có thể chứa toàn bộ trình tự axit nucleic của chế phẩm nhằm mục đích so sánh.

Các axit nucleic mà có thể lai với SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 267, hoặc SEQ ID NO: 268 được dự tính trong bản mô tả này. Các điều kiện lai nghiêm ngặt bao gồm các điều kiện như lai ở nhiệt độ 50°C hoặc cao hơn và SSC 0,1X (15 mM natri clorua/1,5 mM natri xitrat). Một ví dụ khác là ủ qua đêm ở 42°C trong dung dịch formamit 50%, SSC 5X (150 mM NaCl, 15 mM trinatri xitrat), natri phosphat 50 mM (pH 7,6), dung dịch Denhardt 5X, dextran sulfat 10%, và ADN tinh trùng cá

hồi đã cắt, biến tính 20 $\mu\text{g/ml}$, tiếp theo là rửa trong SSC 0,1X ở khoảng 65°C. Các điều kiện lai nghiêm ngặt làm ví dụ là các điều kiện lai nghiêm ngặt ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, hoặc 95% so với các điều kiện cụ thể nêu trên. Các điều kiện lai nghiêm ngặt khác đã biết trong lĩnh vực này và cũng có thể được sử dụng để xác nhận dạng các dạng tương đồng của các axit nucleic trong bản mô tả (Current Protocols in Molecular Biology, Unit 6, pub. John Wiley & Sons, N.Y. 1989).

Cần thấy rằng các trình tự nucleotit của plasmit axit nucleic sinh miễn dịch có thể thay đổi trong phạm vi nhất định mà không ảnh hưởng bất lợi đáng kể đến các đặc tính sinh miễn dịch của chúng. Trình tự axit nucleic của phân tử plasmit axit nucleic biến thể như vậy sẽ thường khác đi một hoặc nhiều nucleotit. Các thay đổi về trình tự có thể là thay thế, chèn, xóa bỏ, hoặc tổ hợp của các thay đổi này. Các kỹ thuật gây đột biến gen đã tách dòng là đã biết trong lĩnh vực này. Phương pháp gây đột biến đặc hiệu vị trí có thể xem trong tài liệu của Gustin và các đồng tác giả, *Biotechniques* 14:22, 1993; Barany, *Gene* 37:111-23, 1985; Colicelli và các đồng tác giả, *Mol. Gen. Genet.* 199:537-9, 1985; và Sambrook và các đồng tác giả, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, CSH Press 1989, pp. 15.3-15.108 và tất cả được đưa vào bằng cách viện dẫn. Tóm lại, sáng chế đề cập đến các phân tử plasmit axit nucleic, và các biến thể hoặc thể đột biến của chúng, có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch bẩm sinh ở đối tượng. Tương tự, sáng chế bao gồm các ARN trung gian được mã hóa bởi các axit nucleic được mô tả, cũng như các trình tự axit amin bất kỳ thu được được mã hóa bởi các plasmit axit nucleic được mô tả ở đây.

Theo một số khía cạnh, trong khi trình tự nucleotit của plasmit axit nucleic sinh miễn dịch thay đổi từ trình tự nêu trong SEQ ID NO: 265, 266, 267, hoặc 268, các dinucleotit CpG trong plasmit axit nucleic sinh miễn dịch tốt hơn là được giữ nguyên. Theo cách khác, nếu trình tự nucleotit của plasmit sinh miễn dịch được biến đổi sao cho dinucleotit CpG được loại bỏ, trình tự của plasmit axit nucleic sinh miễn dịch có thể được biến đổi ở vị trí khác sao cho tổng số dinucleotit CpG trong plasmit axit nucleic vẫn giữ nguyên không đổi. Các dinucleotit CpG khác ngoài các dinucleotit CpG đã có mặt trong plasmit axit nucleic sinh miễn dịch cũng có thể được đưa vào. Do đó, ví dụ, các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch được mô tả ở đây chứa ít nhất khoảng 200, ít nhất khoảng 220, ít nhất khoảng 240, ít nhất khoảng 260, ít nhất khoảng 270, ít nhất khoảng 275, ít nhất khoảng 280, ít nhất khoảng 283, ít nhất khoảng 285, hoặc ít nhất

khoảng 288 dinucleotit CpG. Theo một số phương án, plasmit axit nucleic sinh miễn dịch có thể chứa 283 dinucleotit CpG. Theo một số phương án, các dinucleotit CpG ngoài các dinucleotit CpG đã có mặt trong các trình tự nucleotit của pGCMB75.6 hoặc pLacZMB75.6 được đưa vào plasmit.

Theo một số khía cạnh, trong khi trình tự nucleotit của plasmit axit nucleic sinh miễn dịch thay đổi từ các trình tự được đề xuất ở đây, các loại môtip CpG trong axit nucleic sinh miễn dịch được biến đổi để điều biến sự hoạt hóa thu được của phân tử axit nucleic giám sát ở phần bào tan, tức là TLR21 và/hoặc TLR9. Ví dụ, số môtip CpG kích thích miễn dịch có thể được tăng lên để tăng cường sự hoạt hóa ít nhất một phân tử axit nucleic giám sát ở phần bào tan đáp ứng lại plasmit axit nucleic sinh miễn dịch. Theo cách khác, số môtip CpG không kích thích miễn dịch có thể được tăng lên để giảm sự hoạt hóa ít nhất một phân tử axit nucleic giám sát ở phần bào tan. Theo một số khía cạnh, số môtip CpG kích thích và không kích thích có thể được thay đổi để tăng cường sự hoạt hóa ít nhất một phân tử axit nucleic giám sát ở phần bào tan và giảm sự hoạt hóa ít nhất một phân tử axit nucleic giám sát ở phần bào tan.

Phân tử plasmit axit nucleic sinh miễn dịch thích hợp bao gồm axit nucleic bất kỳ sinh miễn dịch mã hóa và không mã hóa được mô tả ở đây. Các trình tự axit nucleic mã hóa mã hóa ít nhất một phần của protein hoặc peptit, trong khi trình tự không mã hóa không mã hóa phần protein hoặc peptit bất kỳ nào. Theo sáng chế, các axit nucleic “không mã hóa” có thể bao gồm các vùng điều hòa của đơn vị phiên mã, như vùng khởi đầu (promoter). Thuật ngữ, “vector trống” có thể được sử dụng thay đổi với thuật ngữ “không mã hóa,” và cụ thể là chỉ trình tự axit nucleic không có phần mã hóa protein, như vector plasmit không có gen chèn. Việc biểu hiện protein được mã hóa bởi các plasmit axit nucleic được mô tả ở đây không cần thiết để gây đáp ứng miễn dịch; do đó, các plasmit không cần chứa các trình tự mã hóa bất kỳ được liên kết theo cách hoạt động với trình tự kiểm soát sự phiên mã. Tuy nhiên, có thể đạt được các ưu điểm khác (tức là, sự miễn dịch tăng cường và đặc hiệu kháng nguyên) bằng cách đưa vào chế phẩm điều biến miễn dịch ít nhất một trình tự axit nucleic (ADN hoặc ARN) mã hóa thành phần sinh miễn dịch và/hoặc xytokin. Trình tự axit nucleic mã hóa thành phần sinh miễn dịch và/hoặc xytokin như vậy có thể được đưa vào các plasmit axit nucleic sinh miễn dịch được mô tả ở đây, hoặc có thể được đưa vào axit nucleic riêng rẽ (ví dụ, plasmit riêng rẽ) trong chế phẩm.

Theo một số phương án về các chế phẩm điều biến miễn dịch được mô tả ở đây, chế phẩm điều biến miễn dịch chứa chất dẫn phân phối liposom và ít nhất một trong số các plasmid axit nucleic sinh miễn dịch được mô tả ở đây. Các chế phẩm điều biến miễn dịch thích hợp được mô tả trong công bố đơn sáng chế Mỹ số 2012/0064151 A1 và 2013/0295167 A1, toàn bộ nội dung của các tài liệu này được đưa vào bằng cách viện dẫn.

Chất dẫn phân phối liposom thích hợp chứa chế phẩm lipid mà có khả năng phân phối các phân tử axit nucleic đến các mô của đối tượng được điều trị. Theo một số phương án, chất dẫn phân phối liposom có thể có khả năng duy trì ổn định ở đối tượng trong khoảng thời gian đủ để phân phối phân tử axit nucleic và/hoặc tác nhân sinh học. Ví dụ, chất dẫn phân phối liposom ổn định ở đối tượng nhận trong ít nhất khoảng năm phút, trong ít nhất khoảng 1 giờ, hoặc trong ít nhất khoảng 24 giờ.

Chất dẫn phân phối liposom như được mô tả ở đây chứa chế phẩm lipid mà có khả năng dung hợp với màng sinh chất của tế bào để phân phối phân tử axit nucleic vào tế bào. Khi phân tử axit nucleic mã hóa một hoặc nhiều protein, phức axit nucleic : liposom, theo một số khía cạnh, có hiệu suất chuyển nhiễm ít nhất khoảng 1 picogram (pg) protein được biểu hiện trên milligram (mg) tổng protein mô trên microgam (μ g) axit nucleic được phân phối. Ví dụ, hiệu suất chuyển nhiễm của phức axit nucleic : liposom có thể ít nhất khoảng 10 pg protein được biểu hiện trên mg tổng protein mô trên μ g axit nucleic được phân phối; hoặc ít nhất khoảng 50 pg protein được biểu hiện trên mg tổng protein mô trên μ g axit nucleic được phân phối. Hiệu suất chuyển nhiễm của phức có thể thấp ở mức 1 femtogram (fg) protein được biểu hiện trên mg tổng protein mô trên μ g axit được phân phối, với những lượng nêu trên được ưu tiên hơn.

Theo một số phương án, đường kính của chất dẫn phân phối liposom theo sáng chế nằm trong khoảng từ khoảng 100 và 500 nanomet (nm). Ví dụ, đường kính của chất dẫn phân phối liposom có thể nằm trong khoảng từ 150 đến 450 nm hoặc nằm trong khoảng từ 200 đến 400 nm.

Các liposom thích hợp bao gồm liposom bất kỳ, như các liposom thường dùng trong, ví dụ, các phương pháp phân phối gen mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết. Theo một số phương án, các chất dẫn phân phối liposom chứa các lipid dạng nang nhiều lớp (multilamellar vesicle - MLV), các lipid ép đùn, hoặc cả hai loại

này. Theo một số khía cạnh, chất dẫn phân phối liposom là cation. Phương pháp tạo ra các MLV đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Theo một số khía cạnh, các chất dẫn phân phối liposom chứa các liposom có chế phẩm lipid polycation (tức là, các liposom cation) và/hoặc các liposom có khung cholesterol được liên hợp với polyetylen glycol. Các chế phẩm liposom cation bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTMA) và cholesterol, N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTAP) và cholesterol, 1-[2-(oleoyloxy)ethyl]-2-oleyl-3-(2-hydroxyethyl)-imidazolium clorua (DOTIM) và cholesterol, dimetyldioctadexylamonium bromua (DDAB) và cholesterol, và tổ hợp của chúng. Theo một số khía cạnh, chất dẫn phân phối liposom chứa các cặp lipid được chọn từ nhóm gồm N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTMA) và cholesterol; N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTAP) và cholesterol; 1-[2-(oleoyloxy)ethyl]-2-oleyl-3-(2-hydroxyethyl)imidazolium clorua (DOTIM) và cholesterol; và dimetyldioctadexylamonium bromua (DDAB) và cholesterol. Theo một số khía cạnh, chế phẩm liposom để dùng làm chất dẫn phân phối bao gồm DOTIM và cholesterol.

Việc tạo phức liposom với plasmit axit nucleic sinh miễn dịch được mô tả ở đây có thể được thực hiện bằng phương pháp chuẩn trong lĩnh vực này hoặc phương pháp được mô tả trong bằng Mỹ số 6,693,086, toàn bộ nội dung của các tài liệu này được đưa vào bằng cách viện dẫn. Nồng độ plasmit axit nucleic thích hợp để bổ sung vào liposom bao gồm nồng độ hữu hiệu để phân phối đủ lượng plasmit axit nucleic sinh miễn dịch vào đối tượng sao cho đáp ứng miễn dịch hệ thống được kích hoạt. Ví dụ, từ khoảng 0,1 µg đến khoảng 10 µg plasmit axit nucleic sinh miễn dịch có thể được kết hợp với khoảng 8 nmol liposom, từ khoảng 0,5 µg đến khoảng 5 µg plasmit axit nucleic sinh miễn dịch có thể được kết hợp với khoảng 8 nmol liposom, hoặc khoảng 1,0 µg plasmit axit nucleic sinh miễn dịch có thể được kết hợp với khoảng 8 nmol liposom. Tỷ lệ plasmit axit nucleic sinh miễn dịch so với lipid (µg plasmit axit nucleic sinh miễn dịch : nmol lipid) trong chế phẩm có thể ít nhất khoảng 1:1 plasmit axit nucleic sinh miễn dịch : lipid theo khối lượng (ví dụ, 1 µg plasmit axit nucleic sinh miễn dịch : 1 nmol lipid). Ví dụ, tỷ lệ plasmit axit nucleic sinh miễn dịch so với lipid có thể ít nhất khoảng 1:5, ít nhất khoảng 1:10, hoặc ít nhất khoảng 1:20. Tỷ lệ được biểu thị ở đây là tính theo lượng lipid trong chế phẩm, và không phải tính theo tổng lượng lipid trong chế phẩm. Tỷ lệ plasmit axit

nucleic sinh miễn dịch so với các lipit trong chế phẩm theo sáng chế thích hợp là từ khoảng 1:1 đến khoảng 1:80 plasmit axit nucleic sinh miễn dịch : lipit theo khối lượng; từ khoảng 1:2 đến khoảng 1:40 plasmit axit nucleic sinh miễn dịch : lipit theo khối lượng; từ khoảng 1:3 đến khoảng 1:30 sinh miễn dịch axit nucleic : lipit theo khối lượng; hoặc từ khoảng 1:6 đến khoảng 1:15 plasmit axit nucleic sinh miễn dịch : lipit theo khối lượng.

Nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch, nếu tăng trên ngưỡng, có thể độc tế bào. Ví lý do này, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch được dự tính trong bản mô tả là không độc tế bào, tức là ở mức dưới ngưỡng này. “Độc tế bào” như được sử dụng ở đây, chỉ trạng thái tế bào bất thường như không phát triển, chậm phát triển, hình thức hiển vi bất thường, và/hoặc giảm tính đáp ứng miễn dịch. Theo một số khía cạnh, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 đến khoảng 250 ng/ml. Theo một số khía cạnh, nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 đến khoảng 200 ng/ml. Theo một số khía cạnh, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 đến khoảng 150 ng/ml. Theo các khía cạnh khác, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 đến khoảng 100 ng/ml. Theo các khía cạnh khác nữa, nồng độ phức điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 đến khoảng 50 ng/ml. Theo các khía cạnh khác, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 250 ng/ml. Theo một số khía cạnh, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 10 và khoảng 250 ng/ml. Theo một số khía cạnh, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 50 đến khoảng 250 ng/ml. Theo một số khía cạnh, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 100 đến khoảng 250 ng/ml. Theo một số khía cạnh, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 150 đến khoảng 250 ng/ml. Theo các khía cạnh khác nữa, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 200 đến khoảng 250 ng/ml. Theo một số phương án, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch là khoảng 120 ng/ml hoặc nhỏ hơn. Theo một số khía cạnh, nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch là không độc tế bào.

Cũng được đề xuất ở đây là các dược phẩm chứa chế phẩm kích thích miễn dịch như được mô tả trên đây và chất mang dược dụng. Chế phẩm điều biến miễn dịch có thể được sử dụng trước, đồng thời, hoặc sau oligonucleotit kích thích miễn dịch. Các chất mang dược dụng dùng cho chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích

miễn dịch riêng rẽ có thể nhưng không nhất thiết là cùng loại chất mang. Chất mang được dụng là cho chế phẩm phù hợp để sử dụng theo đường dùng được chọn từ trong tĩnh mạch, trong cơ, trong vú, trong da, trong phúc mạc, dưới da, bằng cách phun, bằng sol khí, trong trứng, niêm mạc, qua da, bằng cách nhúng, đường miệng, trong nhãn cầu, trong khí quản, trong mũi, phổi, trực tràng, hoặc các đường dùng khác mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết. (Các) chất mang được dụng có thể là chất pha loãng, chất phụ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn mà chế phẩm kích thích miễn dịch, hoặc chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch được sử dụng cùng với nó. Các chất dẫn có thể là chất lỏng, như nước và dầu, bao gồm dầu mỡ, dầu động vật, dầu thực vật, hoặc dầu có nguồn gốc tổng hợp, như dầu lạc, dầu đậu tương, dầu khoáng, dầu vừng, và các dầu tương tự. Ví dụ, nước muối 0,4% và glyxin 0,3% có thể được sử dụng. Các dung dịch này là vô trùng và nhìn chung là không chứa vật chất dạng hạt. Chúng có thể được vô trùng bằng các kỹ thuật vô trùng thông thường đã biết rõ (ví dụ, lọc). Các chế phẩm này có thể chứa các chất phụ trợ được dụng khi có yêu cầu để đạt gần đến các điều kiện sinh lý như điều chỉnh độ pH và các chất đệm, làm ổn định, làm đặc, làm trơn, và các chất tạo màu, v.v. Nồng độ của các phân tử theo sáng chế trong được phẩm như vậy có thể thay đổi trong khoảng rộng, tức là thường từ nhỏ hơn khoảng 0,5%, thường ít nhất khoảng 1% đến mức cao 15 hoặc 20% khối lượng và sẽ được lựa chọn chủ yếu dựa trên liều yêu cầu, thể tích chất lỏng, độ nhớt, v.v., theo đường dùng cụ thể được lựa chọn. Các chất dẫn và chế phẩm thích hợp, bao gồm các protein người khác, ví dụ, albumin huyết thanh người, được mô tả, ví dụ, trong tài liệu chẳng hạn Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092, (cụ thể, xem các trang 958-989).

Bản mô tả cũng đề xuất các phương pháp bào chế chế phẩm kích thích miễn dịch, được mô tả trên đây, bao gồm bước kết hợp chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch, để tạo ra chế phẩm kích thích miễn dịch; ly tâm chế phẩm kích thích miễn dịch này để tạo ra dịch nổi và phần kết viên; và tách phần kết viên.

Việc ly tâm chế phẩm kích thích miễn dịch sẽ làm lắng đọng chế phẩm kích thích miễn dịch. Bước tách phần kết viên có thể được thực hiện bằng cách rót phần dịch nổi ra, hút phần dịch nổi ra bằng pipet, hoặc lấy phần dịch nổi ra bằng các phương tiện khác

miễn là còn lại phần kết viên. Cũng dự tính rằng một số phần kết viên sẽ mất đi trong quá trình lấy phần dịch nổi ra. Tương tự, một số chế phẩm kích thích miễn dịch có thể còn lại trong phần dịch nổi ngay cả sau khi ly tâm. Trong tình huống như vậy, phần dịch nổi có thể giữ được các đặc tính kích thích miễn dịch. Nếu hoạt tính kích thích miễn dịch là nhờ sự có mặt của chế phẩm kích thích miễn dịch còn lại trong phần dịch nổi nhưng cần phải có gần như toàn bộ chế phẩm kích thích miễn dịch trong phần kết viên, cần sử dụng tốc độ ly tâm cao hơn. Ví dụ, nếu phần dịch nổi chứa chế phẩm kích thích miễn dịch sau khi ly tâm ở 8.000 vòng/phút, việc tăng tốc độ ly tâm đến 14.000 vòng/phút có thể giảm bớt phần chế phẩm kích thích miễn dịch còn lại.

Bản mô tả cũng đề xuất phương pháp kích thích thụ thể giống toll 21 (TLR21) bao gồm bước cho sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch, và trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmid axit nucleic không mã hóa và chất dẫn phân phối lipid cation.

Oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch có thể được sử dụng theo đường dùng được chọn từ trong tĩnh mạch, trong cơ, trong vú, trong da, trong phúc mạc, dưới da, bằng cách phun, bằng sol khí, trong trứng, niêm mạc, qua da, bằng cách nhúng, đường miệng, trong nhãn cầu, trong khí quản, trong mũi, phổi, trực tràng, hoặc đường dùng khác mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết. Theo một số khía cạnh, chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch có mặt với lượng có tác dụng cách hiệp đồng. Việc sử dụng chế phẩm kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch có thể là lần lượt hoặc đồng thời.

Nồng độ chế phẩm điều biến miễn dịch có thể độc tế bào khi lớn hơn 250 $\mu\text{g/ml}$, và sự độc tế bào này có thể bù trừ với tác dụng kích thích miễn dịch bất kỳ của chất điều biến miễn dịch. Theo một số khía cạnh trong bản mô tả, nồng độ chất điều biến miễn dịch là khoảng 200 $\mu\text{g/ml}$. Với việc sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch, mức độc tế bào là không quan sát thấy ở khoảng 10 μM hoặc thấp hơn. Ngay cả các nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch cao hơn cũng có thể được dung nạp bởi đối tượng sử dụng. Theo một số khía cạnh trong bản mô tả, nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 10 μM đến 0,5 μM . Theo một số khía cạnh nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch là khoảng 2 μM , và theo một số khía cạnh, nồng độ

chế phẩm điều biến miễn dịch là lớn hơn nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch. Vì độc tế bào là yếu tố hạn chế đối với việc sử dụng chế phẩm điều biến miễn dịch, theo một số khía cạnh, chế phẩm điều biến miễn dịch có mặt với lượng không độc tế bào.

Theo từng khía cạnh về phương pháp được trình bày trong bản mô tả, chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch có thể là phương án hoặc khía cạnh bất kỳ như được mô tả trên đây.

Các phương pháp kích hoạt đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bao gồm việc cho sử dụng chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ được mô tả ở đây cũng được đề xuất. Các phương án trong bản mô tả bao gồm phương pháp kích hoạt đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bao gồm bước cho sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch được mô tả ở đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được đưa ra để mô tả thêm một số phương án được bộc lộ trong bản mô tả. Các ví dụ này được dự định để minh họa và không nhằm giới hạn các phương án được bộc lộ.

Chế phẩm điều biến miễn dịch được sử dụng trong các ví dụ sau là chế phẩm chứa lipit cation (DOTIM và cholesterol) và ADN không mã hóa (pMB75.6) (SEQ ID NO: 266). Các thành phần lipit cation là [1-[2-[9-(Z)-octadexeno-yloxy]]-2-[8](Z)-heptadexenyl]-3-[hydroxyetyl]imidazoloni clorua (DOTIM) và cholesterol lipit trung tính tổng hợp, được bào chế để tạo ra liposom có đường kính khoảng 200 nm (xem, U.S. Pat. No. 6,693,086). Thành phần ADN không mã hóa là ADN plasmit không mã hóa gồm 4292 cặp bazơ (pMB75.6) (SEQ ID NO: 266) được tạo ra trong E. coli, mang điện tích âm, có liên quan đến các liposom mang điện tích dương (cation) (xem, U.S. Pat. No. 6,693,086). Trong các ví dụ, thuật ngữ “plasmit axit nucleic kích thích miễn dịch” chỉ pMB75.6.

Ví dụ 1: Kết hợp các oligodeoxynucleotit hoạt hóa TLR21 với chế phẩm điều biến miễn dịch

Hoạt tính của chế phẩm điều biến miễn dịch trên TLR21 được nghiên cứu. Cụ thể, các tế bào HEK293-NFκB-bsd-cTLR21 được cấy vào các đĩa 384 giếng với mật độ 10.000 tế bào/giếng trong 45 μl môi trường sinh trưởng. Các tế bào này được cho tiếp

xúc với oligonucleotit được hòa tan trong môi trường sinh trưởng và ủ ở 37° trong 3-4 ngày. 10 µl dịch nuôi cấy nổi trong mỗi giếng được chuyển sang đĩa 384 giếng và 90 µl NaHCO₃/Na₂CO₃ 50 mM, MgCl₂ 2 mM, *para*-nitrophenylphosphat (pNP) 5mM độ pH=9,6 được bổ sung vào và tốc độ phản ứng được xác định bằng phương pháp động học đo các thay đổi theo thời gian của mật độ quang ở 405nm (mOD405nm/phút).

Plasmit axit nucleic kích thích miễn dịch đơn độc đã chứng tỏ là không hoạt động trong khoảng nồng độ được xem xét (2 µg/ml và thấp hơn), trong khi đó plasmit axit nucleic kích thích miễn dịch được bào chế thành liposom (pADN-F) thể hiện tín hiệu yếu những rõ ràng với đường cong dạng hình chuông, điều này cho thấy tương tác của nó với TLR21 (FIG. 2A). Tuy nhiên, hoạt tính kích thích TLR21 này có độ lớn thấp hơn vài lần so với 5-Chol-GCGT3-TG4T (SEQ ID NO: 1) (FIG. 2A và FIG. 2B), phối tử oligonucleotit được tối ưu hóa để tương tác với thụ thể này.

Bảng 2: Các trình tự ODN

Oligonucleotit kích thích miễn dịch	SEQ ID NO	Trình tự
5Chol-GCGT3-TG4T (ODN1)	SEQ ID NO: 1	XTGGGGTTTTTTTTTGC GTTTTTGC GTTTTTGC GTTTTT X = 5'-Cholesteryl
GCGT3-TG4T (ODN2)	SEQ ID NO: 252	TGGGGTTTTTTTTTGC GTTTTTGC GTTTTTGC GTTTTT
2006-PTO (ODN3)	SEQ ID NO: 3	tcgtcgttttgcgttttgcgtt

Hoạt tính của chế phẩm điều biến miễn dịch pADN-F trên TLR21 cho thấy rằng thụ thể này thực tế có thể là thành phần trong hoạt động *in vivo* của chế phẩm điều biến miễn dịch, nhưng vì chế phẩm điều biến miễn dịch là phối tử hơi yếu cho TLR21, thụ thể này không thể là thụ thể có cùng nguồn gốc duy nhất và chiếm ưu thế.

Ví dụ 2: Kết hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T với plasmit axit nucleic kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch

Các dung dịch nồng độ 200 µg/ml của plasmit axit nucleic kích thích miễn dịch đơn độc và chế phẩm điều biến miễn dịch và các dung dịch nồng độ 2 µM của 5-Chol-GCGT3-TG4T được điều chế và ủ trong 2 giờ ở 4°C. Sau đó, từ dung dịch này, các thể pha loãng hàng loạt 1:2 được điều chế và sử dụng trên tế bào HEK293-bsd-cTLR21 bắt đầu từ nồng độ plasmit 20 nM (và nồng độ plasmit 2 µg/ml) theo quy trình trong ví dụ

1 và so sánh với mẫu chỉ chứa 5-Chol-GCGT3-TG4T. Tất cả các mẫu thể hiện hoạt tính kích thích TLR21 mạnh, chỉ có một mẫu thể hiện các giá trị đỉnh hơi cao hơn và EC_{50} là 2,44 pM (FIG. 3A, Bảng 3). Trừ việc thể hiện V_{max} hơi thấp hơn, tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T và plasmit axit nucleic kích thích miễn dịch, mà bản thân nó là toàn toàn bất hoạt, dẫn đến thay đổi nhỏ về EC_{50} , so với 5-Chol-GCGT3-TG4T đơn độc (2,11 pM) (FIG. 3A, Bảng 3). Trái lại, mẫu chứa liposom (oligonucleotit kích thích miễn dịch 5-Chol-GCGT3-TG4T và chế phẩm điều biến miễn dịch) thể hiện hoạt tính tối đa và sự giảm mạnh tín hiệu ở nồng độ cao hơn, (FIG. 3A). Tuy nhiên, nghiên cứu sâu hơn ở các nồng độ thấp (pM) cho thấy hoạt tính xác định phù hợp với EC_{50} theo tính toán là 1,04 pM (FIG. 3B, Bảng 3). Ở khoảng nồng độ này, chế phẩm điều biến miễn dịch cũng hoàn toàn bất hoạt (FIG. 3B) và bản thân nó không chịu trách nhiệm cho EC_{50} thấp hơn.

Bảng 3: Nồng độ hữu hiệu bán tối đa (EC_{50}) và tốc độ tín hiệu tối đa (V_{max})

Chất kích thích miễn dịch	EC_{50} (pM)	V_{max} milliOD 405nm/phút (mOD405/phút)
5-Chol-GCGT3-TG4T	2,44	338
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN	2,11	260
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F	1,04	254

Kết quả cho thấy rằng việc kết hợp ODN kích thích TLR21 5-Chol-GCGT3-TG4T và các nồng độ không độc tế bào của plasmit axit nucleic kích thích miễn dịch hoặc chế phẩm điều biến miễn dịch tạo ra các hỗn hợp hoạt tính. Hơn nữa, tổ hợp ODN kích thích TLR21 5-Chol-GCGT3-TG4T và chế phẩm điều biến miễn dịch có tác dụng hiệp đồng về EC_{50} trong khả năng hoạt hóa TLR21.

Ví dụ 3: Ly tâm chế phẩm điều biến miễn dịch và hoạt tính TLR21

Dung dịch chế phẩm điều biến miễn dịch với nồng độ plasmit 200 µg/ml được ly tâm trong 2 giờ ở 4°C trong máy ly tâm để bàn Eppendorf ở 14.000 vòng/phút ở 4°C. Để so sánh, phần phân ước không ly tâm được bảo quản ở 4°C trong 2 giờ. Phần dịch nổi được lấy ra và bảo quản, trong khi phần kết viên được tạo huyền phù lại trong thể tích tương đương. Các dung dịch chuẩn độ bắt đầu từ hàm lượng plasmit 2 mg/ml được điều chế để dùng trong thử nghiệm TLR21 như được mô tả trong ví dụ 1, vì đã xác định

trước đó rằng chế phẩm điều biến miễn dịch có một số hoạt tính kích thích TLR21 yếu (xem ví dụ 1).

Việc ly tâm chế phẩm điều biến miễn dịch tạo ra phần kết viên có tạo huyền phù lại bằng pipet. Toàn bộ hoạt tính kích thích TLR21 của chế phẩm điều biến miễn dịch được phát hiện trong phần kết viên sau khi ly tâm, và phần dịch nổi không có hoạt tính TLR21 (FIG. 4). Các liposom được tạo huyền phù lại thể hiện EC_{50} đối với khả năng kích thích TLR21 cao hơn so với các liposom được bảo quản ở 4°C. Tác dụng này có thể là do các thay đổi trong liposom sau khi ly tâm (ví dụ, tạo huyền phù lại/phân tán không hoàn toàn).

Ví dụ 4: Kết hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T với chế phẩm điều biến miễn dịch

Dung dịch chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T có nồng độ plasmit 200 µg/ml và 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM được điều chế. Dung dịch 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM cũng được điều chế. Cả hai mẫu được ủ trong 2 giờ ở 4°C. Các phần phân ước 100 µl của những dung dịch này được ly tâm trong thiết bị ly tâm để bàn Eppendorf ở 14.000 vòng/phút ở 4°C trong 2 giờ để sử dụng trong ví dụ 5, trong khi đó phần còn lại của mẫu ủ được bảo quản ở 4°C để phân tích theo ví dụ 4 này. Cả hai mẫu thể hiện hoạt tính kích thích TLR21 tiềm năng, nhưng tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T thể hiện tín hiệu giảm mạnh ở nồng độ cao hơn (FIG. 5A), nhiều khả năng là hệ quả của tính độc tế bào của chất điều biến miễn dịch. Các giá trị V_{max} tương ứng là tương tự khi thành phần chế phẩm điều biến miễn dịch của mẫu được xem xét ở nồng độ có độc tính thấp (FIG. 5B, Bảng 4). Tuy nhiên, EC_{50} theo tính toán của tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T là thấp hơn 4 lần so với của 5-Chol-GCGT3-TG4T đơn độc (FIG. 5B, Bảng 4).

Bảng 4: Nồng độ hữu hiệu bán tối đa (EC_{50}) và tốc độ tín hiệu cực đại (V_{max})

Chất kích thích miễn dịch	EC_{50} (pM)	V_{max} milliOD 405nm/phút (mOD405/phút)
5-Chol-GCGT3-TG4T	3,2	158
5-Chol-GCGT3-TG4T (phần dịch nổi ly tâm)	2,5	160
5-Chol-GCGT3-TG4T (phần kết viên ly tâm)	819	184

Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F	0,62	160
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F (phần dịch nổi ly tâm)	5145	184
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F (phần kết viên ly tâm)	1,81	140

Ví dụ 5: Ly tâm chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T và 5-Chol-GCGT3-TG4T

Dung dịch chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T có nồng độ plasmid 200 µg/ml và 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM được điều chế. Dung dịch 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM cũng được điều chế. Cả hai mẫu được ủ trong 2 giờ ở 4°C. các phần phân ước 100 µl của những dung dịch này được ly tâm trong thiết bị ly tâm để bàn Eppendorf ở 14.000 vòng/phút ở 4°C trong 2 giờ. Phần dịch nổi được lấy ra và bảo quản, trong khi đó phần kết viên được tạo huyền phù lại trong 100 µl. Sau đó, từ những dung dịch này, các thể pha loãng hàng loạt 1:2 được chuẩn bị và được sử dụng cho tế bào HEK293-bsd-cTLR21 bắt đầu ở nồng độ plasmid 20 nM (và nồng độ plasmid 2 µg/ml) và so sánh với mẫu chỉ chứa 5-Chol-GCGT3-TG4T.

Việc ly tâm tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T tạo ra phần kết viên nhìn thấy rõ ràng, trong khi không quan sát thấy phần kết viên rõ rệt đối với 5-Chol-GCGT3-TG4T. Phần kết viên của tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T (“phần kết viên pADN-F 5Chol”) khó tạo huyền phù lại, nhưng trong thử nghiệm TLR21 được mô tả trong ví dụ 1, nó chứa hầu như toàn bộ hoạt tính kích thích (FIG. 6A và FIG. 6B), và chỉ phát hiện được vết trong phần dịch nổi (“phần dịch nổi pADN-F 5Chol”) (FIG. 6B, Bảng 4), mặc dù có EC₅₀ cao hơn so với mẫu gốc (“pADN-f F-Chol-GCGT3-TG4T”) (Bảng 4). Kết quả này cho thấy rằng sau khi trộn với chế phẩm điều biến miễn dịch, 5-Chol-GCGT3-TG4T có liên quan về mặt vật lý định lượng với phân đoạn liposom. 5-Chol-GCGT3-TG4T đơn độc, mà khi được ly tâm, hầu hết chỉ giữ lại (theo ước tính là 99%, Bảng 4) trong phần dịch nổi, như đã dự tính từ hợp chất hòa tan (FIG. 7A và FIG. 7B).

Ví dụ 6: Kết hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T và chế phẩm chất điều biến miễn dịch

Chế phẩm kích thích miễn dịch với nồng độ plasmid 200 µg/ml và 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM được điều chế. Dung dịch 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM cũng được điều chế. Cả hai mẫu được ủ trong 2 giờ ở 4°C. Các phần phân ước 100 µl của những

dung dịch này được ly tâm trong thiết bị ly tâm để bàn Eppendorf ở 14.000 vòng/phút ở 4°C trong 2 giờ để dùng trong ví dụ 7, trong khi đó phần còn lại của mẫu ủ được bảo quản ở 4°C để phân tích theo ví dụ 6 này. Phần dịch nổi được lấy ra và bảo quản, trong khi phần kết viên được tạo huyền phù lại trong 200 µl. Sau đó, từ những dung dịch này, các thể pha loãng hàng loạt 1:2 được chuẩn bị và sử dụng cho tế bào HEK293-bsd-cTLR21 để phân tích TLR21 theo quy trình trong ví dụ 1. Nồng độ plasmit ban đầu là 20 nM (và nồng độ plasmit 2 µg/ml) và so sánh với mẫu chỉ chứa 5-Chol-GCGT3-TG4T.

Cả hai mẫu (“5-Chol-GCGT3-TG4T” và “pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) thể hiện hoạt tính kích thích TLR21, nhưng tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) thể hiện tín hiệu giảm mạnh ở nồng độ cao hơn (FIG. 8A), nhiều khả năng là hệ quả của tính độc tế bào của chế phẩm chất điều biến miễn dịch. Các giá trị V_{max} tương ứng là rất tương tự khi hoạt tính kích thích của mẫu chứa chế phẩm chất điều biến miễn dịch được xem xét ở nồng độ có độc tính thấp (FIG. 8B, Bảng 5). Tuy nhiên, EC_{50} theo tính toán của tổ hợp chế phẩm chất điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T thấp hơn 2 lần so với của 5-Chol-GCGT3-TG4T (“5-Chol-GCGT3-TG4T”) đơn độc (FIG. 8B, Bảng 5).

Bảng 5: Nồng độ hữu hiệu bán tối đa (EC_{50}) và tốc độ tín hiệu cực đại (V_{max})

Chất kích thích miễn dịch	EC_{50} picomol/lít (pM)	V_{max} milliOD 405nm/phút (mOD405/phút)
5-Chol-GCGT3-TG4T	2,2	120
5-Chol-GCGT3-TG4T (phần dịch nổi ly tâm)	2,7	153
5-Chol-GCGT3-TG4T (phần kết viên ly tâm)	530	139
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F	0,94	113
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F (phần dịch nổi ly tâm)	14983	224
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F (phần kết viên ly tâm)	8,96	116

Ví dụ 7: Ly tâm chế phẩm chất điều biến miễn dịch /5-Chol-GCGT3-TG4T và 5-Chol-GCGT3-TG4T

Việc ly tâm tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T tạo ra phần kết viên nhìn thấy rõ ràng, trong khi không quan sát thấy phần kết viên rõ rệt đối với 5-Chol-GCGT3-TG4T. Phần kết viên của tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T khó tạo huyền phù lại, nhưng trong thử nghiệm TLR21 như được mô tả trong ví dụ 1, nó (“phần kết viên pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) chứa hầu như toàn bộ hoạt tính kích thích (FIG. 9B), mặc dù có EC₅₀ cao hơn với mẫu gốc (Bảng 5)), và chỉ phát hiện được vết trong phần dịch nổi (“phần dịch nổi pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) (FIG. 9B, Bảng 5). Điều này cho thấy rằng sau khi trộn với chế phẩm chất điều biến miễn dịch, 5-Chol-GCGT3-TG4T có liên quan về mặt vật lý với phân đoạn liposom. Cả hai phân đoạn được so sánh với chế phẩm chất điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) không ly tâm.

Ví dụ 8: Kết hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T với chế phẩm chất điều biến miễn dịch

Dung dịch chế phẩm điều biến miễn dịch solution có nồng độ plasmit 200 µg/ml và 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM được điều chế. Mẫu 5-Chol-GCGT3-TG4T 2 µM cũng được điều chế. Cả hai mẫu được ủ trong 2 giờ ở 4°C. Các phần phân ước 100 µl của những dung dịch này được ly tâm trong thiết bị ly tâm để bàn Eppendorf ở 14.000 vòng/phút ở 4°C trong 2 giờ để dùng trong ví dụ 9, trong khi đó phần còn lại của mẫu ủ được bảo quản ở 4°C để phân tích theo ví dụ 8 này. Phần dịch nổi được lấy ra và bảo quản, trong khi phần kết viên được tạo huyền phù lại trong 100 µl. Sau đó, từ những dung dịch này, các thể pha loãng hàng loạt 1:2 được chuẩn bị và sử dụng cho tế bào HEK293-bsd-cTLR21 theo quy trình của ví dụ 1, bắt đầu ở nồng độ plasmit 20 nM (và nồng độ plasmit 2 µg/ml) và so sánh với mẫu chỉ chứa 5-Chol-GCGT3-TG4T.

Cả hai mẫu thể hiện hoạt tính kích thích TLR21 tiềm tàng, nhưng tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T/chế phẩm chất điều biến miễn dịch (“pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) thể hiện tín hiệu giảm mạnh ở nồng độ cao hơn (FIG. 10A), tương tự như của bản thân chất điều biến miễn dịch (“pADN-F”) và nhiều khả năng là hệ quả của tính độc tế bào của chế phẩm chất điều biến miễn dịch. Oligonucleotit kích thích miễn dịch (“5-Chol-GCGT3-TG4T”) thể hiện hoạt tính kích thích lớn hơn ở nồng độ cao hơn so với từng mẫu chứa chế phẩm điều biến miễn dịch. Các giá trị V_{max} tương ứng là rất tương tự khi

hoạt tính kích thích của thành phần chế phẩm chất điều biến miễn dịch của mẫu được xem xét ở nồng độ có độc tính thấp (FIG. 10B, Bảng 6). Tuy nhiên, EC_{50} theo tính toán của tổ hợp chế phẩm chất điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T (“pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) thấp hơn 4 lần so với của 5-Chol-GCGT3-TG4T đơn độc (“5-Chol-GCGT3-TG4T”) (FIG. 10B, Bảng 6). Chế phẩm điều biến miễn dịch đơn độc (“Bay 98-F”) chỉ thể hiện hoạt tính tối thiểu mà tác dụng cộng tính của nó không giải thích được cho hoạt tính gia tăng của chế phẩm chất điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T so với 5-Chol-GCGT3-TG4T đơn độc.

Bảng 6: Nồng độ hữu hiệu bán tối đa (EC_{50}) và tốc độ tín hiệu cực đại (V_{max}):

Chất kích thích miễn dịch	EC_{50} picomol/lít (pM)	V_{max} milliOD 405nm/phút (mOD405/phút)
5-Chol-GCGT3-TG4T	2,47	53
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F	0,59	51
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F (phần dịch nổi ly tâm)	22,0	47
Tổ hợp 5-Chol-GCGT3-TG4T-pADN-F (phần kết viên ly tâm)	1,06	47

Ví dụ 9: Ly tâm chế phẩm chất điều biến miễn dịch

Việc ly tâm tổ hợp chế phẩm chất điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T tạo ra phần kết viên nhìn thấy rõ ràng, trong khi đó đối với 5-Chol-GCGT3-TG4T, không quan sát thấy phần kết viên rõ rệt. Phần kết viên của tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/5-Chol-GCGT3-TG4T (“phần kết viên pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) khó tạo huyền phù, nhưng trong thử nghiệm TLR21 như được mô tả trong ví dụ 1, nó chứa > 95% hoạt tính kích thích (FIG. 11B), mặc dù có EC_{50} cao hơn so với mẫu ban đầu, chỉ với phân đoạn nhỏ (< 5%) được phát hiện trong phần dịch nổi (“phần dịch nổi pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) (FIG. 11B, Bảng 6) và chỉ thấp hơn so với mẫu không ly tâm ở nồng độ chế phẩm chất điều biến miễn dịch (“pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) thấp. Điều này cho thấy rằng sau khi trộn với chế phẩm chất điều biến miễn dịch, 5-Chol-GCGT3-TG4T có liên quan về mặt vật lý định lượng với phần đoạn liposom.

Ví dụ 10: Kết hợp GCGT3-TG4T với chế phẩm chất điều biến miễn dịch

Dung dịch chế phẩm điều biến miễn dịch có nồng độ plasmit 200 $\mu\text{g/ml}$ và GCGT3-TG4T (SEQ ID NO: 252; cùng trình tự oligonucleotit với 5-Chol- GCGT3-TG4T (SEQ ID NO: 1) những không có cải biến cholesteryl) 2 μM được điều chế. Tương tự, mẫu GCGT3-TG4T 2 μM được điều chế, và cả hai mẫu được ủ trong 2 giờ ở 4°C. Các phần phân ước 100 μl của những dung dịch này được ly tâm trong thiết bị ly tâm để bàn Eppendorf ở 14.000 vòng/phút ở 4°C trong 2 giờ để dùng trong ví dụ 11, trong khi đó phần còn lại của mẫu ủ được bảo quản ở 4°C để phân tích theo ví dụ 10. Phần dịch nổi được lấy ra và bảo quản, trong khi đó phần kết viên được tạo huyền phù lại trong 100 μl . Sau đó, từ những dung dịch này, các thể pha loãng hàng loạt 1:2 được chuẩn bị và sử dụng cho tế bào HEK293-bsd-cTLR21 theo quy trình trong ví dụ 1, bắt đầu ở nồng độ plasmit 20 nM (và nồng độ plasmit 2 $\mu\text{g/ml}$) và so sánh với mẫu chỉ chứa GCGT3-TG4T.

Cả hai mẫu thể hiện hoạt tính kích thích TLR21 tiềm tàng, nhưng tổ hợp GCGT3-TG4T/chế phẩm chất điều biến miễn dịch (“pADN-F/5-Chol-GCGT3-TG4T”) thể hiện tín hiệu giảm mạnh ở nồng độ cao hơn (FIG. 12A), nhiều khả năng là hệ quả của tính độc tế bào của chế phẩm chất điều biến miễn dịch. Các giá trị V_{max} tương ứng rất tương tự, khi hoạt tính kích thích thành phần chế phẩm chất điều biến miễn dịch của mẫu được xem xét ở nồng độ có độc tính thấp (FIG. 12B, Bảng 7). Tuy nhiên, EC_{50} theo tính toán của tổ hợp chế phẩm chất điều biến miễn dịch/GCGT3-TG4T thấp hơn 4 lần so với của GCGT3-TG4T đơn độc (Bảng 7). Chế phẩm điều biến miễn dịch đơn độc (“pADN-F”) chỉ thể hiện hoạt tính tối thiểu mà tác dụng cộng tính của nó không thể giải thích hoạt tính gia tăng của chế phẩm chất điều biến miễn dịch/GCGT3-TG4T so với GCGT3-TG4T đơn độc.

Bảng 7: Nồng độ hữu hiệu bán tối đa (EC_{50}) và tốc độ tín hiệu cực đại (V_{max})

Chất kích thích miễn dịch	EC_{50} picomol/lít (pM)	V_{max} milliOD 405nm/phút (mOD405/phút)
GCGT3-TG4T	324	56
Tổ hợp GCGT3-TG4T-pADN-F	69,4	51
Tổ hợp GCGT3-TG4T-pADN-F (phần dịch nổi ly tâm)	860	43
Tổ hợp GCGT3-TG4T-pADN-F (phần kết viên ly tâm)	252	36

Ví dụ 11: Ly tâm chế phẩm chất điều biến miễn dịch/GCGT3-TG4T

Việc ly tâm tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/GCGT3-TG4T tạo ra phần kết viên nhìn thấy rõ ràng. Phần kết viên của tổ hợp chế phẩm điều biến miễn dịch/GCGT3-TG4T khó tạo huyền phù lại, nhưng trong thử nghiệm TLR21 như được mô tả trong ví dụ 1, nó (“pADN-F/GCGT3-TG4T Phần kết viên”) chứa hoạt tính kích thích cao hơn > 3 lần (FIG. 13B), mặc dù có EC₅₀ cao hơn so với mẫu ban đầu (“pADN-F/GCGT3-TG4T”) so với phần dịch nổi (“phần dịch nổi pADN-F/GCGT3-TG4T”) (FIG. 13B, Bảng 7). Điều này cho thấy rằng sau khi trộn với chế phẩm chất điều biến miễn dịch, GCGT3-TG4T có liên quan về mặt vật lý định lượng với phân đoạn liposom, mặc dù có thể không hiệu quả như 5-Chol- GCGT3-TG4T được tạo dẫn xuất cholesteryl.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ thấy rằng một số thay đổi và cải biến có thể được thực hiện đối với các phương án ưu tiên của sáng chế và các thay đổi và cải biến như vậy có thể được thực hiện mà không vượt ra khỏi tinh thần của sáng chế. Do đó, dự định rằng các yêu cầu bảo hộ kèm theo bao gồm các thay đổi như vậy như nằm trong tinh thần và phạm vi thực sự của sáng chế.

Phần bội dung bộc lộ của các bằng sáng chế, đơn sáng chế, và công bố được viện dẫn hoặc mô tả trong tài liệu này toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Ví dụ 12: Nghiên cứu *in vivo* về hiệu lực của các chất kích thích miễn dịch trong mô hình chủng ngừa bệnh Newcastle ở gà

Để xác định mức độ thích hợp và hiệu lực của ODN1, ODN2, và ODN3 dưới dạng chất kích thích miễn dịch, từng chất này được thử nghiệm ở ba nồng độ khác nhau.

Các chất kích thích miễn dịch sau đây được nghiên cứu:

ODN1: [CholTEG]-
TGGGGTTTTTTTTGCGTTTTTGCGTTTTTGCGTTTT (“5Chol-GCGT3-

TG4T”) (SEQ ID NO: 1) ([CholTEG]=cải biến cholesteryl liên kết triethylenglycol ở đầu 5’),

ODN2: TGGGGTTTTTTTTTGC GTTTTTGC GTTTTTGC GTTTTT
 (“GCGT3-TG4T”) (SEQ ID NO: 252),

ODN3: tcgtcgttttgtcgttttgtcgtt (“2006-PTO”) (SEQ ID NO: 3).

Từng chất kích thích miễn dịch được bổ sung vào nhu tương dầu chứa nồng độ dưới tối ưu của virus gây bệnh Newcastle (NDV) đã bất hoạt theo bảng 9. Để điều chế vaccin NDV dưới tối ưu, mề kháng nguyên NDV được pha loãng 50 lần trong dịch niệu nang âm tính NDV (AF). Hiệu lực của ODN1, ODN2, và ODN3 kết hợp với liều dưới tối ưu của vaccin phòng bệnh Newcastle được thử nghiệm ở gà đẻ trứng SPF (Leghorn). Đáp ứng huyết thanh được xác định và so sánh với vaccin NDV dưới tối ưu tương tự nhưng không chứa chất kích thích miễn dịch. Hiệu giá kháng thể được các định ở các thời điểm khác nhau sau khi chủng ngừa để tìm hiểu xem việc bổ sung chất kích thích miễn dịch có dẫn đến đáp ứng miễn dịch sớm hơn hay không. Để xác định liều tối ưu nhất của ba ODN, từng ODN được bổ sung với ba liều khác nhau 100 ng, 1000 ng và 5000 ng vào vaccin NDV dưới tối ưu, tạo ra chín nhóm chất kích thích miễn dịch. Ngoài chín nhóm chất kích thích miễn dịch, năm nhóm đối chứng được đưa vào thử nghiệm này, bao gồm nhóm vaccin NDV dưới tối ưu không chứa chất kích thích miễn dịch, nhóm vaccin NDV không pha loãng, nhóm đối chứng âm (chất kích thích miễn dịch kết hợp với chất phụ trợ) và hai nhóm đối chứng dương với polyinosinic : axit polyxytidylic (poly I:C) với hai nồng độ khác nhau (**Bảng 8**).

Các thông số sau đây được thử nghiệm: độ tuổi của gà (dữ liệu không được thể hiện) và huyết thanh học bằng thử nghiệm ức chế sự ngưng kết hồng cầu (HI).

Bảng 8: Thiết kế thử nghiệm

<u>Đối tượng thử nghiệm / Đối chứng</u>	Nhóm thử nghiệm	Số lượng (n)
<u>NDV dưới tối ưu+ ODN1 100ng</u>	T01	10
<u>NDV dưới tối ưu+ ODN1 1000 ng</u>	T02	10
<u>NDV dưới tối ưu+ ODN1 5000 ng</u>	T03	10
<u>NDV dưới tối ưu+ ODN2 100 ng</u>	T04	10
<u>NDV dưới tối ưu+ ODN2 1000 ng</u>	T05	10

NDV dưới tối ưu+ ODN2 5000 ng	T06	10
NDV dưới tối ưu+ ODN3 100 ng	T07	10
NDV dưới tối ưu+ ODN3 1000 ng	T08	10
NDV dưới tối ưu+ ODN3 5000 ng	T09	10
NDV dưới tối ưu	T10	10
NDV tối ưu (vaccine không pha loãng)	T11	10
ODN1 5000 ng + Chất phụ trợ*	T12a	3
ODN2 5000 ng + Chất phụ trợ*	T12b	3
ODN3 5000 ng + Chất phụ trợ*	T12c	3
Chất phụ trợ đơn độc (Stimune)*	T12d	1
NDV dưới tối ưu+ 10 µg Poly I:C	T13	9
NDV dưới tối ưu+ 100 µg Poly I:C	T14	9

*3 con vật được chỉ định làm đối chứng cho từng chất kích thích miễn dịch kết hợp với chất phụ trợ (Stimune). Một con vật chỉ được cho dùng chất phụ trợ.

Tất cả các con vật tham gia khi đạt 3 tuần tuổi.

Tất cả các con vật được chủng ngừa ở 5 tuần tuổi. Tất cả những lần chủng ngừa được thực hiện vào ngày 0 bằng cách tiêm trong cơ.

Việc lấy mẫu máu/huyết thanh học được thực hiện vào ngày 0 (trước khi chủng ngừa), 7, 14, và 21.

Việc chăm điểm lâm sàng tất cả các con vật được thực hiện hằng ngày.

Gà được đưa vào các nhóm điều trị T01-T14 được cho dùng đối tượng thử nghiệm hoặc đối chứng theo thiết kế thử nghiệm. Trong các nhóm T13 và T14, chín thay vì mười gà trong một nhóm được chủng ngừa do mất hai con vật trước khi thử nghiệm.

Gà được đưa vào các nhóm điều trị T01, T02, T03, T04, T05, T06, T07, T08 và T09 được chủng ngừa huyền phù NDV dưới tối ưu chứa 1 trong 3 chất kích thích miễn dịch (ODN) khác nhau, mỗi chất ở 3 nồng độ khác nhau (100, 1000, 5000 ng/liều). Để điều chế các nhũ tương nước trong dầu, huyền phù kháng nguyên NDV và chất kích thích miễn dịch (pha nước) được bào chế cùng với chất phụ trợ Stimune (pha dầu) theo tỷ lệ 4:5 (**Bảng 9**).

Bảng 9: Điều chế đối tượng thử nghiệm và đối chứng

Nhóm	Tên	Pha nước				Pha dầu		
		Mê NDV (µl)	AF âm tính (µl)	Stimune 600 ng/µl (µl)	Tổng thể tích pha	Bổ sung thể tích pha nước vào	Stimune (ml)	Tổng (ml)

					nước (ml)	Stimune (ml)		
T01	ODN1 100 ng	100	4896	4	5	4	5	9
T02	ODN1 1000 ng	100	4862	38	5	4	5	9
T03	ODN1 5000 ng	100	4712	188	5	4	5	9
T04	ODN2 100 ng	100	4896	4	5	4	5	9
T05	ODN2 1000 ng	100	4862	38	5	4	5	9
T06	ODN2 5000 ng	100	4712	188	5	4	5	9
T07	ODN3 100 ng	100	4896	4	5	4	5	9
T08	ODN3 1000 ng	100	4862	38	5	4	5	9
T09	ODN3 5000 ng	100	4712	188	5	4	5	9
T10	Vaxxin dưới tối ưu	100	4900	0	5	4	5	9
T11	Vaxxin không pha loãng	5000	0	0	5	4	5	9
T12a	ODN1 5000 ng trong Stimune	-	2887	113	3	2	2.5	4.5
T12b	ODN2 5000 ng trong Stimune	-	2887	113	3	2	2.5	4.5
T12c	ODN3 5000 ng trong Stimune	-	2887	113	3	2	2.5	4.5
T12d	Đệm pha loãng (PBS) trong Stimune	-	2887	113	3	0.8	1	1.8

T13	PolyI:C 10 µg	100	4877	23	5	4	5	9
T14	PolyI:C 100 µg	100	4675	225	5	4	5	9
Điều chế ODN thành 600 ng/µl								
		100 µM ODN (µl)		Đệm pha loãng (µl)				Thể tích dung dịch gốc 600 ng/µl (µl)
ODN1	GCGT3-TG4T- 5Chol (SEQ ID NO: 1, xem bảng 1)	204		196				400
ODN2	GCGT3-TG4T (SEQ ID NO: 252, xem bảng 1)	216		184				400
ODN3	2006-PTO (SEQ ID NO: 3, xem bảng 1)	312		88				400
Poly I:C 10 µg/µl								
		Bột đông khô (mg)		Dung dịch muối sinh lý (ml)				Thể tích dung dịch gốc 10 µg/µl (µl)
Đối chứng	Poly I:C (P0913)	10		1				1000
Lot #s:	116M4118V			#16TK5011				10 phút ở 50°C, 60 phút ở nhiệt độ trong phòng (bất cập lại)
								Bảo quản ở -20°C

Gà được chỉ định vào nhóm đối chứng T10 được chủng ngừa huyền phù NDV dưới tối ưu không chứa chất kích thích miễn dịch trong chất phụ trợ (Stimune) theo tỷ lệ 4:5.

Gà được chỉ định vào nhóm đối chứng T11 được chủng ngừa huyền phù NDV không pha loãng không chứa chất kích thích miễn dịch trong chất phụ trợ (Stimune) theo tỷ lệ 4:5.

Gà được chỉ định vào nhóm T12 được chủng ngừa chất kích thích miễn dịch 1 (3 gà), chất kích thích miễn dịch 2 (3 gà) và chất kích thích miễn dịch 3 (3 gà) trong chất phụ trợ (Stimune) theo tỷ lệ 4:5. Một con gà được chủng ngừa đệm pha loãng (riêng) trong chất phụ trợ (Stimune).

Gà được chỉ định vào các nhóm đối chứng T13 (n=9) và T14 (n=9) được chủng ngừa huyền phù NDV dưới tối ưu của NDV kết hợp với Poly I:C ở hai nồng độ (10,000 ng và 100 μ g) trong chất phụ trợ (Stimune) theo tỷ lệ 4:5.

Cho sử dụng đối tượng thử nghiệm hoặc đối chứng

Huyền phù chứa chủng NDV đã bất hoạt Ulster được bảo quản ở -70°C được rã đông và pha loãng 50 lần trong dịch niệu nang âm tính để tạo ra liều vaccin dưới tối ưu. Các chất kích thích miễn dịch được bổ sung vào theo thiết kế thử nghiệm. Các pha nước thu được được trộn với Stimune theo tỷ lệ 4:5 theo sơ đồ bào chế vaccin được thể hiện trong bảng 9. Trong khi bào chế, tất cả các thành phần vaccin trừ chất phụ trợ Stimune được đặt trên nước đá đang tan chảy. Các vaccin được bào chế được tiêm (0,5 ml, trong cơ) trực tiếp sau khi bào chế.

Sức khỏe chung được theo dõi hàng ngày bởi các kỹ thuật viên sinh học có kinh nghiệm từ ngày tham gia đến khi kết thúc thử nghiệm.

Lấy mẫu máu

Các mẫu máu dùng cho huyết thanh học được thu thập từ tất cả các gà vào ngày thử nghiệm 0 (trước khi chủng ngừa), 7, 14 và 21. Các mẫu máu được gắn nhãn là số thử nghiệm, nhận dạng mẫu độc nhất và ngày thu thập. Tùy thuộc vào lượng máu hút ra, huyết thanh được chia thành hai phần phân ước khoảng 0,5 ml và được bảo quản ở $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Thử nghiệm ức chế sự haemagglutinin (HI) hóa

Một cách vắn tắt, các thể pha loãng hàng loạt huyết thanh được ủ với 8 HAU (các đơn vị ngưng kết hồng cầu) của chủng NDV Ulster ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút. HAU được chuẩn độ trước mỗi thử nghiệm. Sau đó, hồng cầu gà được bổ sung vào và sự ngưng kết tụ được tính điểm sau khi ủ ở 4°C trong 45 phút. Huyết thanh đối chứng âm và ba huyết thanh đối chứng dương, với hiệu giá kháng thể thấp, trung bình và cao được đưa vào từng thử nghiệm.

Kết quả về hiệu giá HI được biểu thị dưới dạng nghịch đảo của nồng độ pha loãng huyết thanh cao nhất hoàn toàn ức chế sự ngưng kết, mà được biến đổi loga thành hiệu giá Log2 cuối.

Thống kê

Các kết quả HI được biến đổi loga được tổng kết cho mỗi con vật (xem bảng 62-65). Trong mỗi nhóm điều trị, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của các hiệu giá kháng thể được tính toán. Phép phân tích thống kê được thực hiện bằng kiểm định t Mann-Whitney không tham số.

Kết quả

Các triệu chứng không lâm sàng hoặc các biến cố không bất lợi liên quan đến việc chủng ngừa được quan sát trong tất cả các nhóm, tất cả gà thể hiện là khỏe mạnh trong toàn bộ quá trình nghiên cứu.

Tuy nhiên, hai gà được tính điểm thương tổn tối thiểu do tập tính mổ, bắt đầu 6 ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm. vào ngày chủng ngừa, các con gà này được chỉ định vào nhóm Poly I:C T13 (#11658) và T14 (#11676). Sự phục hồi diễn ra trong khoảng một tuần sau khi chủng ngừa.

ODN1, GCGT3-TG4T-5Chol

Các kết quả HI riêng rẽ được biểu thị bằng hiệu giá Log2 của các nhóm liều ODN1 100 ng, 1000 ng và 5000 ng được đưa ra trong **Bảng 10**. Hiệu giá HI trung bình và độ lệch chuẩn của các nhóm này được đưa ra trên **FIG. 14** (ngày 14 và 21 sau khi chủng ngừa (pv)) và **FIG. 15** (tất cả dữ liệu) so với hiệu giá trung bình của nhóm vacxin NDV pha loãng.

Các nhóm GCGT3-TG4T-5Chol thể hiện hiệu giá HI cao hơn đáng kể so với vacxin NDV pha loãng (hiệu giá HI trung bình: 4,8 Log2/SD 1,0). Vào ngày 14 pv, trường hợp này xảy ra đối với cả ba liều; 100 ng: hiệu giá HI trung bình 6,2 Log2/SD 1,4 ($p=0.0214$), 1000 ng: hiệu giá HI trung bình 6,9 Log2/SD 1,1 ($p=0,0003$) và 5000 ng: HI trung bình 5,9 Log2/SD 0,7 ($p=0,0243$).

Tuy nhiên, vào ngày 21 pv, không quan sát thấy sự khác biệt đáng kể đối với tất cả các nồng độ; 100 ng: hiệu giá HI trung bình 6,9 Log2 /SD 0,8 ($p=0,1995$); 1000 ng: hiệu giá HI trung bình 7,3 Log2/SD 0,9 ($p=0,0527$); và 5000 ng: HI trung bình 6,7 Log2/SD 0,9 ($p=0,4523$) khi so sánh với vacxin NDV; hiệu giá HI 6,2 Log2/ SD1,0 (**FIG. 14**), mặc dù nồng độ 1000 ng đạt rất gần đến ý nghĩa.

Bảng 10:

Kết quả		HI kép		HI1	HI2		HI1	HI2		HI1	HI2	HI3		HI1	HI2	HI3	
Nhóm	Điều trị	Con vật	d0	d0	trung bình	d7	d7	trung bình	d14	d14	d14	trung bình	d21	d21	d21	trung bình	
T01	GCGT3-TG4T-5Chol 100 ng	11402	0	0	0	1	1	1	7	7	7	7,0	7	7	7	7,0	
		11404	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	7	7	7	7,0	
		11406	0	0	0	0	0	0	3	4	4	3,7	6	6	6	6,0	
		11408	0	0	0	0	0	0	7	8	8	7,7	8	9	7	8,0	
		11410	0	0	0	0	0	0	5	6	6	5,7	7	7	7	7,0	
		11412	0	0	0	0	0	0	6	6	8	6,7	6	6	6	6,0	
		11414	0	0	0	0	0	0	5	5	6	5,3	7	7	6	6,7	
		11416	0	0	0	0	0	0	8	7	8	7,7	8	8	8	8,0	
		11418	0	0	0	0	0	0	5	4	4	4,3	6	6	6	6,0	
		11420	0	0	0	0	0	0	8	7	7	7,3	7	7	8	7,3	
		Trung bình		0,0			0,1				6,2				6,9		
		SD		0,0			0,3				1,4				0,8		
T02	GCGT3-TG4T-5Chol 1000 ng	11422	0	0	0	0	0	0	7	6	7	6,7	6	6	6	6,0	
		11424	0	0	0	0	0	0	8	7	7	7,3	9	7	8	8,0	
		11426	0	0	0	0	0	0	6	5	5	5,3	6	6	6	6,0	
		11428	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	7	7	7	7,0	
		11430	0	0	0	1	1	1	10	9	10	9,7	8	8	9	8,3	
		11432	0	0	0	0	0	0	7	6	7	6,7	7	7	7	7,0	
		11434	0	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	7	7	7	7,0	
		11436	0	0	0	0	0	0	7	6	7	6,7	8	7	9	8,0	
		11438	0	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	7	7	7	7,0	
		11440	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	8	8	9	8,3	
		Trung bình		0,0			0,1				6,9				7,3		
		SD		0,0			0,3				1,1				0,9		
T03	GCGT3-TG4T-5Chol 5000 ng	11442	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	8	7,3	
		11444	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5,0	6	6	6	6,0	
		11446	0	0	0	0	0	0	5	4	5	4,7	5	5	6	5,3	
		11448	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	8	8	9	8,3	
		11450	0	0	0	0	0	0	6	5	5	5,3	6	6	7	6,3	
		11452	0	0	0	0	0	0	6	5	6	5,7	7	7	7	7,0	
		11454	0	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	7	6	7	6,7	
		11456	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	6	6	6	6,0	
		11458	0	0	0	0	0	0	6	5	6	5,7	6	6	7	6,3	
		11460	0	0	0	0	0	0	7	6	7	6,7	7	7	8	7,3	
		Trung bình		0,0			0,0				5,9				6,7		
		SD		0,0			0,0				0,7				0,9		

ODN2, GCGT3-TG4T

Các kết quả HI riêng rẽ được biểu thị dưới dạng hiệu giá Log2 của các nhóm liều ODN1 100 ng, 1000 ng và 5000 ng được đưa ra trong bảng 11. Các hiệu giá HI trung bình và độ lệch chuẩn của các nhóm này được đưa ra trên FIG. 16 (ngày 14 và 21 pv) và FIG. 17 (tất cả dữ liệu) so với các hiệu giá trung bình của nhóm vaccin NDV pha loãng.

Các nhóm ODN2, GCGT3-TG4T thể hiện hiệu giá HI cao hơn đáng kể so với vaccin NDV pha loãng (hiệu giá HI trung bình: 4,8 Log₂/SD 1,0). Đây là trường hợp vào ngày 14 sau khi chủng ngừa đối với cả ba liều; 100 ng: hiệu giá HI trung bình 7,1 Log₂/SD 1,2 (p=0,0003), 1000 ng: hiệu giá HI trung bình 6,4 Log₂/SD 0,7 (p=0,0027) và 5000 ng: hiệu giá HI trung bình 6,1 Log₂/SD 1,1 (p=0,0236). Vào ngày 21, chỉ quan sát thấy các khác biệt đáng kể ở liều 100 ng với hiệu giá HI trung bình 7,6 Log₂/SD 0,8 (p=0,0083) khi so với vaccin NDV (hiệu giá HI 6,2 Log₂/SD 1,0). Hiệu giá HI trung bình đối với 1000 ng và 5000 ng lần lượt là 7,1 Log₂/SD 0,6 (p=0,0696) và 7,2 Log₂/SD 1,0 (p=0,0956) (FIG. 16).

Bảng 11:

T04	GCGT3-TG4T 100 ng	11462	0	0	0	0	0	7	6	7	6,7	7	7	8	7,3
		11464	0	0	0	0	0	8	7	8	7,7	7	8	8	7,7
		11466	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	8	8	7	7,7
		11468	0	0	0	0	0	8	7	8	7,7	8	9	8	8,3
		11470	0	0	0	0	0	7	6	7	6,7	7	7	7	7,0
		11472	0	0	0	0	0	10	10	9	9,7	10	9	8	9,0
		11474	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	7	7	7	7,0
		11476	0	0	0	0	0	6	5	5	5,3	7	7	6	6,7
		11478	0	0	0	0	0	8	6	6	6,7	7	7	7	7,0
		11480	0	0	0	0	0	9	8	7	8,0	9	9	8	8,7
		Trung bình		0,0		0,0		7,1		7,6					
		SD		0,0		0,0		1,2		0,8					
T05	GCGT3-TG4T 1000 ng	11482	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	7	7	7	7,0
		11484	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	7	7,0
		11486	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	7	7	7	7,0
		11488	0	0	0	0	0	6	8	6	6,7	8	8	8	8,0
		11490	0	0	0	0	0	5	5	5	5,0	6	6	6	6,0
		11492	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	7	7	8	7,3
		11494	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	7	7	7	7,0
		11496	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	7	8	7	7,3
		11498	0	0	0	0	0	8	7	7	7,3	9	7	8	8,0
		11500	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	7	6	7	6,7
		Trung bình		0,0		0,0		6,4		7,1					
		SD		0,0		0,0		0,7		0,6					
T06	GCGT3-TG4T 5000 ng	11502	0	0	0	0	0	8	7	7	7,3	10	8	9	9,0
		11504	0	0	0	0	0	7	7	6	6,7	8	7	7	7,3
		11506	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	7	6	7	6,7
		11508	0	0	0	0	0	6	5	5	5,3	8	6	7	7,0
		11510	0	0	0	0	0	8	7	7	7,3	9	8	8	8,3
		11512	0	0	0	0	0	8	6	7	7,0	9	7	8	8,0
		11514	0	0	0	0	0	5	5	5	5,0	6	6	7	6,3
		11516	0	0	0	0	0	7	6	6	6,3	7	7	7	7,0
		11518	0	0	0	0	0	6	5	5	5,3	7	6	8	7,0
		11520	0	0	0	0	0	4	4	4	4,0	6	5	6	5,7
		Trung bình		0,0		0,0		6,1		7,2					
		SD		0,0		0,0		1,1		1,0					

ODN3, 2006-PTO

Các kết quả HI riêng rẽ được biểu thị dưới dạng hiệu giá Log2 của các nhóm liều ODN1 100 ng, 1000 ng và 5000 ng đo được được đưa ra trong bảng 12. Trong quá trình thực hiện thử nghiệm HI bộ ba, quan sát thấy kết quả nằm ngoài khoảng đối với con vật số 11570 vào ngày 21, điều này nhiều khả năng là do sai số pipet gây ra (bổ sung không đủ AF) và do đó kết quả này được loại bỏ khỏi phân tích cuối cùng (như được đánh dấu trong bảng 12). Do đó, đối với con vật và ngày này, hiệu giá HI trung bình là dựa trên số đo kép.

Hiệu giá HI trung bình và độ lệch chuẩn của các nhóm này được đưa ra trên FIG. 18 (ngày 14 và 21 pv) và FIG. 19 (tất cả dữ liệu) so với hiệu giá trung bình của nhóm vaccin NDV pha loãng.

Các nhóm ODN3, 2006-PTO thể hiện hiệu giá HI cao hơn đáng kể so với vaccin NDV pha loãng (hiệu giá HI trung bình: 4,8 Log2/SD 1,0). Đây là trường hợp vào ngày 14 sau khi chủng ngừa đối với hai liều; 1000 ng: hiệu giá HI trung bình: 6,3 Log2/SD 1,2 ($p=0,0081$) và 5000 ng: hiệu giá HI trung bình: 6,2 Log2/SD 0,8 ($p=0,0059$). Hiệu giá HI trung bình của liều 100 ng là 5,3 Log2/SD 0,5 ($p=0,2090$). Vào ngày 21 pv chỉ xác định được các khác biệt đáng kể ở 5000 ng: hiệu giá HI trung bình 7,3 Log2/SD 0,6 ($p=0,0296$). Không quan sát thấy khác biệt đáng kể ở liều 100 ng và 1000 ng, với hiệu giá HI trung bình lần lượt là 6,6 Log2/SD 0,5 ($p=0,7183$) và 6,8 Log2/SD 1,1 ($p=0,1685$), khi so với vaccin NDV; hiệu giá HI 6,2 Log2/SD 1,0 (FIG. 18).

Bảng 12:

T07	2006- PTO 100 ng	11522	0	0	0	0	0	0	5,3	6	6	6	6,0
		11524	0	0	0	0	0	0	5,3	6	6	6	6,0
		11526	0	0	0	0	0	0	5,7	7	7	7	7,0
		11528	0	0	0	0	0	0	5,0	6	7	6	6,3
		11530	0	0	0	0	0	0	6,0	7	7	7	7,0
		11532	0	0	0	0	0	0	5,0	5	6	6	5,7
		11534	0	0	0	0	0	0	5,3	7	7	7	7,0
		11536	0	0	0	0	0	0	5,3	7	7	7	7,0
		11538	0	0	0	0	0	0	4,3	7	6	7	6,7
		11540	0	0	0	0	0	0	5,7	7	7	7	7,0
			trung bình SD		0,0		0,0		5,3				6,6
			0,0		0,0		0,5				0,5		

T08	2006-PTO 1000 ng	11542	0	0	0	0	0	0	6	5	6	5,7	6	6	7	6,3
		11544	0	0	0	0	0	0	6	4	6	5,3	7	7	7	7,0
		11546	0	0	0	0	0	0	4	4	5	4,3	4	5	4	4,3
		11548	0	0	0	0	0	0	5	5	6	5,3	6	6	7	6,3
		11550	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	7	7	8	7,3
		11552	0	0	0	0	0	0	7	7	8	7,3	7	7	8	7,3
		11554	0	0	0	0	0	0	8	8	9	8,3	8	8	9	8,3
		11556	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	6	6	6	6,0
		11558	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	7	7	8	7,3
		11560	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	8	8	8	8,0
		trung bình SD		0,0		0,0		6,3		6,8						
				0,0		0,0		1,2		1,1						
T09	2006-PTO 5000 ng	11562	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	7	7	8	7,3
		11564	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	8	7,3
		11566	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	7	7,0
		11568	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	7	7,0
		11570	0	0	0	0	0	0	5	5	6	5,3	7	11	7	7,0
		11572	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	8	8	7,7
		11574	0	0	0	0	0	0	5	5	6	5,3	6	7	7	6,7
		11576	0	0	0	0	0	0	8	8	9	8,3	8	10	9	9,0
		11578	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	7	7,0
		11580	0	0	0	1	1	1	5	5	7	5,7	7	7	8	7,3
		trung bình SD		0,0		0,1		6,2		7,3						
				0,0		0,3		0,8		0,6						

Các nhóm đối chứng

Các kết quả HI riêng rẽ được biểu thị dưới dạng hiệu giá Log₂ của các nhóm liều 10 µg và 100 µg Poly I:C, các vaccin NDV pha loãng và không pha loãng và các nhóm đối chứng âm được đưa ra trong bảng 13. Hiệu giá HI trung bình và độ lệch chuẩn của các nhóm này được đưa ra trên FIG. 20 (ngày 14 và 21 pv) và FIG. 21 (tất cả dữ liệu) so với hiệu giá trung bình của nhóm vaccin NDV pha loãng.

Đối với Poly I:C, các nhóm đối chứng dương, chỉ quan sát thấy hiệu giá HI cao hơn đáng kể ở liều 100 µg: hiệu giá HI 7,5 Log₂/SD 0,4 vào ngày 21 (p=0,0053) khi so với vaccin NDV (6,2 Log₂/SD 1,0). Hiệu giá HI trung bình vào ngày 14 pv của các nhóm liều 10 µg và 100 µg lần lượt là 5,8 Log₂/SD 1,3 (p=0,1859) và 5,5 Log₂/SD 0,8 (p=0,1609). Hiệu giá HI trung bình của nhóm liều 10 µg dose vào ngày 21 pv là 6,4 Log₂/SD 1,3 (p=0,7273). Quan sát thấy khác biệt đáng kể (p< 0,0001) giữa vaccin NDV không pha loãng (8,3/SD 0,5 và 8,5 Log₂/SD 0,7) và nhóm đối chứng so với nhóm NDV pha loãng vào ngày 14 và 21 sau khi chủng ngựa (lần lượt là 4,8/SD 1,0 và 6,2 Log₂/SD 1,0,) (FIG. 20).

Bảng 13:

T10	Vaccin dưới tối ưu (1:50)	11582	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4,0	6	5	6	5,7
		11584	0	0	0	0	0	0	5	6	5	5,3	7	7	7	7,0
		11586	0	0	0	0	0	0	5	5	6	5,3	5	5	6	5,3
		11588	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	6	8	7,0
		11590	0	0	0	0	0	0	4	4	5	4,3	6	6	6	6,0
		11592	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5,0	7	7	8	7,3
		11594	0	0	0	0	0	0	4	4	5	4,3	6	7	8	7,0
		11596	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	8	7,3
		11598	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4,0	4	4	5	4,3
		11600	0	0	0	0	0	0	3	3	4	3,3	5	5	6	5,3
		trung binh SD			0,0			0,0				4,8				6,2
					0,0			0,0				1,0				1,0
T11	Vaccin không pha loãng	11602	0	0	0	0	0	0	8	8	8	8,0	9	9	10	9,3
		11604	0	0	0	0	0	0	9	9	8	8,7	8	9	10	9,0
		11606	0	0	0	0	0	0	7	7	8	7,3	8	8	9	8,3
		11608	0	0	0	0	0	0	8	9	9	8,7	9	9	10	9,3
		11610	0	0	0	0	0	0	9	9	9	9,0	10	9	10	9,7
		11612	0	0	0	0	0	0	8	8	9	8,3	8	8	8	8,0
		11614	0	0	0	0	0	0	9	8	9	8,7	8	7	8	7,7
		11616	0	0	0	0	0	0	8	8	8	8,0	7	8	8	7,7
		11618	0	0	0	2	3	2,5	9	8	8	8,3	8	8	9	8,3
		11620	0	0	0	0	0	0	8	8	8	8,0	8	8	8	8,0
		trung binh SD			0,0			0,3				8,3				8,5
					0,0			0,8				0,5				0,7
T12	Đối chứng âm	11622	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,7	0	0	1	0,3
		11624	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11626	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11628	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11630	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11632	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11634	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11636	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11638	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		11640	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0,0
		trung binh SD			0,0			0,0				0,1				0,0
					0,0			0,0				0,2				0,1
T13	Poly I:C 10 µg	11642	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4,0	4	4	4	4,0
		11644	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	7	7	7	7,0
		11646	0	0	0	0	0	0	7	7	8	7,3	8	8	8	8,0
		11648	0	0	0	0	0	0	5	4	5	4,7	6	6	6	6,0
		11650	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5,0	6	6	6	6,0
		11652	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7,0	7	7	7	7,0
		11654	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	7	7	7	7,0
		11656	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4,0	5	5	5	5,0
		11658	0	0	0	0	0	0	8	7	8	7,7	8	8	8	8,0
		trung binh SD			0,0			0,0				5,8				6,4
					0,0			0,0				1,3				1,3

T14	Poly I:C 100 µg	11660	0	0	0	0	0	4	4	4	4,0	7	7	7	7,0	
		11662	0	0	0	0	0	0	4	4	5	4,3	7	7	7	7,0
		11664	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5,0	7	7	7	7,0
		11666	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	7	7	8	7,3
		11668	0	0	0	0	0	0	6	6	7	6,3	8	8	8	8,0
		11670	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6,0	7	7	8	7,3
		11672	0	0	0	0	0	0	6	6	5	5,7	7	8	9	8,0
		11674	0	0	0	0	0	0	6	6	5	5,7	8	8	8	8,0
		11676	0	0	0	1	0	0,5	7	7	6	6,7	8	8	8	8,0
		trung bình		0,0		0,1				5,5				7,5		
		SD		0,0		0,2				0,8				0,4		

Kết luận

Mục đích là nghiên cứu hoạt tính phụ trợ của ba chất kích thích miễn dịch khác nhau. Điều này được thử nghiệm bằng cách xác định đáp ứng huyết thanh sau khi chủng ngừa bằng các vacxin nhũ tương dầu chứa nồng độ dưới tối ưu của NDV bất hoạt và nồng độ khác nhau của một trong số ba chất kích thích miễn dịch khác nhau.

Các chất kích thích miễn dịch sau đây được thử nghiệm:

ODN1: [CholTEG]-

TGGGGTTTTTTTTTGC GTTTTTTGC GTTTTTTGC GTTTTT (“GCGT3-TG4T-5Chol”) (SEQ ID NO: 1) ([CholTEG]=cải biến cholesteryl liên kết trietylglycol ở đầu 5’),

ODN2: TGGGGTTTTTTTTTGC GTTTTTTGC GTTTTTTGC GTTTTT (“GCGT3-TG4T”) (SEQ ID NO: 252),

ODN3: tcgtcgttttgtcgttttgtcggt (“2006-PTO”) (SEQ ID NO: 3).

Khung của ODN1 và ODN2 miễn dịch được liên kết phosphodiester, trong khi đó khung của ODN3 được liên kết phosphorothioat. Hiệu lực của từng ODN được xác định ở ba liều khác nhau: 100 ng, 1000 ng và 5000 ng, được bổ sung vào vacxin NDV dưới tối ưu.

Đáp ứng huyết thanh được xác định vào ngày 0 (trước khi chủng ngừa), 7, 14 và 21 sau khi chủng ngừa để tìm hiểu xem việc bổ sung các chất kích thích miễn dịch này cũng có thể dẫn đến đáp ứng miễn dịch sớm hơn hay không. Vào ngày 0 và 7 sau khi chủng ngừa (pv) không phát hiện được mức kháng thể kháng NDV, trừ một con vật (#11618) trong nhóm vacxin NDV không pha loãng vào ngày 7.

Đáp ứng huyết thanh được biểu thị dưới dạng hiệu giá Log₂ HI thể hiện các khác biệt đáng kể ($p < 0,0001$) giữa vacxin NDV không pha loãng và vacxin NDV dưới tối ưu vào ngày 14 và 21 pv, điều này cho thấy rằng hệ số pha loãng 50 lần là đủ để tại ra liều vacxin dưới tối ưu.

Nhóm đối chứng âm duy trì âm tính trong toàn bộ quá trình nghiên cứu, điều này chỉ ra rằng các chất kích thích miễn dịch không chứa vacxin NDV không tạo ra đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu.

Nhóm liều Poly I:C 100 µg đối chứng dương thể hiện hiệu giá HI cao hơn đáng kể so với vacxin NDV tự nhiên vào ngày 21 ($p = 0,0053$), điều này chỉ ra rằng nhóm liều này hợp lệ làm nhóm đối chứng dương.

Nhóm GCGT3-TG4T-5Chol (ODN1) thể hiện hiệu giá HI cao hơn đáng kể khi so với vacxin NDV pha loãng vào ngày 14 pv đối với cả ba liều: 100 ng ($p = 0,0214$), 1000 ng ($p = 0,0003$) và 5000 ng ($p = 0,0243$). Tuy nhiên, vào ngày 21 pv, không quan sát thấy khác biệt đáng kể.

Nhóm GCGT3-TG4T (ODN2) thể hiện hiệu giá HI cao hơn đáng kể khi so với vacxin NDV pha loãng vào ngày 14 pv đối với cả ba liều: 100 ng ($p = 0,0003$), 1000 ng ($p = 0,0027$) và 5000 ng ($p = 0,0236$). Chỉ xác định được các khác biệt đáng kể vào ngày 21 ($p = 0,0083$) ở nhóm liều 100 ng.

Nhóm 2006-PTO (ODN3) thể hiện hiệu giá HI cao hơn đáng kể so với vacxin NDV pha loãng vào ngày 14 pv đối với hai liều: 1000 ng ($p = 0,0081$) và 5000 ng ($p = 0,0059$). Vào ngày 21 pv, chỉ xác định được khác biệt đáng kể ($p = 0,0296$) ở nhóm liều 5000 ng.

Kết luận, quan sát được hiệu giá HI trung bình cao nhất với nhóm liều 100 ng GCGT3-TG4T (ODN2), 7,1 Log₂ (14 ngày pv) và 7,6 Log₂ (21 ngày pv), điều này cho thấy sự gia tăng hiệu giá khi so với vacxin NDV tự nhiên lần lượt là 2,3 Log₂ và 1,4 Log₂ vào ngày 14 và 21 pv.

Hiệu giá của nhóm liều GCGT3-TG4T-5Chol (ODN1) lần lượt là 6,9 Log₂ và 7,3 Log₂, vào ngày 14 và 21 pv hầu như tương tự với nhóm ODN2. Vào ngày 14 pv không quan sát thấy khác biệt đáng kể ($p = 0,7513$) giữa các nhóm ODN1 và ODN2.

Hiệu giá của nhóm liều 5000 ng 2006-PTO (ODN3) lần lượt là 6,2 Log2 và 7,3 Log2 vào ngày 14 và 21 pv. Vào ngày 14 pv, nhóm ODN3 khác biệt đáng kể ($p=0,0300$) so với cả hai nhóm ODN1 và ODN2 (**FIG. 22** và **FIG. 23**).

Vào ngày 21 pv, tất cả các nhóm ODN không thể hiện khác biệt đáng kể.

Do đó, các kết quả này chỉ ra rằng các ODN có khả năng làm tăng đáng kể đáp ứng huyết thanh, đặc biệt là vào ngày 14 sau khi chủng ngừa, và cũng chỉ ra rằng khởi phát miễn dịch là sớm hơn.

CÁC PHƯƠNG ÁN

Nhằm minh họa thêm, các phương án không giới hạn khác trong bản mô tả được đưa ra sau đây.

Ví dụ, phương án 1 là chế phẩm kích thích miễn dịch chứa:

chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmit axit nucleic và chất dẫn phân phối liposom; và

oligonucleotit kích thích miễn dịch có ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Phương án 2 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 1, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch có mặt với lượng có tác dụng hiệp đồng.

Phương án 3 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 1 hoặc 2, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa là phối tử cho phân tử axit nucleic giám sát ở phần bào tan.

Phương án 4 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 3, trong đó phân tử axit nucleic miễn dịch giám sát ở phần bào tan là thụ thể giống toll (TLR).

Phương án 5 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 3 hoặc 4, trong đó phân tử axit nucleic giám sát ở phần bào tan là TLR21.

Phương án 6 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch có nồng độ axit nucleic khoảng 200 µg/ml.

Phương án 7 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 10 µM đến 0,5 µM.

Phương án 8 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 7, trong đó nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch là khoảng 2 µM.

Phương án 9 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ plasmit axit nucleic của chế phẩm điều biến miễn dịch lớn hơn nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Phương án 10 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch có mặt với lượng không độc tế bào.

Phương án 11 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên còn chứa thêm chất mang được dụng.

Phương án 12 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất dẫn phân phối liposom chứa lipit dạng nang nhiều lớp, lipit ép đùn, hoặc cả hai.

Phương án 13 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất dẫn phân phối liposom là cation.

Phương án 14 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 13, trong đó chất dẫn phân phối liposom cation chứa các cặp lipit được chọn từ nhóm gồm N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTMA) và cholesterol; N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTAP) và cholesterol; 1-[2-(oleoyloxy)ethyl]-2-oleyl-3-(2-hydroxyethyl)imidazolinium clorua (DOTIM) và cholesterol; và dimetyldioctadecylamonium bromua (DDAB) và cholesterol.

Phương án 15 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó plasmit axit nucleic không mã hóa.

Phương án 16 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó plasmit axit nucleic thu được từ vi khuẩn.

Phương án 17 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó plasmit axit nucleic sinh miễn dịch.

Phương án 18 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 17, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO. 265.

Phương án 19 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 17, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO.:266.

Phương án 20 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 17, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 268.

Phương án 21 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó trình tự giàu nucleotit guanin chứa nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất.

Phương án 22 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 21, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa ba đến tám nucleotit guanin.

Phương án 23 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 21 hoặc 22, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 16, 17, 18, 19, 20, 21, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 92, 93, 96, 97, 100, 102, 104, 106, 108, 143, hoặc 1.

Phương án 24 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 21 hoặc 22 còn chứa thêm nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai phía sau nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất.

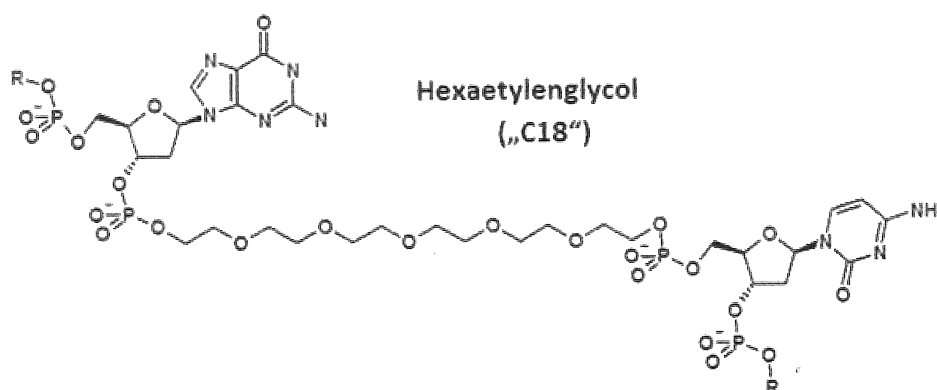
Phương án 25 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 24, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 141, 142, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, hoặc GCGT-Gwire3.

Phương án 26 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 24 hoặc 25 trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai được phân tách bằng ít nhất hai nucleotit.

Phương án 27 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 21 đến 26, trong đó nhiều nhóm nucleotit guanin thứ nhất và ít nhất một môtip CpG được phân tách bằng ít nhất 3 nucleotit.

Phương án 28 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo các phương án từ 21 đến 27, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và ít nhất một môtip CpG được phân tách bằng hexaetylglycol, tetraetylglycol, propandiol, hoặc các dẫn xuất của chúng.

Phương án 29 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 28, trong đó cấu trúc của hexaetylglycol là:



Phương án 30 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm nhiều môtip CpG, mỗi môtip CpG trong số nhiều môtip CpG này được phân tách khỏi nhiều môtip CpG bằng đoạn đệm.

Phương án 31 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 30, trong đó đoạn đệm chứa ít nhất một nucleotit hoặc dạng tương tự nucleotit.

Phương án 32 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 31, trong đó đoạn đệm chứa cầu deoxyribozaphosphat.

Phương án 33 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 32, trong đó cầu deoxyribozaphosphat là abasic.

Phương án 34 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 31, trong đó đoạn đệm chứa mạch cacbon.

Phương án 35 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 34, trong đó mạch cacbon thu được từ 1,3-propandirol.

Phương án 36 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 31, trong đó đoạn đệm chứa đơn vị hóa học lặp lại.

Phương án 37 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 36, trong đó đơn vị hóa học lặp lại là etylen glycol.

Phương án 38 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa ít nhất một dạng tương tự nucleotit.

Phương án 39 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm khung phosphodiester.

Phương án 40 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 38, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm khung phosphorothioat.

Phương án 41 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa gốc lipid.

Phương án 42 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 41, trong đó gốc lipid là cholesteryl.

Phương án 43 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 41 đến 42, trong đó gốc lipid nằm tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Phương án 44 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, chứa đơn vị trình tự CpG ở đầu 5', đầu 3', hoặc cả hai.

Phương án 45 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 44 có ít nhất hai đơn vị trình tự CpG.

Phương án 46 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 44 hoặc 45, trong đó đơn vị trình tự CpG là GCGA, GCGG, ACGC, CCGC, GCGT, hoặc TCGC.

Phương án 47 là phương pháp bào chế chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên bao gồm bước:

kết hợp chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch, để tạo ra chế phẩm kích thích miễn dịch;

ly tâm chế phẩm kích thích miễn dịch để tạo ra phần dịch nổi và phần kết viên; và

tách phần kết viên.

Phương án 48 là phương pháp kích thích thụ thể giống toll 21 (TLR21) bao gồm bước:

cho sử dụng oligonucleotit kích thích miễn dịch và chế phẩm điều biến miễn dịch, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch có ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch, và trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmit axit nucleic không mã hóa và chất dẫn phân phối lipid.

Phương án 49 là phương pháp theo phương án 48, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch có mặt với lượng có tác dụng hiệp đồng.

Phương án 50 là phương pháp theo phương án 48 hoặc 49, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa phối tử cho TLR21.

Phương án 51 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 50, trong đó nồng độ plasmit axit nucleic của chế phẩm điều biến miễn dịch là khoảng 200 µg/ml.

Phương án 52 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 51, trong đó nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch nằm trong khoảng từ khoảng 10 µM đến 0,5 µM.

Phương án 53 là phương pháp theo phương án 52, trong đó nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch là khoảng 2 µM.

Phương án 54 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 53, trong đó nồng độ plasmit axit nucleic của chế phẩm điều biến miễn dịch lớn hơn nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Phương án 55 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 54, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch có mặt với lượng không độc tế bào.

Phương án 56 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 55, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch còn chứa thêm chất mang được dụng.

Phương án 57 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 56, trong đó chất dẫn phân phối liposom chứa các lipit dạng nang nhiều lớp, các lipit ép đùn, hoặc cả hai.

Phương án 58 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 57, trong đó chất dẫn phân phối liposom là cation.

Phương án 59 là phương pháp theo phương án 58, trong đó cation chất dẫn phân phối liposom chứa các cặp lipit được chọn từ nhóm gồm N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTMA) và cholesterol; N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTAP) và cholesterol; 1-[2-(oleoyloxy)ethyl]-2-oleyl-3-(2-hydroxyethyl)imidazolium clorua (DOTIM) và cholesterol; và dimetyldioctadecylamonium bromua (DDAB) và cholesterol.

Phương án 60 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 59, trong đó plasmit axit nucleic không mã hóa.

Phương án 61 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 60, trong đó plasmit axit nucleic thu được từ vi khuẩn.

Phương án 62 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 61, trong đó plasmit axit nucleic sinh miễn dịch.

Phương án 63 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 62, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 265.

Phương án 64 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 62, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 266.

Phương án 65 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 62, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 268.

Phương án 66 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 65, trong đó trình tự giàu nucleotit guanin chứa nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất.

Phương án 67 là phương pháp theo phương án 66, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa ba đến tám nucleotit guanin.

Phương án 68 là phương pháp theo phương án 66 hoặc 67, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 1, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 92, 93, 96, 97, 100, 102, 104, 106, 108, hoặc 143.

Phương án 69 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 68, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai phía sau nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất.

Phương án 70 là phương pháp theo phương án 69, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 141, 142, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, hoặc GCGT-Gwire3.

Phương án 71 là phương pháp theo phương án 69 hoặc 70, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất, nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai, hoặc cả hai tạo thuận lợi cho việc tạo thành các cấu trúc bậc bốn *in vitro*, *in vivo*, hoặc cả hai.

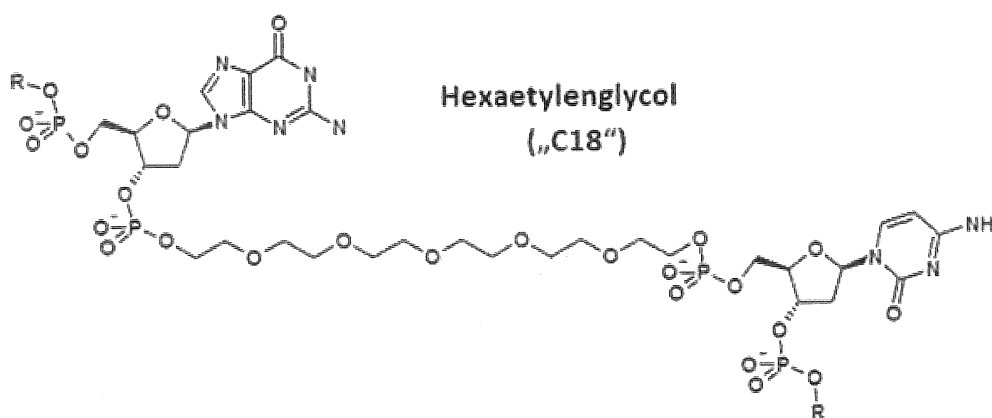
Phương án 72 là phương pháp theo phương án 70 hoặc 71, trong đó các nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và thứ hai tạo thuận lợi cho việc tạo thành các cấu trúc bậc bốn có cấu trúc G-wire.

Phương án 73 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 70 đến 72, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai được phân tách bằng ít nhất hai nucleotit.

Phương án 74 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 67 đến 73, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và ít nhất một môtip CpG được phân tách bằng ít nhất 3 nucleotit.

Phương án 75 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 67 đến 73, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và ít nhất một môtip CpG được phân tách bằng hexaetylglycol.

Phương án 76 là phương pháp theo phương án 75, trong đó cấu trúc của hexaetylglycol là:



Phương án 77 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 76, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm nhiều môtip CpGs, mỗi môtip CpG trong số nhiều môtip CpG được phân tách bằng đoạn đệm.

Phương án 78 là phương pháp theo phương án 77, trong đó đoạn đệm chứa ít nhất một nucleotit hoặc dẫn xuất nucleotit.

Phương án 79 là phương pháp theo phương án 78, trong đó đoạn đệm là cầu deoxyribozaphosphat.

Phương án 80 là phương pháp theo phương án 79, trong đó cầu deoxyribozaphosphat là abasic.

Phương án 81 là phương pháp theo phương án 78, trong đó đoạn đệm chứa mạch cacbon.

Phương án 82 là phương pháp theo phương án 81, trong đó mạch cacbon thu được từ 1,3-propandiol.

Phương án 83 là phương pháp theo phương án 78, trong đó đoạn đệm chứa đơn vị hóa học lặp lại.

Phương án 84 là phương pháp theo phương án 83, trong đó đơn vị hóa học lặp lại là etylen glycol.

Phương án 85 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 84, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch, oligonucleotit kích thích miễn dịch, hoặc cả hai còn chứa thêm ít nhất một dạng tương tự nucleotit.

Phương án 86 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 85, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa cầu phosphodiester.

Phương án 87 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 85, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa khung phosphorothioat.

Phương án 88 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 87, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm gốc lipit.

Phương án 89 là phương pháp theo phương án 88, trong đó gốc lipit tăng cường độ sinh khả dụng của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Phương án 90 là phương pháp theo phương án 88 hoặc 89, trong đó gốc lipit là cholesteryl.

Phương án 91 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 88 đến 90, trong đó gốc lipit nằm tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Phương án 92 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 91, chứa đơn vị trình tự CpG ở đầu 5', đầu 3', hoặc cả hai.

Phương án 93 là phương pháp theo phương án 92 có ít nhất hai đơn vị trình tự CpG.

Phương án 94 là phương pháp theo phương án 92 hoặc 93, trong đó đơn vị trình tự CpG là GCGA, GCGG, ACGC, CCGC, GCGT, hoặc TCGC.

Phương án 95 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 48 đến 94, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch được dùng đồng thời.

Phương án 96 là phương pháp kích hoạt đáp ứng miễn dịch ở đối tượng bao gồm việc cho đối tượng sử dụng chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 46.

Phương án 97 là chế phẩm kích thích miễn dịch chứa:

plasmid axit nucleic và chất dẫn phân phối liposom; và

oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 1.

Phương án 98 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 97, trong đó plasmid axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 265.

Phương án 99 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 97, trong đó plasmid axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 266.

Phương án 100 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 97, trong đó plasmid axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 268.

Phương án 101 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 97 đến 100, trong đó chất dẫn phân phối liposom chứa các lipid dạng nang nhiều lớp, các lipid ép đùn, hoặc cả hai.

Phương án 102 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 101, trong đó chất dẫn phân phối liposom là cation.

Phương án 103 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 102, trong đó chất dẫn phân phối liposom cation chứa các cặp lipid được chọn từ nhóm gồm N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTMA) và cholesterol; N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylamonium clorua (DOTAP) và cholesterol; 1-[2-(oleoyloxy)ethyl]-2-oleyl-3-(2-hydroxyethyl)imidazolinium clorua (DOTIM) và cholesterol; và dimetyldioctadecylamonium bromua (DDAB) và cholesterol.

Phương án 104 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 97 đến 103, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm cải biến cholesteryl ở đầu 5'.

Phương án 105 là chế phẩm kích thích miễn dịch theo phương án 104, trong đó cải biến cholesteryl ở đầu 5' gồm đoạn liên kết trietylglycol.

Khi đưa các đơn vị vào bản mô tả hoặc (các) phương án ưu tiên trong đó, các mạo từ dự định để chỉ một hoặc nhiều phần tử. Các thuật ngữ “chứa”, “bao gồm” và “có” được dự định là bao gồm và có nghĩa là có thể có thêm các phần tử khác ngoài các phần tử được liệt kê.

Từ những nội dung nêu trên, sẽ thấy rằng đã đạt được một số mục đích nêu trong bản mô tả và các kết quả có lợi khác.

Các biến đổi khác nhau có thể được tạo ra đối với các sản phẩm và phương pháp nêu trên mà không ra khỏi phạm vi của bản mô tả, dự định rằng tất cả những nội dung trong phần mô tả trên đây sẽ được hiểu là nhằm minh họa và không có ý nghĩa giới hạn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm kích thích miễn dịch chứa:

a) chế phẩm điều biến miễn dịch chứa plasmit axit nucleic và chất dẫn phân phối liposom; và

b) oligonucleotit kích thích miễn dịch có ít nhất một môtip CpG và trình tự giàu nucleotit guanin tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.

2. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch có mặt với lượng có tác dụng hiệp đồng.

3. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa phối tử cho phân tử axit nucleic giám sát ở phân bào tan.

4. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 3, trong đó phân tử axit nucleic miễn dịch giám sát ở phân bào tan là thụ thể giống toll (TLR).

5. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 3, trong đó phân tử axit nucleic giám sát ở phân bào tan là TLR21.

6. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó nồng độ plasmit axit nucleic của chế phẩm điều biến miễn dịch lớn hơn nồng độ oligonucleotit kích thích miễn dịch.

7. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1 còn chứa thêm chất mang được dụng.

8. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó chất dẫn phân phối liposom chứa các lipid dạng nang nhiều lớp, các lipid ép đùn, hoặc cả hai.

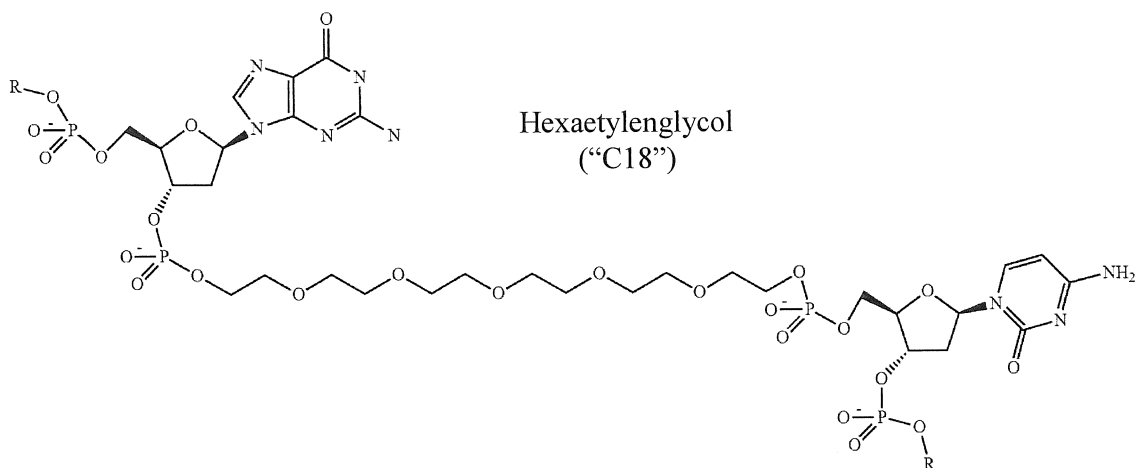
9. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó chất dẫn phân phối liposom là cation.

10. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 8, trong đó chất dẫn phân phối liposom cation chứa các cặp lipid được chọn từ nhóm gồm N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylmoni clorua (DOTMA) và cholesterol; N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimetylmoni clorua (DOTAP) và cholesterol; 1-[2-(oleoyloxy)etyl]-2-oleyl-3-(2-hydroxyetyl)imidazolinium clorua (DOTIM) và cholesterol; và dimetyldioctadecylamoni bromua (DDAB) và cholesterol.

11. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó plasmit axit nucleic không mã hóa.

12. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO. 265.
13. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO.:266.
14. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với SEQ ID NO: 268.
15. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó trình tự giàu nucleotit guanin chứa nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất.
16. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 15, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất chứa ba đến tám nucleotit guanin.
17. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 15, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 16, 17, 18, 19, 20, 21, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 92, 93, 96, 97, 100, 102, 104, 106, 108, 143, hoặc 1.
18. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 15, trong đó chế phẩm này còn chứa thêm nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai phía sau nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất.
19. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 18, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 141, 142, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, hoặc GCGT-Gwire3.
20. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 18, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và nhóm nhiều nucleotit guanin thứ hai được phân tách bằng ít nhất hai nucleotit.
21. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 15, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và ít nhất một môtip CpG được phân tách bằng ít nhất 3 nucleotit.
22. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 15, trong đó nhóm nhiều nucleotit guanin thứ nhất và ít nhất một môtip CpG được phân tách bằng hexaetylglycol, tetraetylglycol, propandiol, hoặc các dẫn xuất của chúng.

23. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 22, trong đó cấu trúc của hexaethylenglycol là:



24. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm nhiều môtip CpG, mỗi môtip CpG trong số nhiều môtip CpG được phân tách với các môtip khác trong số nhiều môtip CpG bằng đoạn đệm.

25. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 24, trong đó đoạn đệm chứa ít nhất một nucleotit hoặc dạng tương tự nucleotit.

26. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 25, trong đó đoạn đệm chứa cầu deoxyribozaphosphat.

27. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 26, trong đó cầu deoxyribozaphosphat là abasic.

28. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 25, trong đó đoạn đệm chứa mạch cacbon.

29. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 28, trong đó mạch cacbon thu được từ 1,3-propandiol.

30. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 25, trong đó đoạn đệm chứa đơn vị hóa học lặp lại.

31. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 30, trong đó đơn vị hóa học lặp lại là etylen glycol.

32. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm khung phosphorothioat.

33. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa gốc lipit.
34. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 33, trong đó gốc lipit là cholesteryl.
35. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 33, trong đó gốc lipit nằm tại hoặc gần đầu 5' của oligonucleotit kích thích miễn dịch.
36. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa đơn vị trình tự CpG ở đầu 5', đầu 3', hoặc cả hai.
37. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 36, trong đó chế phẩm này có ít nhất hai đơn vị trình tự CpG.
38. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 36, trong đó đơn vị trình tự CpG là GCGA, GCGG, ACGC, CCGC, GCGT, hoặc TCGC.
39. Phương pháp bào chế chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 1 bao gồm bước:
- kết hợp chế phẩm điều biến miễn dịch và oligonucleotit kích thích miễn dịch, để tạo ra chế phẩm kích thích miễn dịch;
 - ly tâm chế phẩm kích thích miễn dịch để tạo ra phần dịch nổi và phần kết viên;
 - và
 - tách phần kết viên.
40. Chế phẩm kích thích miễn dịch chứa:
- a. plasmit axit nucleic và chất dẫn phân phối liposom; và
 - b. oligonucleotit kích thích miễn dịch chứa SEQ ID NO: 1.
41. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 40, trong đó plasmit axit nucleic có độ tương đồng về trình tự ít nhất 75% so với trình tự được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 268.
42. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 40, trong đó oligonucleotit kích thích miễn dịch còn chứa thêm cải biến cholesteryl ở đầu 5'.
43. Chế phẩm kích thích miễn dịch theo điểm 42, trong đó cải biến cholesteryl ở đầu 5' bao gồm đoạn liên kết triethylenglycol.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> BAYER ANIMAL HEALTH GMBH

<120> CHẾ PHẨM KÍCH THÍCH MIỄN DỊCH VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ CHẾ PHẨM NÀY

<130> BHC 168027

<140>

<141>

<150> EP 17207750.5

<151> 2017-12-15

<150> EP 17207746.3

<151> 2017-12-15

<150> EP 17207740.6

<151> 2017-12-15

<160> 269

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 36

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú=" Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<223> /ghi chú="Được cải biến cholesteryl đầu 5'"

<400> 1

tggggttttt tttgcgtttt tgcgtttttg cgtttt

36

<210> 2

<400> 2

000

<210> 3

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<221> đặc điểm hỗn hợp

<222> (1)..(24)

<223> /ghi chú="Cầu liên kết phosphorothioat giữa các nucleotit"

<400> 3
tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
24

<210> 4
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 4
tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
24

<210> 5
<211> 25
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 5
tcgtcgtttt gtcgttttgt cggtg
25

<210> 6
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 6
tcgtcgtttt gtcgttttgt cggtgg
26

<210> 7
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 7

tcgtcgtttt gtcgttttgt cgttggg
27

<210> 8
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 8
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgttggg
28

<210> 9
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 9
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgttggggg
29

<210> 10
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 10
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgttggggg
30

<210> 11
<211> 31
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 11

tcgtcgtttt gtcgttttgt cgttgggggg g
31

<210> 12
<211> 32
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 12
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgttgggggg gg
32

<210> 13
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 13
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt
24

<210> 14
<211> 25
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 14
gtcgtcgttt tgcgttttg tcgtt
25

<210> 15
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 15

ggtcgtcgtt ttgtcgtttt gtcgtt
26

<210> 16
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 16
gggtcgtcgt tttgtcgttt tgcgtt
27

<210> 17
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 17
ggggtcgtcg ttttgcgtt ttgtcggt
28

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

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 18
ggggggtcgtc gttttgtcgt tttgtcggt
29

<210> 19
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 19
ggggggtcgt cgttttgtcg ttttgcgtt
30

<210> 20
<211> 31
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 20
ggggggggtcg tcgttttgtc gttttgtcgt t
31

<210> 21
<211> 32
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 21
gggggggggtc gtcgttttgt cgttttgtcg tt
32

<210> 22
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 22
aaaaaatcgt cgttttgtcg ttttgtcgtt
30

<210> 23
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 23
ccccctcgt cgttttgtcg ttttgtcgtt
30

<210> 24
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 24
tttttttcgt cgttttggtc ttttggtcgtt
30

<210> 25
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>
<221> bazơ đã biến đổi
<222> (8)..(8)
<223> 5-metyl-xytidin

<220>
<221> bazơ đã biến đổi
<222> (11)..(11)
<223> 5-metyl-xytidin

<220>
<221> bazơ đã biến đổi
<222> (19)..(19)
<223> 5-metyl-xytidin

<220>
<221> bazơ đã biến đổi
<222> (27)..(27)
<223> 5-metyl-xytidin

<400> 25
gggggggtcgt cgttttggtc ttttggtcgtt
30

<210> 26
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 26
ccccctgct gcttttggtc ttttggtcgtt
30

<210> 27
<211> 30
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 27

tttttttcat cattttgtca ttttgtcatt

30

<210> 28

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<221> đặc điểm hỗn hợp

<222> (1)..(30)

<223> /ghi chú="Cầu liên kết phosphorothioat giữa các nucleotit"

<400> 28

tgggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt

30

<210> 29

<211> 29

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<221> đặc điểm hỗn hợp

<222> (1)..(29)

<223> /ghi chú="Cầu liên kết phosphorothioat giữa các nucleotit"

<400> 29

tcgtcgtttt gtcgttttgt cggtggggg

29

<210> 30

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 30
agggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 31
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 31
gaggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 32
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 32
ggagggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 33
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 33
gggaggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 34
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 34

ggggagtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 35
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 35
gggggatcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 36
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 36
aaggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 37
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 37
gaaggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 38
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 38

ggaaggctcg cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 39
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 39
gggaagctcg cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 40
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 40
ggggaatcg cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 41
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 41
cgggggctcg cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 42
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 42

gcgggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 43
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 43
ggcggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 44
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 44
ggcggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 45
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 45
ggggcggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 46
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 46

gggggctcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 47
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 47
ccggggctcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 48
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 48
gccgggctcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 49
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 49
ggccggctcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 50
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 50

gggccgctcgt cgttttgtcg ttttgcgtt
30

<210> 51
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 51
ggggcctcgt cgttttgtcg ttttgcgtt
30

<210> 52
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 52
tgggggcgt cgttttgtcg ttttgcgtt
30

<210> 53
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 53
gtggggcgt cgttttgtcg ttttgcgtt
30

<210> 54
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 54

gggtgggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 55
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 55
gggtgggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 56
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 56
gggtgtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 57
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 57
gggggttcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 58
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 58

ttgggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 59
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 59
gttgggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 60
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 60
ggttggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 61
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 61
gggttggtcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 62
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 62

ggggtttcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
30

<210> 63
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 63
agggtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 64
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 64
gaggtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 65
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 65
ggagtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 66
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 66

gggatcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 67
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 67
cgggtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 68
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 68
gcggtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 69
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 69
ggcgtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 70
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 70

gggctcgtcg ttttgtcggtt ttgtcggtt
28

<210> 71
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 71
tgggctcgtcg ttttgtcggtt ttgtcggtt
28

<210> 72
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 72
gtggctcgtcg ttttgtcggtt ttgtcggtt
28

<210> 73
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 73
ggtgctcgtcg ttttgtcggtt ttgtcggtt
28

<210> 74
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 74

gggttcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 75
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 75
tccatgacgt tcctgatgct
20

<210> 76
<211> 25
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 76
tccatgacgt tcctgatgct ggggg
25

<210> 77
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 77
ggggtccatg acgttcctga tgct
24

<210> 78
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 78

gggggggtcca tgacgttcct gatgct
26

<210> 79
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 79
tccatgacgt tcctgacgtt
20

<210> 80
<211> 25
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 80
tccatgacgt tcctgacgtt ggggg
25

<210> 81
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 81
gggggtccatg acgttcctga cgtt
24

<210> 82
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 82

ggggggtcca tgacgttcct gacgtt
26

<210> 83
<211> 23
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 83
tcgacgttcg tcgttcgctg ttc
23

<210> 84
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 84
tcgacgttcg tcgttcgctg ttcggggg
28

<210> 85
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 85
ggggtcgacg ttcgtcgttc gtcgttc
27

<210> 86
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 86

ggggggtcga cgttcgtcgt tcgtcggtc
29

<210> 87
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 87
tcgcgacggt cgcccgacgt tcggta
26

<210> 88
<211> 31
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 88
tcgcgacggt cgcccgacgt tcggtagggg g
31

<210> 89
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 89
ggggtcgcga cgttcgcccg acgttcggta
30

<210> 90
<211> 32
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 90

gggggggtcgc gacgttcgcc cgacgttcgg ta
32

<210> 91
<211> 22
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 91
tcgtcgtttt cggcgcgcg cg
22

<210> 92
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 92
gggggtcgtcg ttttcggcg gcgccg
26

<210> 93
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 93
gggggggtcgt cgttttcggc gcgcccg
28

<210> 94
<211> 25
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 94

tcgtcgtcgt tcgaacgacg ttgat
25

<210> 95
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 95
tcgtcgtcgt tcgaacgacg ttgatggggg
30

<210> 96
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 96
ggggtcgtcg tcgttcgaac gacgttgat
29

<210> 97
<211> 31
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 97
ggggggtcgt cgtcgttcga acgacgttga t
31

<210> 98
<211> 22
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 98

tcgtcgttgt cgttttgtcg tt
22

<210> 99
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 99
tcgtcgttgt cgttttgtcg ttggggg
27

<210> 100
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 100
ggggggtcgt cgttgctcgtt ttgtcgtt
28

<210> 101
<211> 19
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 101
gatctcgtc gctcgtat
19

<210> 102
<211> 25
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 102

gggggggatc tcgctcgctc gctat
25

<210> 103
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 103
tcgctcgacgt cgttcgttct c
21

<210> 104
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 104
ggggggtcgt cgacgtcgtt cgttctc
27

<210> 105
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 105
tccatgacgt tcctgcagtt cctgacgtt
29

<210> 106
<211> 35
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 106

ggggggtcca tgacgttcct gcagttcctg acgtt
35

<210> 107
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 107
tccacgacgt tttcgacgtt
20

<210> 108
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 108
ggggggtcca cgacgttttc gacgtt
26

<210> 109
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 109
tttttcgtcg ttttgtcgtt ttgtcgtt
28

<210> 110
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 110

ttaggggtcgt cgttttgtcg ttttgtcgtt
30

<210> 111
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 111
ttaggggttag ggtcgtcgtt ttgtcgtttt gtcgtt
36

<210> 112
<211> 32
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 112
ttttggggtc gtcgttttgt cgttttgtcg tt
32

<210> 113
<211> 32
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 113
gggggtttttc gtcgttttgt cgttttgtcg tt
32

<210> 114
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 114

ggggttttgg ggtcgtcgtt ttgtcgtttt gtcgtt
36

<210> 115
<211> 34
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 115
ttagggtttt tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
34

<210> 116
<211> 40
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 116
ttagggtag ggtttttcgt cggtttgtcg ttttgtcgtt
40

<210> 117
<211> 44
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 117
tgtgggtgtg tgtgggtttt tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
44

<210> 118
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 118

ggagggtttt cgtcgttttg tcgttttgtc gtt
33

<210> 119
<211> 35
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 119
tggaggcttt ttcgtcgttt tgcgttttg tcgtt
35

<210> 120
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 120
tggaggctgg aggcctttttc gtcgttttgc cgttttgcg tt
42

<210> 121
<211> 46
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 121
gctgcgagggc ggggtgggtgg gatcgtcgtt ttgtcgtttt gtcgtt
46

<210> 122
<211> 45
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 122

gctgcgggcg ggtgggtggg atcgctgttt tgcgttttg tcgtt
45

<210> 123
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 123
cgaggcgggt ggggtgggatc gtcgttttgc cgttttgcg tt
42

<210> 124
<211> 41
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 124
cgggcgggtg ggtgggatcg tcgttttgc gttttgcgt t
41

<210> 125
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 125
gggcgtgggtg ggtggggttc gtcgttttgc cgttttgcg tt
42

<210> 126
<211> 40
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 126

ggggtgggag gaggggttcgt cgttttgtcg ttttgtcggt
40

<210> 127
<211> 44
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 127
ggggtcgggc gggccgggtg tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
44

<210> 128
<211> 48
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 128
ggtggtgggg ggggttggtg ggggttcgtg ttttgtcggt ttgtcggt
48

<210> 129
<211> 44
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 129
gggttagggg tagggtaggg tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
44

<210> 130
<211> 41
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 130

tggggggggtg ggtgggttcg tcgttttgtc gttttgtcgt t
41

<210> 131
<211> 40
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 131
gggcgggcgg gcgggctcgt cgttttgtcg ttttgtcgtt
40

<210> 132
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 132
ggttggtgtg gttggctcgc gttttgtcgt tttgtcgtt
39

<210> 133
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 133
ggtggatggc gcagtcggtc gtcgttttgc cgttttgcgc tt
42

<210> 134
<211> 44
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 134

tgggggtgga cgggccgggt tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
44

<210> 135

<211> 46

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 135

tgtgggggtg gacgggccgg gtctcgctgt ttgtcgtttt gtcgtt
46

<210> 136

<211> 45

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 136

gggttaggggt tagggtaggt gtcgtcgttt tgctggtttg tcgtt
45

<210> 137

<211> 47

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 137

gggcgcggga ggaagggggc gggtcgctgt tttgtcgttt tgctgtt
47

<210> 138

<211> 43

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 138

agggtgggga ggggtgggat cgctgttttg tcgttttgtc gtt
43

<210> 139
<211> 46
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 139
agggagggcg ctgggaggag ggctgctggt ttgtcgtttt gtcggt
46

<210> 140
<211> 44
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 140
ggggcgggcc gggggcgggg tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
44

<210> 141
<211> 34
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 141
ggggttgggg tcgtcgtttt gtcgttttgt cggt
34

<210> 142
<211> 38
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 142

gggggttgggg tttttcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
38

<210> 143

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 143

tgggggttcgt cgttttgtcg ttttgtcggt

30

<210> 144

<211> 14

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 144

ttttttttacg attt

14

<210> 145

<211> 14

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 145

ttttttttgcg attt

14

<210> 146

<211> 14

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 146

ttttttttccg attt
14

<210> 147
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 147
tttttttttcg attt
14

<210> 148
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 148
ttttttttacg gttt
14

<210> 149
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 149
ttttttttgcg gttt
14

<210> 150
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 150

tttttttccg gttt
14

<210> 151
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 151
tttttttttcg gttt
14

<210> 152
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 152
ttttttttacg cttt
14

<210> 153
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 153
ttttttttgcg cttt
14

<210> 154
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 154

tttttttccg cttt
14

<210> 155
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 155
ttttttttccg cttt
14

<210> 156
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 156
ttttttttacg tttt
14

<210> 157
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 157
ttttttttgcg tttt
14

<210> 158
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 158

ttttttttccg tttt
14

<210> 159
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 159
tttttttttcg tttt
14

<210> 160
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 160
gggggggtttt tttacgattt
20

<210> 161
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 161
gggggggtttt tttgcgattt
20

<210> 162
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 162

gggggggtttt tttccgattt
20

<210> 163
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 163
gggggggtttt ttttcgattt
20

<210> 164
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 164
gggggggtttt tttacggttt
20

<210> 165
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 165
gggggggtttt tttgcggttt
20

<210> 166
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 166

gggggggtttt tttccggttt
20

<210> 167
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 167
gggggggtttt ttttcggttt
20

<210> 168
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 168
gggggggtttt tttacgcttt
20

<210> 169
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 169
gggggggtttt tttgcgcttt
20

<210> 170
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 170

gggggggtttt tttccgcttt
20

<210> 171
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 171
gggggggtttt ttttcgcttt
20

<210> 172
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 172
gggggggtttt tttacgtttt
20

<210> 173
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 173
gggggggtttt tttgcgtttt
20

<210> 174
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 174

gggggggtttt tttccgtttt
20

<210> 175
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 175
gggggggtttt ttttcgtttt
20

<210> 176
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 176
gggggttgggg tttttttttt tacgattt
28

<210> 177
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 177
gggggttgggg tttttttttt tgcgattt
28

<210> 178
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 178

gggggttgggg tttttttttt tccgattt
28

<210> 179
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 179
gggggttgggg tttttttttt ttcgattt
28

<210> 180
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 180
gggggttgggg tttttttttt tacggttt
28

<210> 181
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 181
gggggttgggg tttttttttt tgcggttt
28

<210> 182
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 182

gggggttgggg tttttttttt tccggttt
28

<210> 183
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 183
gggggttgggg tttttttttt ttcggttt
28

<210> 184
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 184
gggggttgggg tttttttttt tacgcttt
28

<210> 185
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 185
gggggttgggg tttttttttt tgcgcttt
28

<210> 186
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 186

ggggttgggg tttttttttt tccgcttt
28

<210> 187
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 187
ggggttgggg tttttttttt ttcgcttt
28

<210> 188
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 188
ggggttgggg tttttttttt tacgtttt
28

<210> 189
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 189
ggggttgggg tttttttttt tgcgtttt
28

<210> 190
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 190

gggggttgggg tttttttttt tccgtttt
28

<210> 191
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 191
gggggttgggg tttttttttt ttcgtttt
28

<210> 192
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 192
gggggttgggg tttttttttt tggctttt
28

<210> 193
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 193
gggggttgggg tttttttttt tgtgtttt
28

<210> 194
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 194

gggggttgggg tttttttttt tgcatttt
28

<210> 195
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 195
gggggttgggg tttttttttt gcgtttt
27

<210> 196
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 196
gggggttgggg tttttttttt cggtttt
26

<210> 197
<211> 25
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 197
gggggttgggg tttttttttgc gtttt
25

<210> 198
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 198

gggggttgggg tttttttgcg tttt
24

<210> 199
<211> 23
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 199
gggggttgggg tttttttgcgt ttt
23

<210> 200
<211> 22
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 200
gggggttgggg ttttttgcgtt tt
22

<210> 201
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 201
gggggttgggg tttttttttt tgcgttt
27

<210> 202
<211> 26
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 202

gggggttgggg tttttttttt tgcgtt
26

<210> 203

<211> 25

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 203

gggggttgggg tttttttttt tgcgt
25

<210> 204

<211> 35

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 204

gggggttgggg tttttttttt tgcgttttgc gtttt
35

<210> 205

<211> 43

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 205

gggggttgggg tttttttttt tgcgttttgc gtttttgcgt ttt
43

<210> 206

<211> 35

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 206

gggggttgggg tttttttttt tgcgatttgc gattt
35

<210> 207
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 207
gggggttgggg tttttttttt tgcgatttgc gatttgcgat tt
42

<210> 208
<211> 35
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 208
gggggttgggg tttttttttt tacgctttac gcttt
35

<210> 209
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 209
gggggttgggg tttttttttt tacgctttac gctttacgct tt
42

<210> 210
<211> 35
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 210

gggggttgggg tttttttttt ttcgcttttc gcttt
35

<210> 211
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 211
gggggttgggg tttttttttt ttcgcttttc gcttttcgct tt
42

<210> 212
<211> 35
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 212
gggggttgggg tttttttttt tccgcttttc gcttt
35

<210> 213
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 213
gggggttgggg tttttttttt tccgcttttc gctttccgct tt
42

<210> 214
<211> 35
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 214

gggggttgggg tttttttttt tgcggtttgc ggttt
35

<210> 215
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 215
gggggttgggg tttttttttt tgcggtttgc ggtttgcggt tt
42

<210> 216
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 216
gggggttgggg tttttttttcgc cgcgttt
27

<210> 217
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 217
gggggttgggg tttttttttcgc tcgtcgttt
29

<210> 218
<211> 31
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 218

ggggttgggg ttttttttcg ttcgttcgtt t
31

<210> 219
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 219
ggggttgggg ttttttttcg ttcgttttcg ttt
33

<210> 220
<211> 35
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 220
ggggttgggg ttttttttcg ttttcgtttt cgttt
35

<210> 221
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>
<221> bazơ đã biến đổi
<222> (21)..(21)
<223> Vị trí abasic

<220>
<221> bazơ đã biến đổi
<222> (24)..(24)
<223> Vị trí abasic

<400> 221
ggggttgggg ttttttttcg ncgncgttt
29

<210> 222

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

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 222
gggggttgggg ttttttttcg
20

<210> 223
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 223
gggggttgggg ttttttttcg
20

<210> 224
<211> 34
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 224
gggggttgggg ttggggtttt tttttttgcg tttt
34

<210> 225
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 225
gggggttgggg ttttttttcg
20

<210> 226
<211> 20

<212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 226
 gggggttgggg ttttttttcg
 20

<210> 227
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 227
 gggggttgggg ttttttttcg
 20

<210> 228
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 228
 gggggttgggg ttttttttcg
 20

<210> 229
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 229
 tgggggttttt tttcg
 15

<210> 230
 <211> 15
 <212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 230

tgggggttttt tttcg

15

<210> 231

<211> 15

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 231

tgggggttttt tttcg

15

<210> 232

<211> 15

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 232

tgggggttttt tttcg

15

<210> 233

<211> 15

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 233

tgggggttttt tttcg

15

<210> 234

<211> 20

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 234
gggggttgggg ttttttttcg
20

<210> 235
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 235
gggggttgggg ttttttttcg
20

<210> 236
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 236
gggggttgggg ttttttttcg
20

<210> 237
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 237
gggggttgggg ttttttttcg
20

<210> 238
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 238
 ggggttgggg ttttttttcg
 20

<210> 239
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>
 <221> bazơ đã biến đổi
 <222> (21)..(21)
 <223> Vị trí abasic

<220>
 <221> bazơ đã biến đổi
 <222> (24)..(24)
 <223> Vị trí abasic

<400> 239
 ggggttgggg ttttttttcg ncgncgttt
 29

<210> 240
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 240
 ggggttgggg ttttttttcg
 20

<210> 241
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 241

gggggttgggg ttttttttac gc
22

<210> 242
<211> 22
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 242
gggggttgggg ttttttttcc gc
22

<210> 243
<211> 22
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 243
gggggttgggg ttttttttac gc
22

<210> 244
<211> 22
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 244
gggggttgggg ttttttttcc gc
22

<210> 245
<211> 17
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 245

tggggttttt tttacgc
17

<210> 246
<211> 17
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 246
tggggttttt tttccgc
17

<210> 247
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 247
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt
24

<210> 248
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 248
tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt
24

<210> 249
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 249

ggggtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 250
<211> 28
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 250
ggggtcgtcg ttttgtcggt ttgtcggt
28

<210> 251
<211> 34
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>
<223> /ghi chú="Có thể được cải biến cholesteryl đầu 3'"

<400> 251
tggggttttt tcgtcgtttt gtcgtttttg cggt
34

<210> 252
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 252
tggggttttt tttgcgtttt tgcgtttttg cgtttt
36

<210> 253
<211> 41
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<223> /ghi chú="Có thể được cải biến cholesteryl đầu 5'"

<400> 253

ggggttgggg ttttttttgc gtttttgcgt ttttgcgttt t
41

<210> 254

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<223> /ghi chú=" Có thể được cải biến cholesteryl đầu 5'"

<400> 254

tttttttgcg tttttgcgtt tttgcgtttt
30

<210> 255

<211> 41

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<223> /ghi chú="Có thể được biến đổi 5'-cholesteryl"

<400> 255

ggggttgggg ttttttttcc gcttttccgc ttttccgctt t
41

<210> 256

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>

<223> /ghi chú=" Có thể được cải biến cholesteryl đầu 5'"

<400> 256

tttttttccg cttttccgct tttccgcttt
30

<210> 257
<211> 10
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 257
ggggttgggg
10

<210> 258
<211> 14
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 258
ggggttgggg tttt
14

<210> 259

<400> 259
000

<210> 260

<400> 260
000

<210> 261
<211> 12
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 261
ttagggtag gg
12

<210> 262
<211> 12

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 262

gggggttttgg gg

12

<210> 263

<211> 16

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 263

ttagggtag ggtttt

16

<210> 264

<211> 14

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 264

tggaggctgg aggc

14

<210> 265

<211> 4242

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 265

tgaccgccca acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg

60

ccaataggga ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg

120

gcagtacatc aagtgtatca tatgccaagt ccgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa
180

tgccccgcct ggcattatgc ccagtacatg accttacggg actttcctac ttggcagtac
240

atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggt tttggcagta catcaatggg
300

cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg
360

agtttgTTTTT ggcaccaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgccccca
420

ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctcgttta
480

gtgaaccgtc agatcgctg gagacgcat ccacgtgtt ttgacctcca tagaagacac
540

cgggaccgat ccagcctccc ctccaagccg atctgataac ggtaccgata agctggcggc
600

cgattaagct acagaagttg gtcgtgaggc actgggcagg taagtatcaa ggttacaaga
660

caggtttaag gagaccaata gaaactgggc ttgtcgagac agagaagact cttgcgtttc
720

tgataggcac ctattggtct tactgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac
780

tcccaggttc aattacagct cttaaagcagc cgcaagcttg atatcgaatt cctgcagccc
840

gggggatcca ctagttctag agcggccgcc accgcggtgg agctcgaatt atcagatcga
900

ttaataacta tgctcaaaaa ttgtgtacct ttagcttttt aatttgtaaa ggggttaata
960

aggaatatTTT gatgtatagt gccttgacta gagatcataa tcagccatac cacatttgta
1020

gaggTTTTTtac ttgctttaaa aaacctccca cacctcccc tgaacctgaa acataaaatg
1080

aatgcaattg ttgttggttaa cttgtttatt gcagcttata atgggttaca ataaagcaat
1140

agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttactgc attctagtTg tggtttgtcc
1200

aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg atcatcagat ctgccggtct ccctatagtg
1260

agtcgtatta atttcgataa gccagggttaa cctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg
1320

gagaggcggt ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc
1380

ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tctactcaaag gcggtaatat ggttatccac
1440

agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa
1500

ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca
1560

caaaaatcga cgctcaagtc agagggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc
1620

gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttcg accctgccgc ttaccggata
1680

cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta
1740

tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca
1800

gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga
1860

cttatcgcca ctggcagcag cactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg
1920

tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg
1980

tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg
2040

caaacaaacc accgctggta gcggtgggtt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag
2100

aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctcaagtggaa
2160

cgaaaaactca cgtaaggga ttttggcat ggcgcgcct aggccttttc aaagatcgat
2220

caagagacag gatgaggatc gtttcgcagc ttttcattct gactgcaacg ggcaataagt
2280

ctctgtgtgg attaaaaaaaa gagtgtctga tagcagcttc tgaactgggt acctgccgtg
2340

agtaaattaa aattttattg acttaggtca ctaaggcgcc ttgcgctgag gttgcgtcgt
2400

gatatcatca ggcagaccg gttacatccc cctaacaagc tgtataaaga gaaatactat
2460

ctcattggcg ttgccgcac ctgacagtgc gacgttgggc tgcgtccgct gaccaacggt
2520

accgaggtaa cagcccaatc tatccatgat ctcgccagg ccgggtcggc cgttatgcag
2580

cccggctcgg gtatgaagcc attaaggagc cgaccagcg cgaccggcg gccggtcacg
2640

ctgcctctgc tgaagcctgc ctgtcactcc ctgcgcggcg taccgcctt tctcatcgag
2700

taggctccgg atcgcgaccc cggacgggcc ctgggccag gagcggccta tgacaaatgc
2760

cgggtagcga tccggcattc agcattgact gcgcacggat ccagtccttg caggagcctt
2820

atgccgaccg tagcaaaaaa tgagcccgag ccgatcgga gttgtgatcc ggtcccgcg
2880

attgccggtc gcgatgacgg tcctgtgtaa gcgttatcgt taccaattgt ttaagaagta
2940

tatacgctac gaggtacttg ataacttctg cgtagcatatc atgaggtttt gtataaaaat
3000

ggcggggcgat atcaacgcag tgtcagaaat ccgaaacagt ctgcgggact ctgggggttcg
3060

aaatgaccga ccaagcgacg cccaacctgc catcacgaga tttcgattcc accgccgcct
3120

tctatgaaag gttgggcttc ggaatcgttt tccgggacgc cggctggatg atcctccagc
3180

gcgggggatct catgctggag ttcttcgccc accctaggcg cgctcatgag cggatacata
3240

tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttcgc gcacatttcc ccgaaaagtg
3300

ccacctaaat tgtaagcgtt aatattttgt taaaattcgc gttaaatttt tgttaaatca
3360

gctcattttt taaccaatag gccgaaatcg gcaaaatccc ttataaatca aaagaataga
3420

ccgagatagg gttgagtgtt gttccagttt ggaacaagag tccactatta aagaacgtgg
3480

actccaacgt caaagggcga aaaaccgtct atcagggcga tggcccacta cgtgaaccat
3540

caccctaate aagttttttg gggctcagggt gccgtaaage actaaatcgg aaccctaaag
3600

ggagcccccg atttagagct tgacggggaa agccggcgaa cgtggcgaga aaggaaggga
3660

agaaagcgaa aggagcgggc gctagggcgc tggcaagtgt agcggtcacg ctgcgcgtaa
3720

ccaccacacc cgccgcgctt aatgcgcgcg tacagggcgc gtcccattcg ccattcaggc
3780

tgcgcaactg ttgggaagg cgatcggtgc gggcctcttc gctattacgc cagctggcga
3840

aaggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac
3900

gttgtaaaac gacggccagt gagcgcgcgt aatacgactc actatagggc gaattgggta
3960

ccgggcccc cctcgagcag gatctataca ttgaatcaat attggcaatt agccatatta
4020

gtcattggtt atatagcata aatcaatatt ggctattggc cattgcatac gttgtatcta
4080

tatcataata tgtacattta tattggctca tgtccaatat gaccgccatg ttgacattga
4140

ttattgacta gttattaata gtaatcaatt acgggggtcat tagttcatag cccatatatg
4200

gagttccgag ttacataact tacggtaaatt ggccgcctg gc
4242

<210> 266

<211> 4242

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 266

ctaaattgta agcgttaata ttttgtaaa attcgcgtta aatttttgtt aaatcagctc
60

attttttaac caataggccg aaatcgga aatcccttat aaatcaaaag aatagaccga
120

gatagggttg agtggtgttc cagtttgga caagagtcca ctattaaaga acgtggactc
180

caacgtcaaa gggcgaaaaa ccgtctatca gggcgatggc ccactacgtg aaccatcacc
240

ctaatcaagt tttttgggt cgaggtgccg taaagcacta aatcggaacc ctaaaggag
300

ccccgattt agagcttgac ggggaaagcc ggcgaacgtg gcgagaaagg aagggaagaa
360

agcgaaagga gcgggcgcta gggcgctggc aagtgtagcg gtcacgctgc gcgtaaccac
420

cacacccgcc gcgcttaatg cgccgctaca gggcgcgctcc cattcgccat tcaggctgcg
480

caactgttgg gaagggcgat cggtgcgggc ctcttcgcta ttacgccage tggcgaaagg
540

gggatgtgct gcaaggcgat taagttgggt aacgccaggg ttttcccagt cacgacgttg
600

taaaacgacg gccagtgagc gcgcgtaata cgactcacta tagggcgaat tgggtaccgg
660

gccccccctc gagcaggatc tatacattga atcaatattg gcaattagcc atattagtca
720

ttggttatat agcataaatc aatattgggt attggccatt gcatacgttg tatctatatc
780

ataatatgta cttttatatt ggctcatgtc caatatgacc gccatgttga cattgattat
840

tgactagtta ttaatagtaa tcaattacgg ggtcattagt tcatagccca tatatggagt
900

tccgcgttac ataacttacg gtaaattggcc cgccctggctg accgcccaac gacccccgcc
960

cattgacgtc aataatgacg tatgttccca tagtaacgcc aatagggact ttccattgac
1020

gtcaatgggt ggagtattta cggtaaactg cccacttggc agtacatcaa gtgtatcata
1080

tgccaagtcc gccccctatt gacgtcaatg acggtaaatg gcccgcctgg cattatgccc
1140

agtacatgac cttacgggac tttcctactt ggagctacat ctacgtatta gtcacgcta
1200

ttaccatggg gatgcggttt tggcagtaca tcaatgggcg tggatagcgg tttgactcac
1260

ggggatttcc aagtctccac cccattgacg tcaatgggag tttgttttgg caccaaaatc
1320

aacgggactt tccaaaatgt cgtaacaact ccgccccatt gacgcaaatg ggcggtaggc
1380

gtgtacgggt ggaggtctat ataagcagag ctcgtttagt gaaccgtcag atcgccctgga
1440

gacgccatcc acgctgtttt gacctccata gaagacaccg ggaccgatcc agcctcccct
1500

cgaagccgat ctgataacgg taccgataag ctggcggccg attaagctac agaagttggg
1560

cgtgaggcac tgggcaggta agtatcaagg ttacaagaca ggtttaagga gaccaataga
1620

aactgggctt gtcgagacag agaagactct tgcgtttctg ataggcacct attggtctta
1680

ctgacatcca ctttgccttt ctctccacag gtgtccactc ccaggttcaa ttacagctct
1740

taagcagccg caagcttgat atcgaattcc tgcagcccgg gggatccact agttctagag
1800

cggccgccac cgcggtggag ctccaattat cagatcgatt aataactatg ctcaaaaatt
1860

gtgtaccttt agctttttta tttgtaaagg ggtaataag gaatatttga tgtatagtgc
1920

cttgactaga gatcataatc agccatacca catttgtaga ggttttactt gctttaaaaa
1980

acctcccaca cctccccctg aacctgaaac ataaaatgaa tgcaattggt gttgttaact
2040

tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag catcaciaat ttcaciaata
2100

aagcattttt ttcactgcat tctagttgtg gtttgtccaa actcatcaat gtatcttate
2160

atgtctggat catcagatct gccggtctcc ctatagttag tcgtattaat ttcgataagc
2220

cagggttaacc tgcattaatg aatcggccaa cgcgcgggga gaggcgggtt gcgtattggg
2280

cgctcttccg cttcctcgct caactgactc ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg
2340

gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga
2400

aagaacatgt gagcaaaaagg ccagcaaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg
2460

gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag
2520

aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc
2580

gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg
2640

ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc ttaggtatc tcagttcggg ttaggtcgtt
2700

cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaacc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc
2760

ggtaactatc gtcttgagtc caaccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc
2820

actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg
2880

tggcctaact acggctacac tagaagaaca gtatttggtg tctgcgctct gctgaagcca
2940

gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc
3000

ggtgggtttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat
3060

cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaaacg aaaactcacg ttaagggatt
3120

ttggatcatga gcgcgcctag gcttttgcaa agatcgatca agagacagga tgaggatcgt
3180

ttcgcgatgat tgaacaagat ggattgcacg caggttctcc ggccgcttgg gtggagaggc
3240

tattcggcta tgactgggca caacagacaa tcggctgctc tgatgccgcc gtgttccggc
3300

tgtcagcgca ggggcgcccg gttctttttg tcaagaccga cctgtccggt gccctgaatg
3360

aactgcaaga cgaggcagcg cggctatcgt ggctggccac gacgggcgtt cctgvcgag
3420

ctgtgctcga cgttgctact gaagcgggaa gggactggct gctattgggc gaagtgccgg
3480

ggcaggatct cctgtcatct caccttgctc ctgccgagaa agtatccatc atggctgatg
3540

caatgcggcg gctgcatacg cttgatccgg ctacctgcc attcgaccac caagcgaaac
3600

atcgcacga gcgagcacgt actcgatgg aagccggtct tgtcgatcag gatgatctgg
3660

acgaagagca tcaggggctc gcgccagccg aactgttcgc caggctcaag gcgagcatgc
3720

ccgacggcga ggatctcgtc gtgacccatg gcgatgcctg cttgccgaat atcatggtgg
3780

aaaatggccg cttttctgga ttcacgact gtggccggct ggggtgtggc gaccgctatc
3840

aggacatagc gttggctacc cgtgatattg ctgaagagct tggcggcgaa tgggctgacc
3900

gcttcctcgt gctttacggg atcgccgctc ccgattcgca gcgcacgcc ttctatcgcc
3960

ttcttgacga gttcttctga gcgggactct ggggttcgaa atgaccgacc aagcgacgcc
4020

caacctgcc a tcacgagatt tcgattccac cgccgccttc tatgaaaggt tgggcttcgg
4080

aatcgttttc cgggacgccg gctggatgat cctccagcgc ggggatctca tgctggagtt
4140

cttcgcccac cctaggcgcg ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata
4200

aacaaatagg ggttcgcgc acatttcccc gaaaagtgcc ac
4242

<210> 267

<211> 4242

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 267

tgaccgcccc acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg
60

ccaataggga ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg
120

gcagtacatc aagtgtatca tatgccaaagt ccgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa
180

tggcccgccct ggcattatgc ccagtacatg accttacggg actttcctac ttggcagtac
240

atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggg tttggcagta catcaatggg
300

cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg
360

agtttggtttt ggcacaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccc
420

ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctcgttta
480

gtgaaccgtc agatcgctg gagacgccat ccacgtggtt ttgacctca tagaagacac
540

cgggaccgat ccagcctccc ctggaagccg atctgataac ggtaccgata agctggcggc
600

cgattaagct acagaagttg gtcgtgaggc actgggcagg taagtatcaa gggtacaaga
660

caggtttaag gagaccaata gaaactgggc ttgtcgagac agagaagact cttgcgtttc
720

tgataggcac ctattggtct tactgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac
780

tcccaggttc aattacagct cttaagcagc cgcaagcttg atatcgaatt cctgcagccc
840

gggggatcca ctagttctag agcggccgcc accgcggtgg agctcgaatt atcagatcga
900

ttaataacta tgctcaaaaa ttgtgtacct ttagcttttt aatttgtaaa ggggttaata
960

aggaatattt gatgtatagt gccttgacta gagatcataa tcagccatac cacatttgta
1020

gaggttttac ttgcttttaa aaacctccca cacctcccc tgaacctgaa acataaaatg
1080

aatgcaattg ttgttgtaa cttgtttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat
1140

agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttcaactgc attctagttg tggtttgtcc
1200

aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg atcatcagat ctgccggtct ccctatagtg
1260

agtcgtatta atttcgataa gccaggttaa cctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg
1320

gagaggcggg ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctcaactgact cgctgcgctc
1380

ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tcaactcaaag gcggttaatac ggttatccac
1440

agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa
1500

ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca
1560

caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataaccaggc
1620

gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata
1680

cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta
1740

tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca
1800

gcccgaccgc tgcgccttat ccggttaacta tcgtcttgag tccaaccggg taagacacga
1860

cttatcgcca ctggcagcag ccactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg
1920

tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg
1980

tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg
2040

caaacaaacc accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag
2100

aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctcagtggaa
2160

cgaaaactca cgttaaggga ttttggatcat gggcgcgcct aggcttttgc aaagatcgat
2220

caagagacag gatgaggatc gtttcgcatg attgaacaag atggattgca cgcaggttct
2280

ccggccgctt ggggtggagag gctattcggc tatgactggg cacaacagac aatcggctgc
2340

tctgatgccg ccgtgttccg gctgtcagcg caggggcgcc cggttctttt tgtcaagacc
2400

gacctgtccg gtgccctgaa tgaactgcaa gacgaggcag cgcggctatc gtggctggcc
2460

acgacgggcg ttccttgccg agctgtgctc gacgttgtca ctgaagcggg aagggactgg
2520

ctgctattgg gcgaagtgcc ggggcaggat ctctgtcat ctcaccttgc tctgccgag
2580

aaagtatcca tcatggctga tgcaatgcgg cggctgcata cgcttgatcc ggctacctgc
2640

ccattcgacc accaagcgaa acatcgcac gagcgagcac gtactcggat ggaagccggt
2700

cttgctgac aggatgatct ggacgaagag catcaggggc tcgcgccagc cgaactgttc
2760

gccaggctca aggcgagcat gcccgacggc gaggatctcg tcgtgacca tggcgatgcc
2820

tgcttgccga atatcatggt ggaaaatggc cgcttttctg gattcatcga ctgtggccgg
2880

ctgggtgtgg cggaccgcta tcaggacata gcgttggtta cccgtgatat tgctgaagag
2940

cttgccggcg aatgggctga ccgcttcctc gtgctttacg gtatcgccgc tcccattcg
3000

cagcgcacg ccttctatcg ccttcttgac gagttcttct gagcgggact ctggggttcg
3060

aatgaccga ccaagcgacg cccaacctgc catcacgaga ttctgattcc accgccgcct
3120

tctatgaaag gttgggcttc ggaatcgttt tccgggacgc cggctggatg atcctccagc
3180

gcggggatct catgctggag ttcttcgccc accctaggcg cgctcatgag cggatacata
3240

tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttcgcg gcacatttcc ccgaaaagtg
3300

ccacctaaat tgtaagcggt aatattttgt taaaattcgc gttaaatttt tgttaaata
3360

gctcattttt taaccaatag gccgaaatcg gcaaaatccc ttataaatca aaagaataga
3420

ccgagatagg gttgagtgtt gttccagttt ggaacaagag tccactatta aagaacgtgg
3480

actccaacgt caaagggcga aaaaccgtct atcagggcga tggcccacta cgtgaaccat
3540

caccctaata aagttttttg gggtcgaggt gccgtaaagc actaaatcgg aaccctaaag
3600

ggagcccccg atttagagct tgacggggaa agccggcgaa cgtggcgaga aaggaaggga
3660

agaaagcgaa aggagcgggc gctagggcgc tggcaagtgt agcggtcacg ctgcgcgtaa
3720

ccaccacacc cgccgcgctt aatgcgccgc tacagggcgc gtcccattcg ccattcaggc
3780

tgcgcaactg ttgggaaggc cgatcggtgc gggcctcttc gctattacgc cagctggcga
3840

aagggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac
3900

gttgtaaaac gacggccagt gagcgcgctt aatacgactc actatagggc gaattgggta
3960

ccgggcccc cctcgagcag gatctataca ttgaatcaat attggcaatt agccatatta
4020

gtcattgggt atatagcata aatcaatatt ggctattggc cattgcatac gttgtatcta
4080

tatcataata tgtacattta tattgggtca tgtccaatat gaccgcatg ttgacattga
4140

ttattgacta gttattaata gtaatcaatt acgggggtcat tagttcatag cccatatatg
4200

gagttccgcg ttacataact tacggtaaata ggcccgcctg gc
4242

<210> 268

<211> 4242

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 268

tgaccgcca acgacccccg ccatttgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg
60

ccaatagga ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg
120

gcagtacatc aagtgtatca tatgccaagt ccgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa
180

tggccgcgct ggcattatgc ccagtacatg accttacggg actttcctac ttggcagtac
240

atctacgtat tagtcatcgc tattaccatg gtgatgcggt tttggcagta catcaatggg
300

cgtggatagc ggtttgactc acggggattt ccaagtctcc acccattga cgtcaatggg
360

agtttgTTTTT ggcacaaaa tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccc
420

ttgacgcaaa tgggcggtag gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctcgTTT
480

gtgaaccgtc agatcgctg gagacgccat ccacgtgtt ttgacctcca tagaagacac
540

cgggaccgat ccagcctccc ctggaagcg atctgataac ggtaccgata agctggcggc
600

cgattaagct acagaagttg gtcgtgaggc actgggcagg taagtatcaa ggttacaaga
660

caggTTTaaG gagaccaata gaaactgggc ttgtcgagac agagaagact cttgcgtTTC
720

tgataggcac ctattggtct tactgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac
780

tcccaggttc aattacagct cttgaagcgc cgccaaaaca aaattcctca aaaatcatca
840

tcgaatgaat ggtgaaataa tttccctgaa taactgtagt gttttcaggg cgcggcataa
900

taattaacta tgctcaaaaa ttgtgtacct ttagctTTTTT aatttgtaaa ggggttaata
960

aggaatatTTT gatgtatagt gccttgacta gagatcataa tcagccatac cacatttgta
1020

gaggTTTTTtac ttgctTTTaaa aaacctccca cacctcccc tgaacctgaa acataaaatg
1080

aatgcaattg ttgttgtaa cttgtttatt gcagcttata atggttacaa ataaagcaat
1140

agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttactgc attctagttg tggtttgtcc
1200

aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg atcatcagat ctgccggtct ccctatagtg
1260

agtcgtatta atttcgataa gccagggttaa cctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg
1320

gagaggcggg ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc
1380

ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tctactcaaag gcggaatac ggttatccac
1440

agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa
1500

ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca
1560

caaaaatcga cgctcaagtc agagggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc
1620

gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tctgttccg accctgccgc ttaccggata
1680

cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta
1740

tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca
1800

gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaaacta tcgtcttgag tccaaccgga taagacacga
1860

cttatcgcca ctggcagcag cactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg
1920

tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg
1980

tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaataaga gttggtagct cttgatccgg
2040

caaacaaacc accgctggta gcggtggttt tttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag
2100

aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg ggtctgacg ctcaagtggaa
2160

cgaaaactca cgtaaggga ttttggtcat gggcgcgcct aggcctttgc aaagatcgat
2220

caagagacag gatgaggatc gtttcgcagc ttttcattct gactgcaacg ggcaataagt
2280

ctctgtgtgg attaaaaaaa gagtgtctga tagcagcttc tgaactgggtt acctgccgtg
2340

agtaaattaa aattttattg acttaggtca ctaaggcgcc ttgcgctgag gttgcgtcgt
2400

gatatcatca gggcagaccg gttacatccc cctaacaagc tgtataaaga gaaatactat
2460

ctcattggcg ttgccgcac ctgacagtgc gacgttgggc tgcgctccgtc gaccaacggt
2520

accgaggtaa cagcccaatc tatccatgat ctcggccagg ccgggtcggc cgttatgcag
2580

cccggctcgg gtatgaagcc attaaggagc cgaccagcg cgaccgggcg gccggtcacg
2640

ctgcctctgc tgaagcctgc ctgtcactcc ctgcgcggcg taccgcctgt tctcatcgag
2700

taggctccgg atcgcgaccc cggacgggccc ctgggcccag gagcggccta tgacaaatgc
2760

cgggtagcga tccggcattc agcattgact gcgcacggat ccagtccttg caggagcctt
2820

atgccgaccg tagcaaaaaa tgagcccgag ccgatcgcg gttgtgatcc ggtcccgcgg
2880

attgccggtc gcgatgacgg tcctgtgtaa gcgttatcgt taccaattgt ttaagaagta
2940

tatacgctac gaggtacttg ataacttctg cgtagcatac atgaggtttt gtataaaaat
3000

ggcggggcgat atcaacgcag tgtcagaaat ccgaaacagt ctgcgggact ctgggggttcg
3060

aatgaccga ccaagcgacg cccaacctgc catcacgaga tttcgattcc accgccgcct
3120

tctatgaaag gttgggcttc ggaatcgttt tccgggacgc cggctggatg atcctccagc
3180

gcgggggatct catgctggag ttcttcgccc accctaggcg cgctcatgag cggatacata
3240

tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagtg
3300

ccacctaaat tgtaagcgtt aatattttgt taaaattcgc gttaaatttt tgtaaataca
3360

gctcattttt taaccaatag gccgaaatcg gcaaaatccc ttataaatca aaagaataga
3420

ccgagatagg gttgagtgtt gttccagttt ggaacaagag tccactatta aagaacgtgg
3480

actccaacgt caaagggcga aaaaccgtct atcagggcga tggcccacta cgtgaaccat
3540

caccctaattc aagtttttttg gggtcgaggt gccgtaaagc actaaatcgg aaccctaaag
3600

ggagcccccg atttagagct tgacggggaa agccggcgaa cgtggcgaga aaggaagga
3660

agaaagcgaa aggagcgggc gctagggcgc tggcaagtgt agcggtcacg ctgcgcgtaa
3720

ccaccacacc cgccgcgctt aatgcgcgcg tacagggcgc gtcccattcg ccattcaggc
3780

tgcgcaactg ttgggaaggg cgatcgggtgc gggcctcttc gctattacgc cagctggcga
3840

aagggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac
3900

gttgtaaaac gacggccagt gagcgcgcgt aatacgactc actatagggc gaattgggta
3960

ccgggcccc cctcgaggtc gacggtatcg ataagcttga tatcgaattc ctgcagcccg
4020

ggggatccac tagttctaga gcggccgcca ccgcggtgga gctccagctt ttgttccctt
4080

tagtgagggg taattgcgcg cttggcgtaa tcatgggtcat agctgtttcc tgtgtgaaat
4140

tgttatccgc tcacaattcc acacaacata cgagccggaa gcataaagtg taaagcctgg
4200

ggtgcctaata gaggtagcta actcacatta attgcgttgc gc
4242

<210> 269

<211> 16

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 269

tgtgggtgtg tgtggg

16

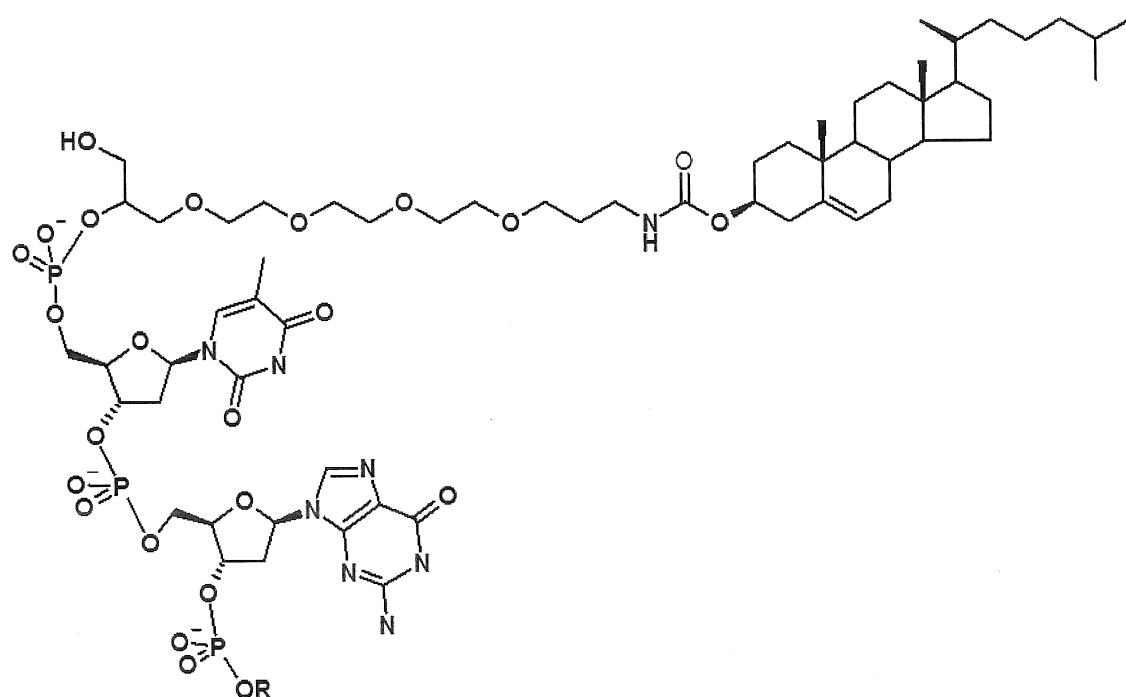


FIG. 1

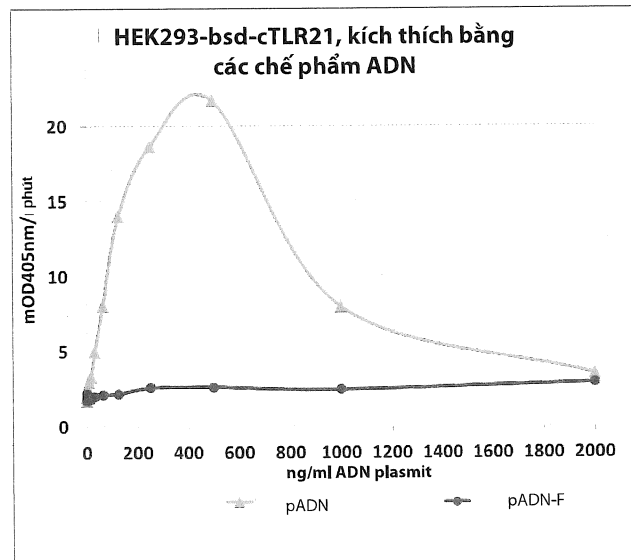


FIG. 2A

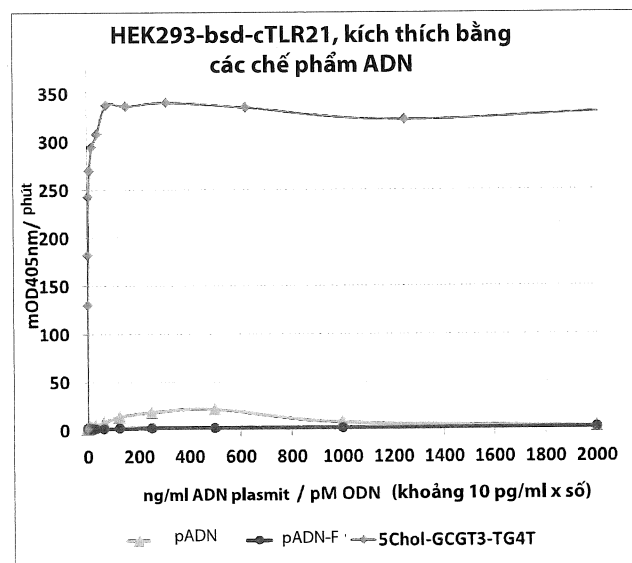


FIG. 2B

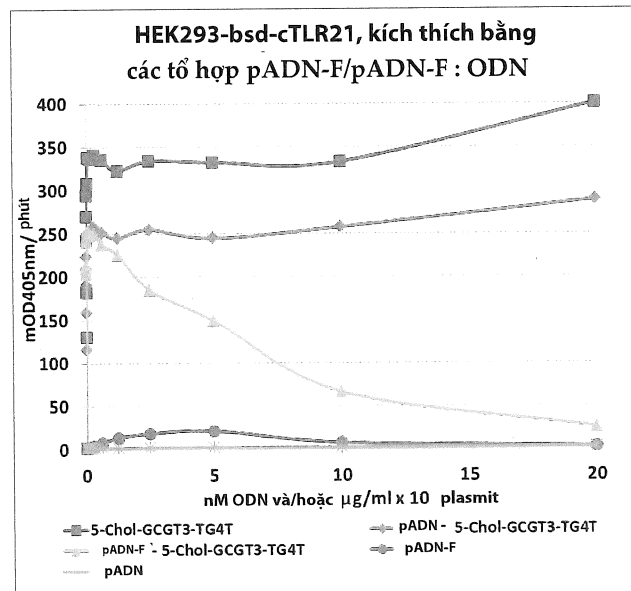


FIG. 3A

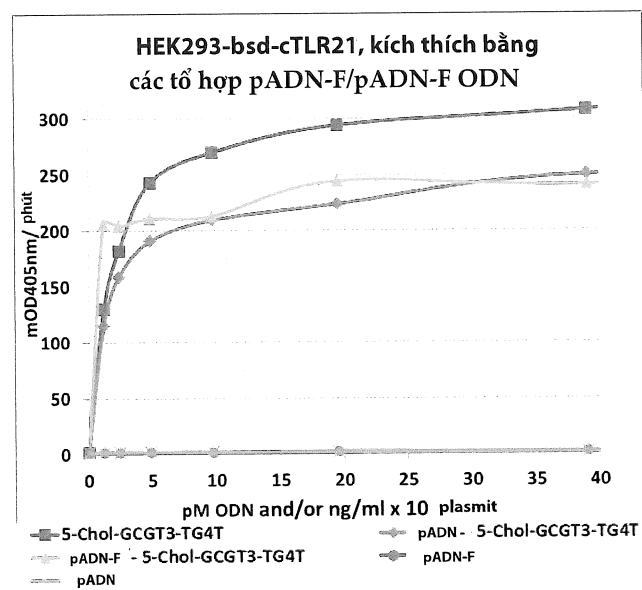


FIG. 3B

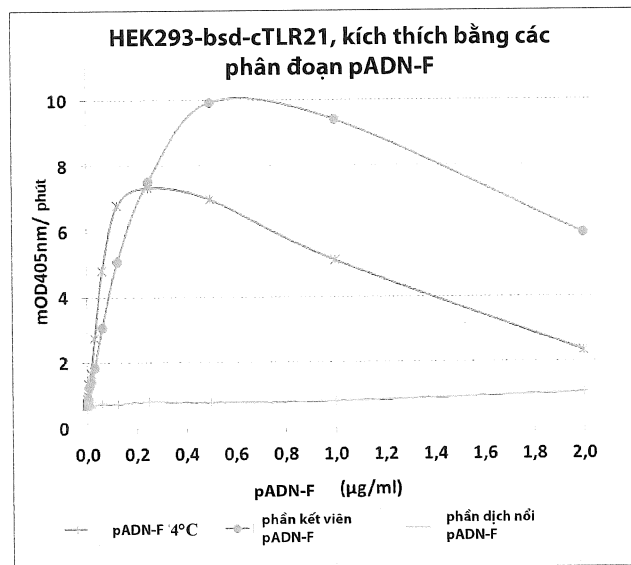


FIG. 4

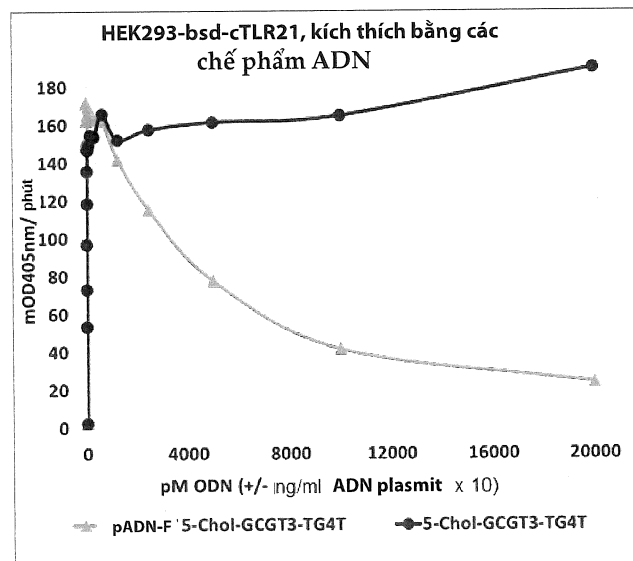


FIG. 5A

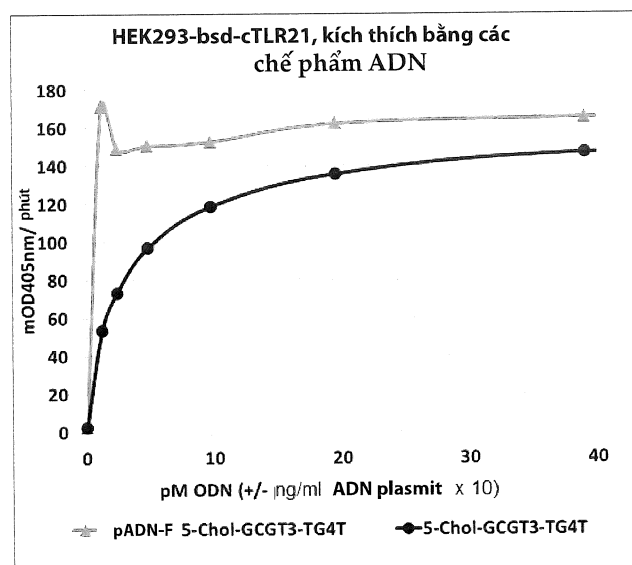


FIG. 5B

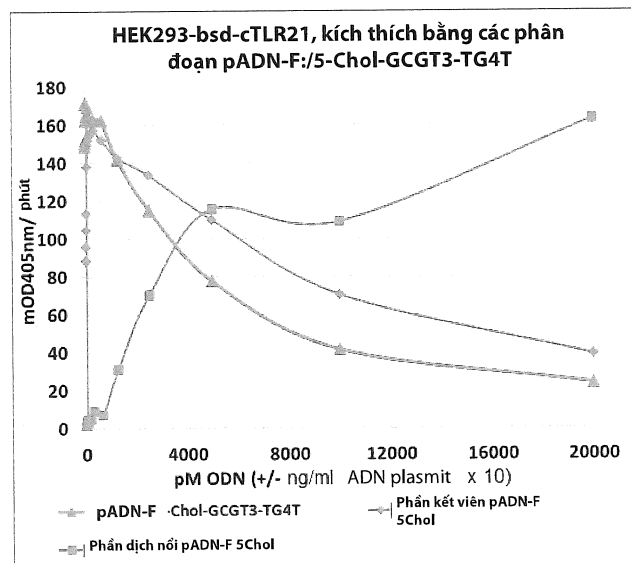


FIG. 6A

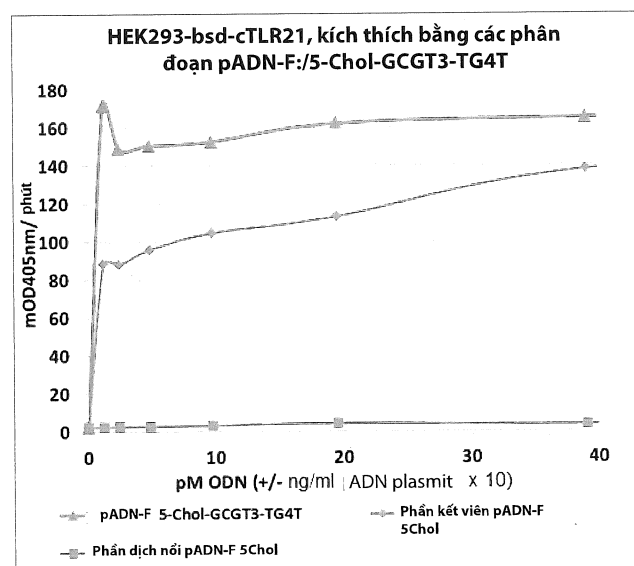


FIG. 6B

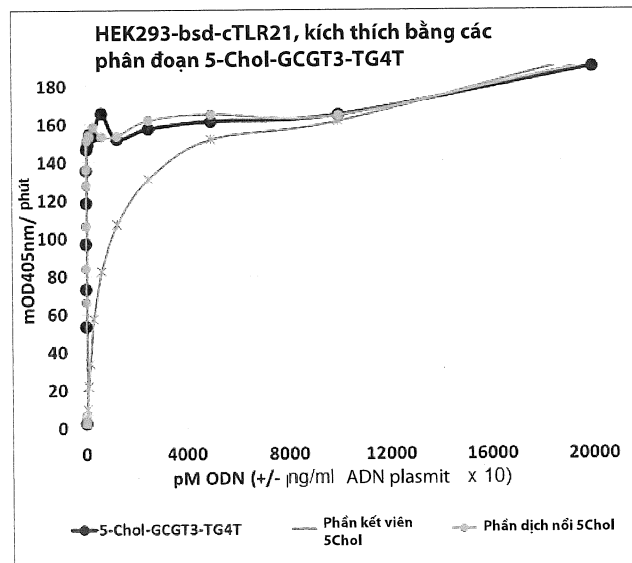


FIG. 7A

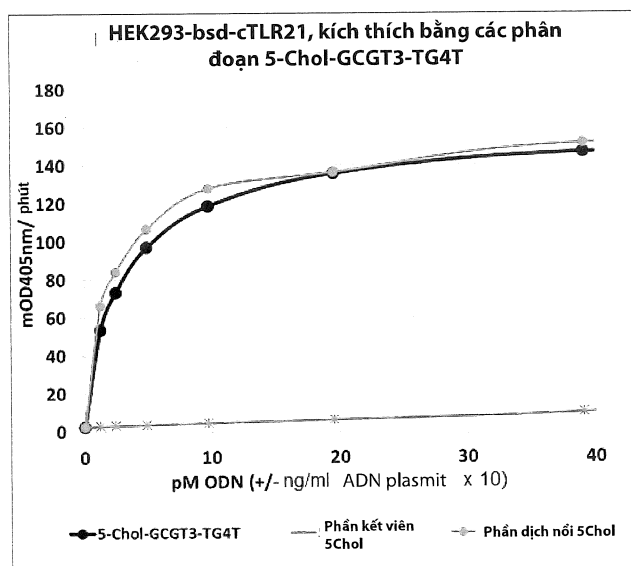


FIG. 7B

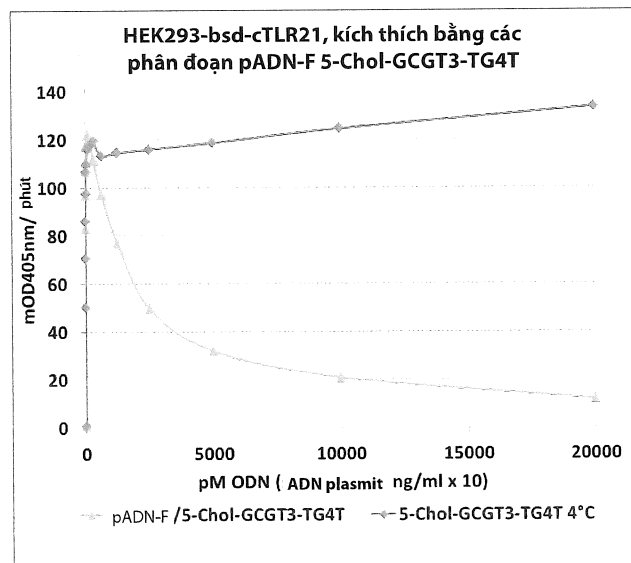


FIG. 8A

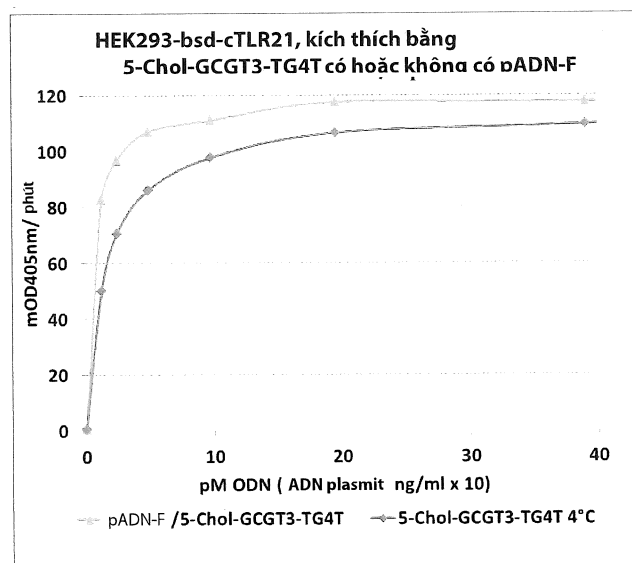


FIG. 8B

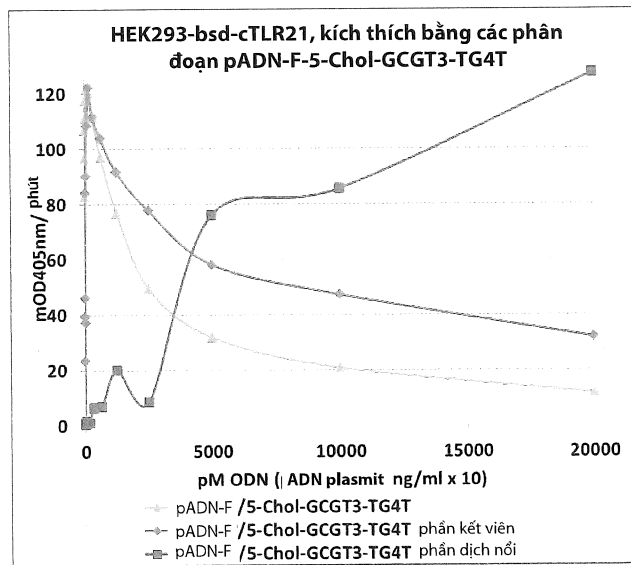


FIG. 9A

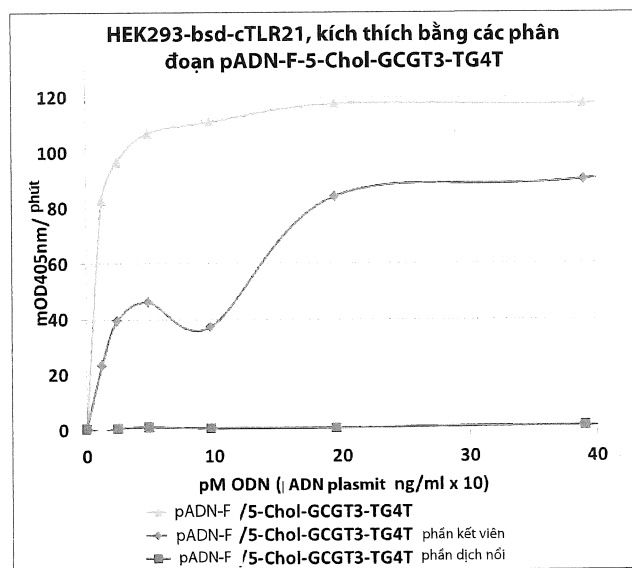


FIG. 9B

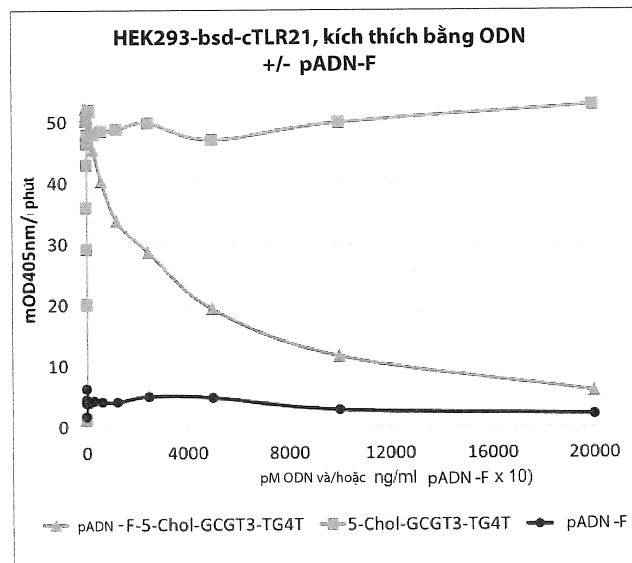


FIG. 10A

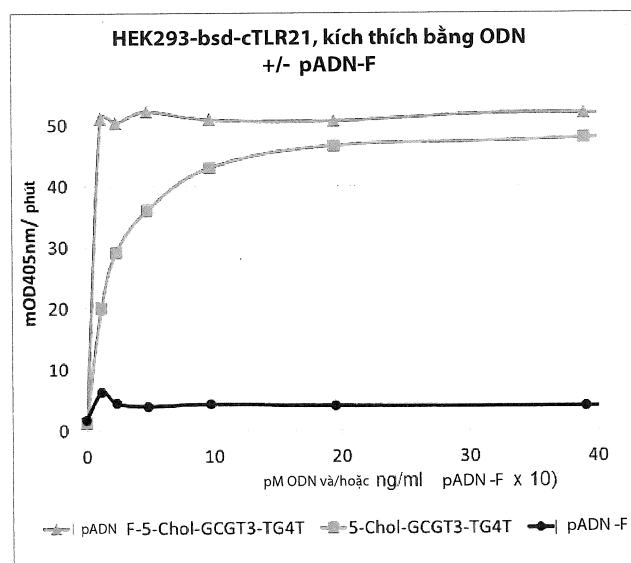


FIG. 10B

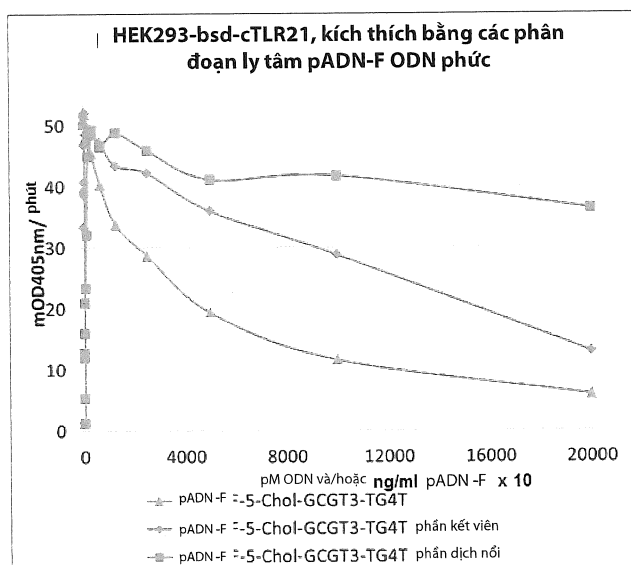


FIG. 11A

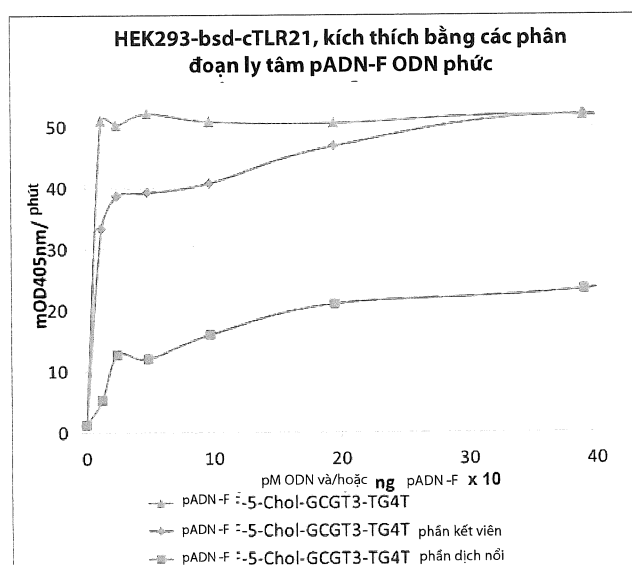


FIG. 11B

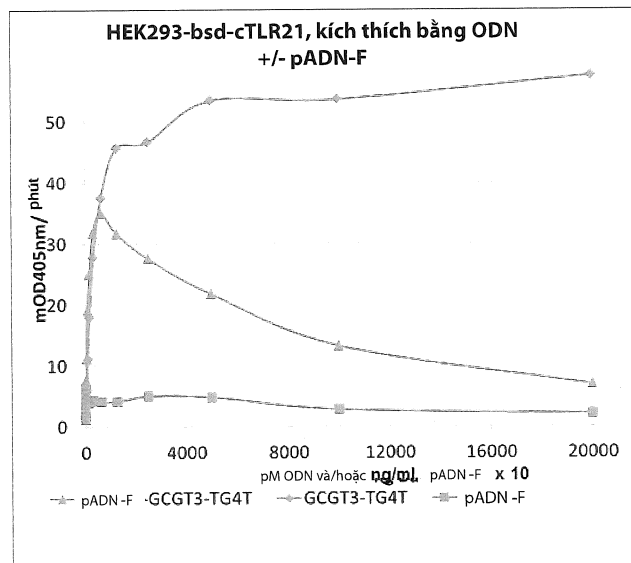


FIG. 12A

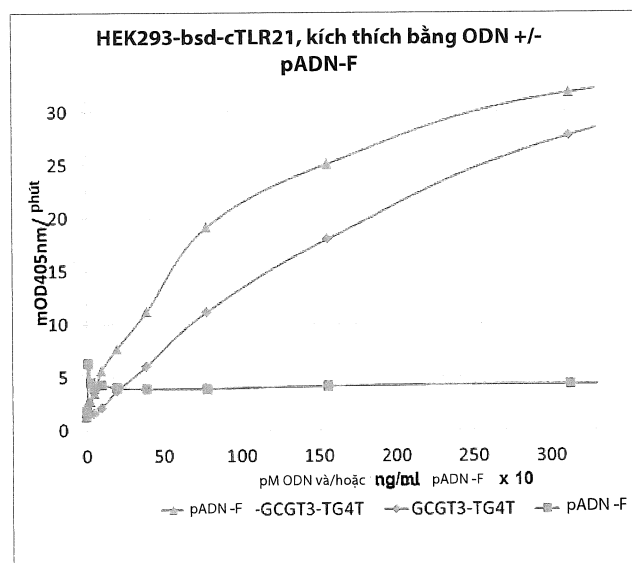


FIG. 12B

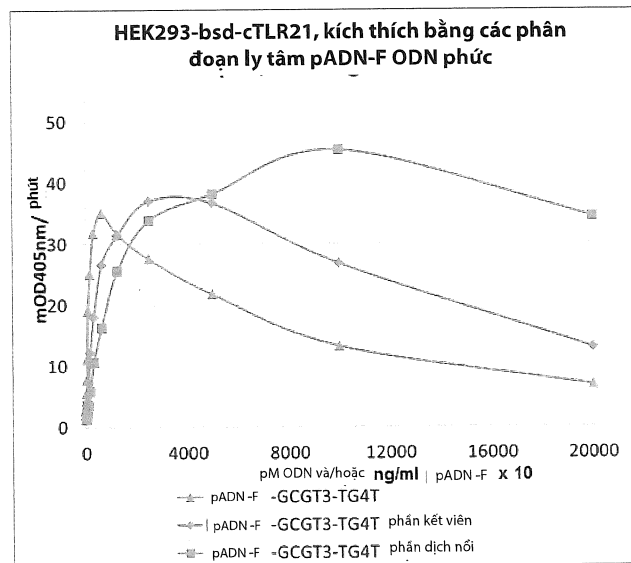


FIG. 13A

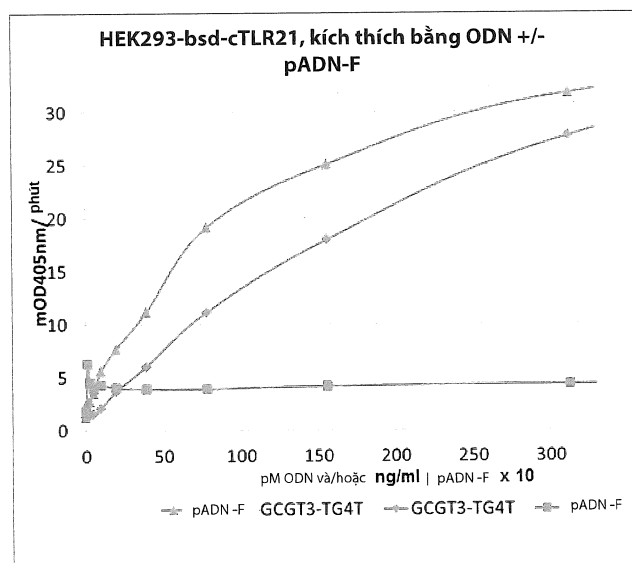
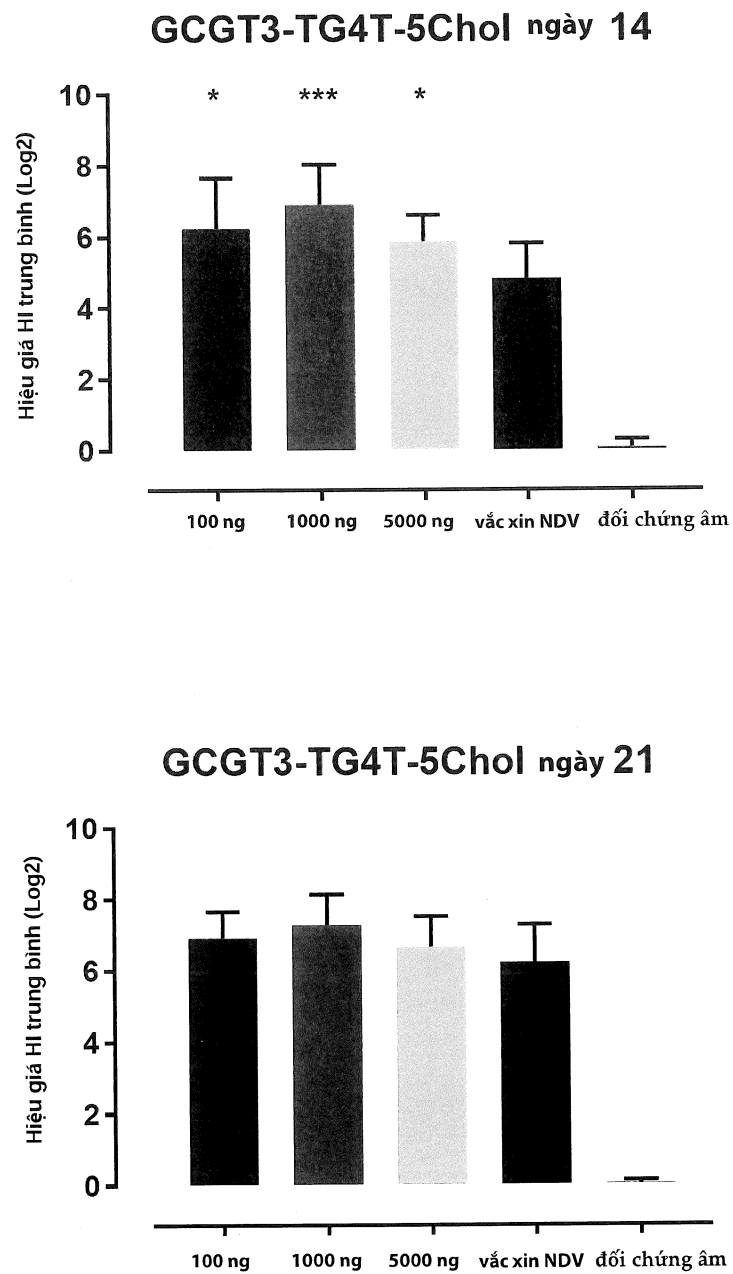
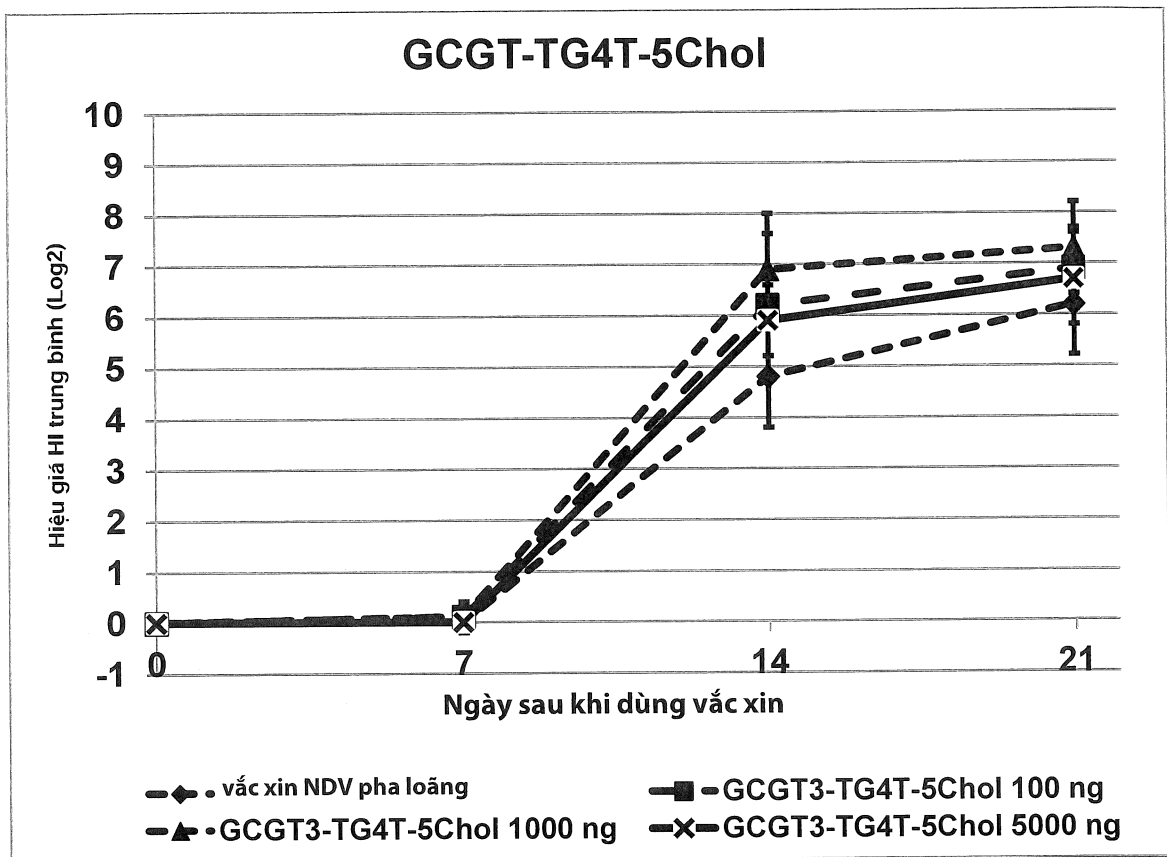
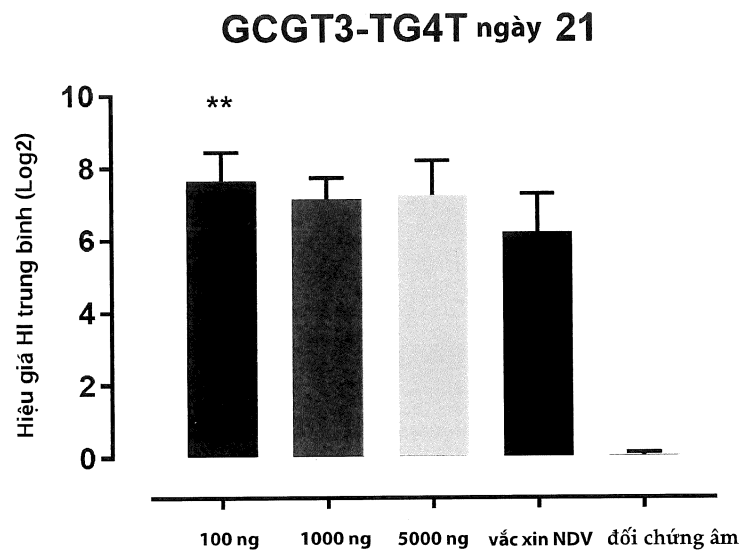
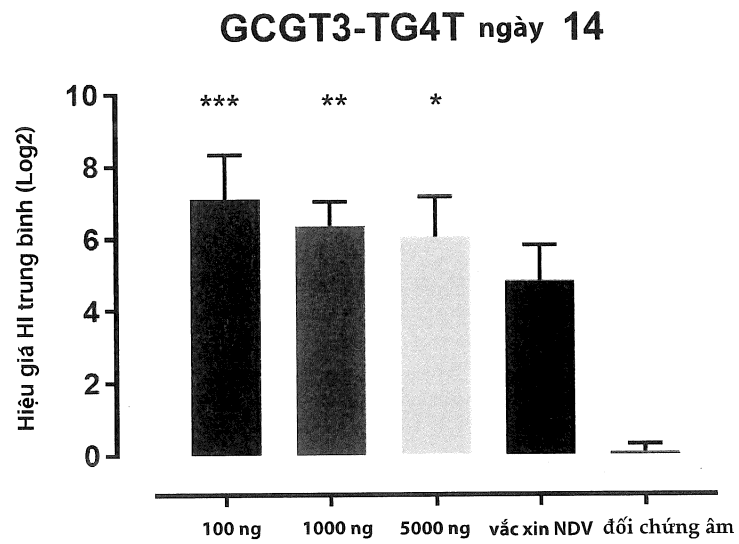
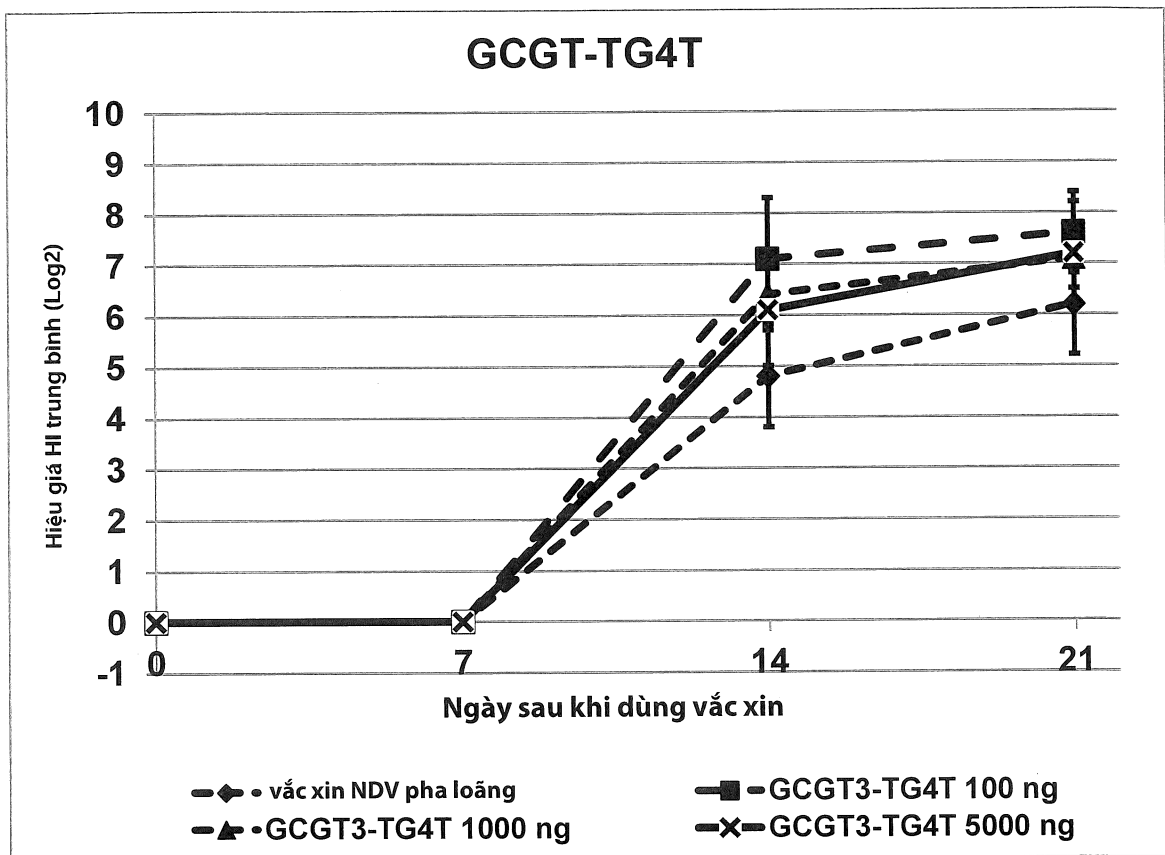


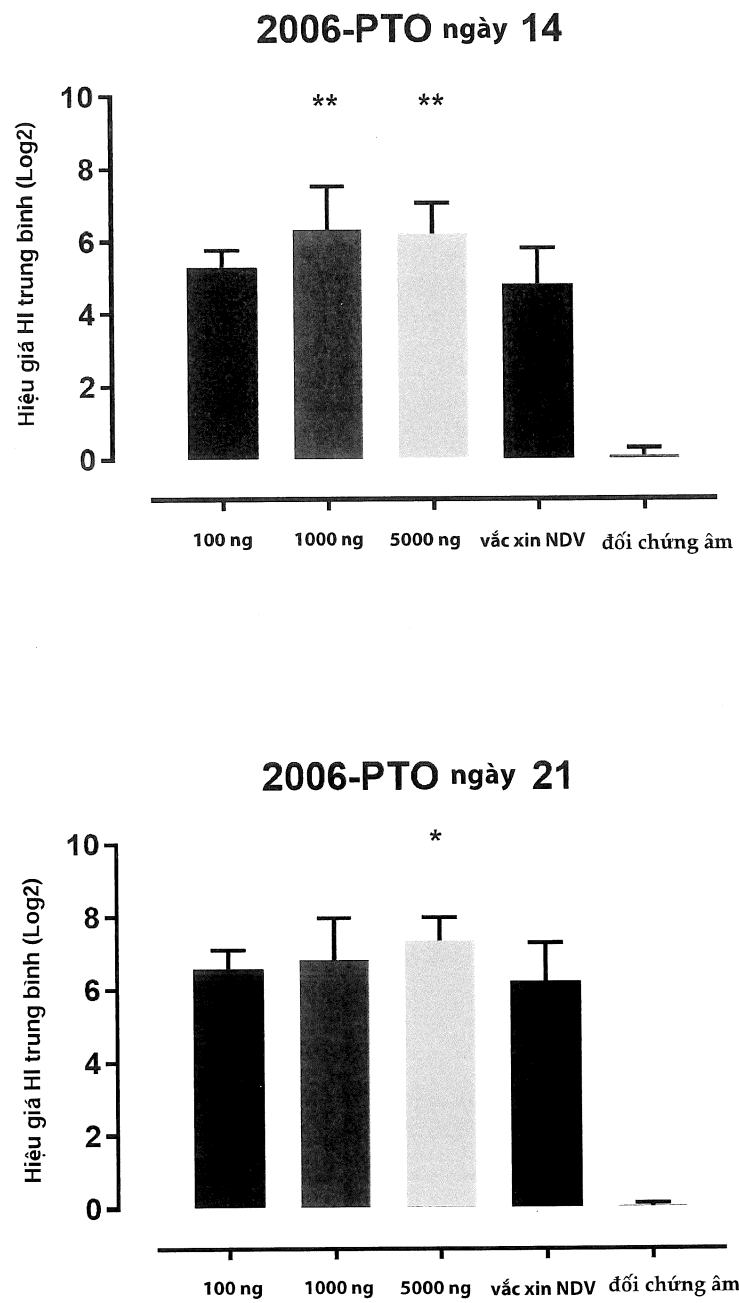
FIG. 13B

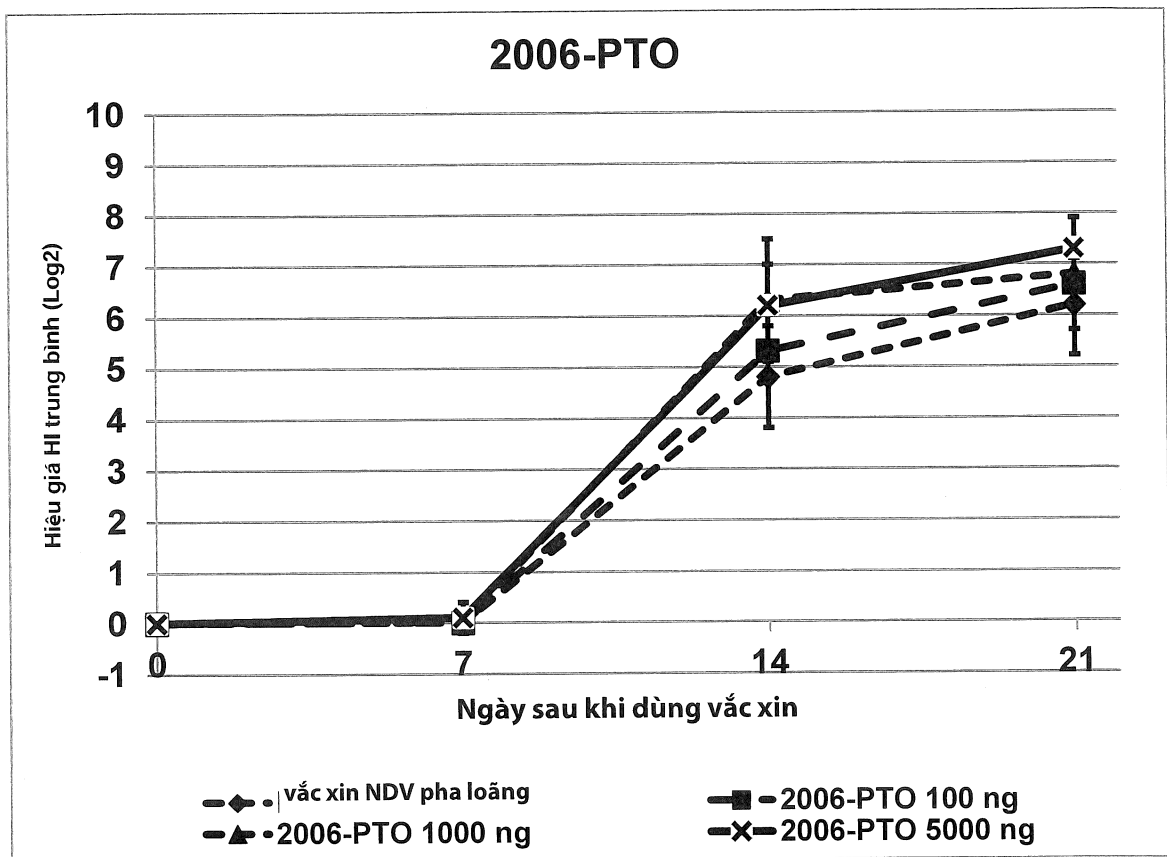
**FIG. 14**

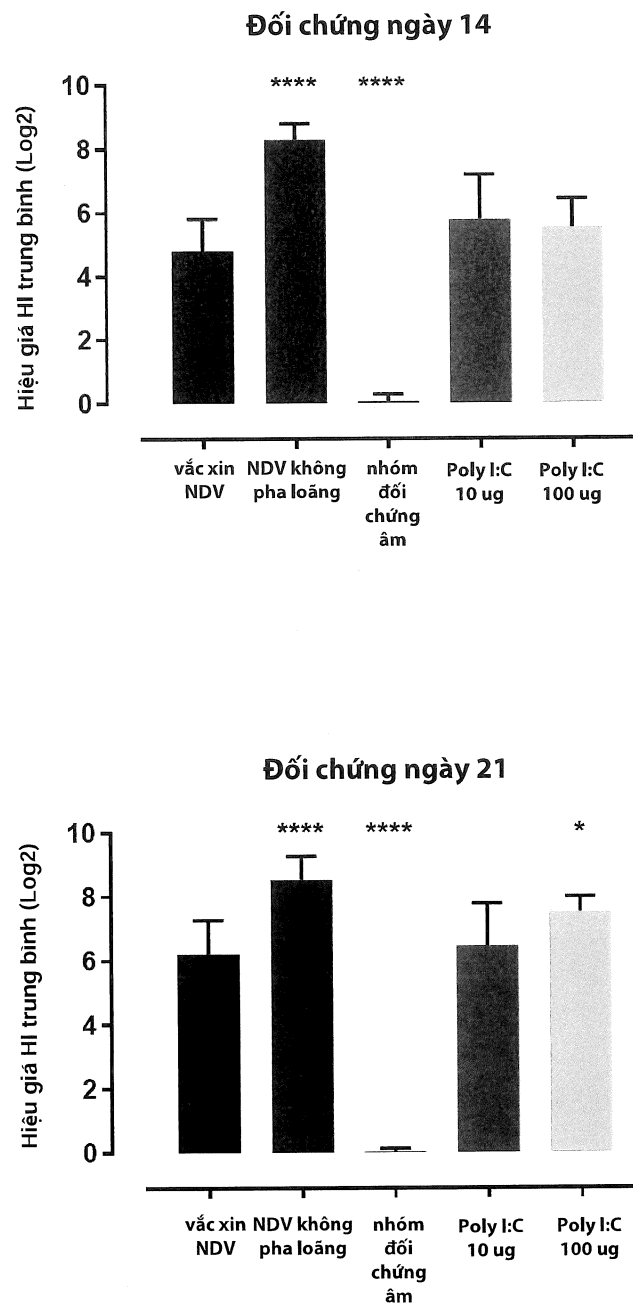
**FIG. 15**

**FIG. 16**

**FIG. 17**

**FIG. 18**

**FIG. 19**

**FIG. 20**

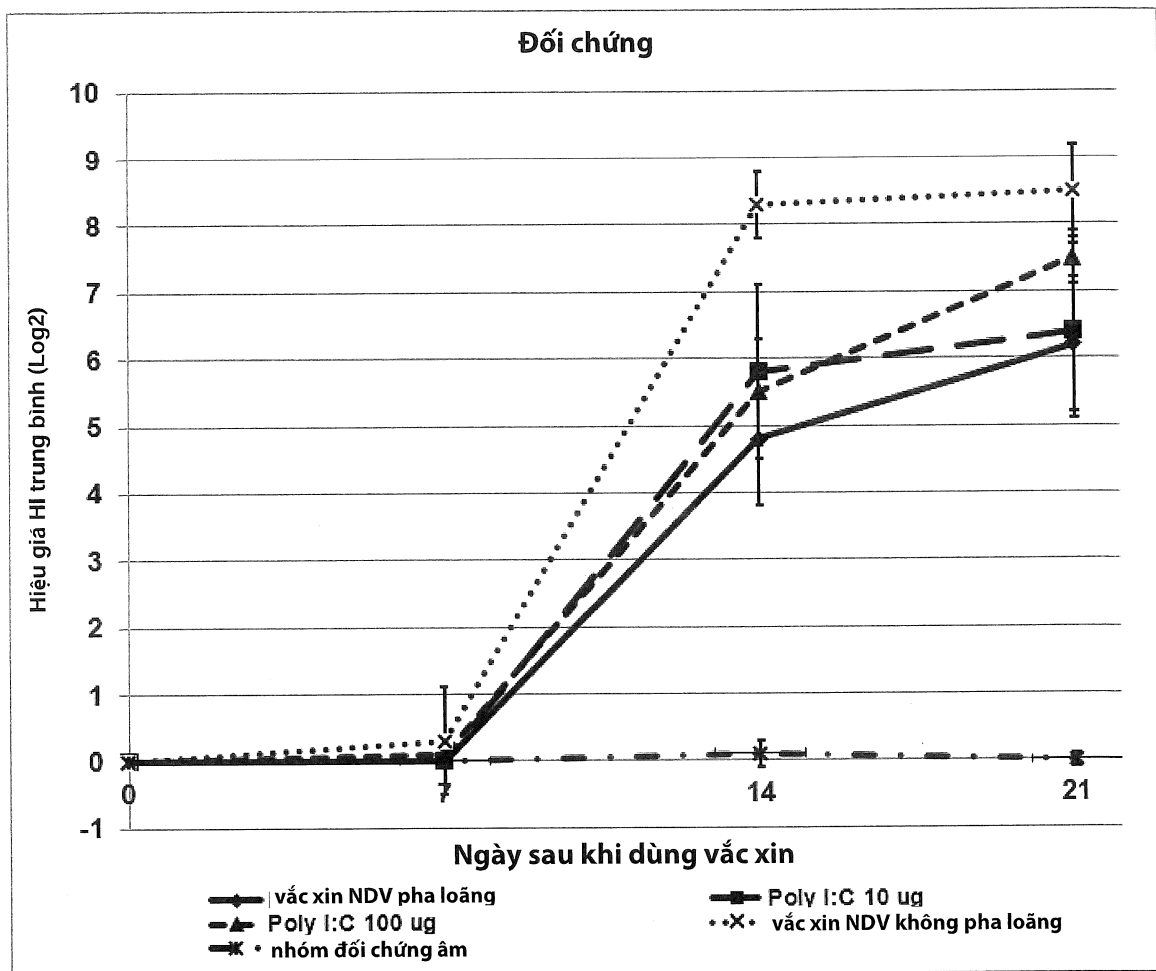
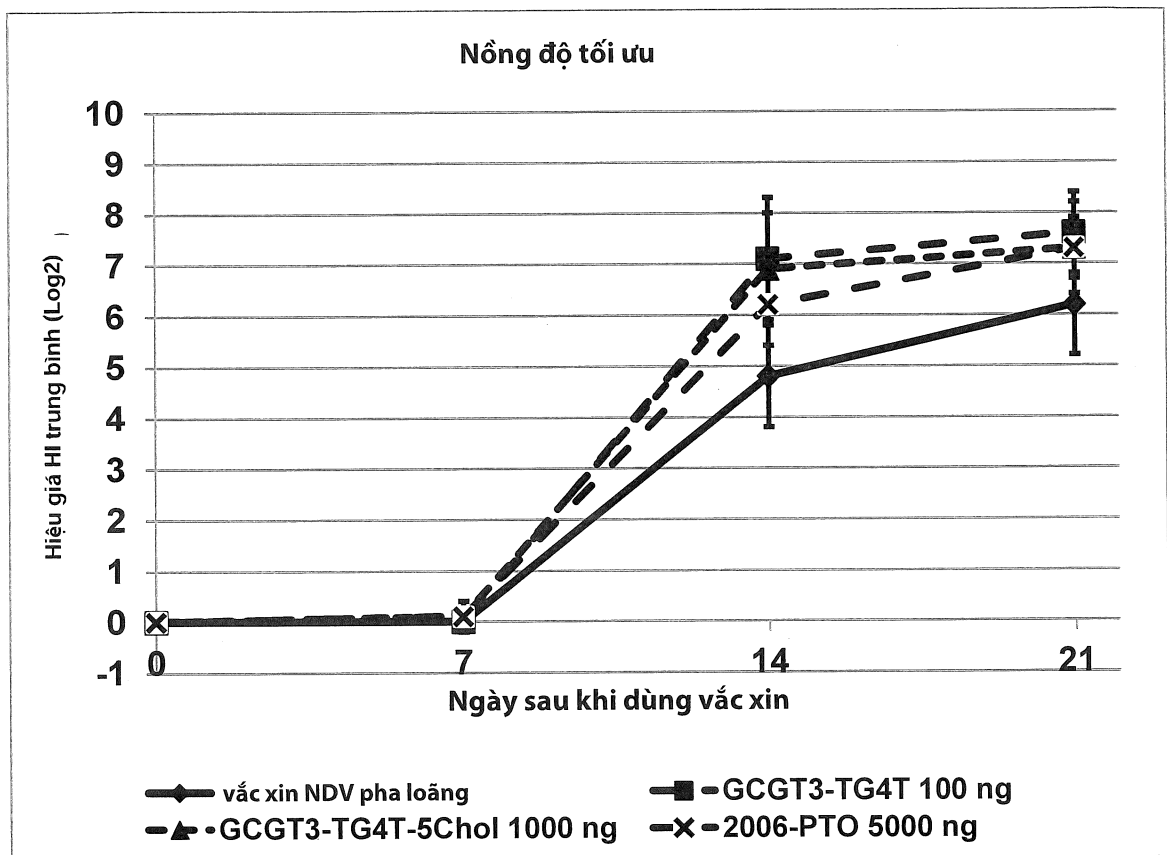
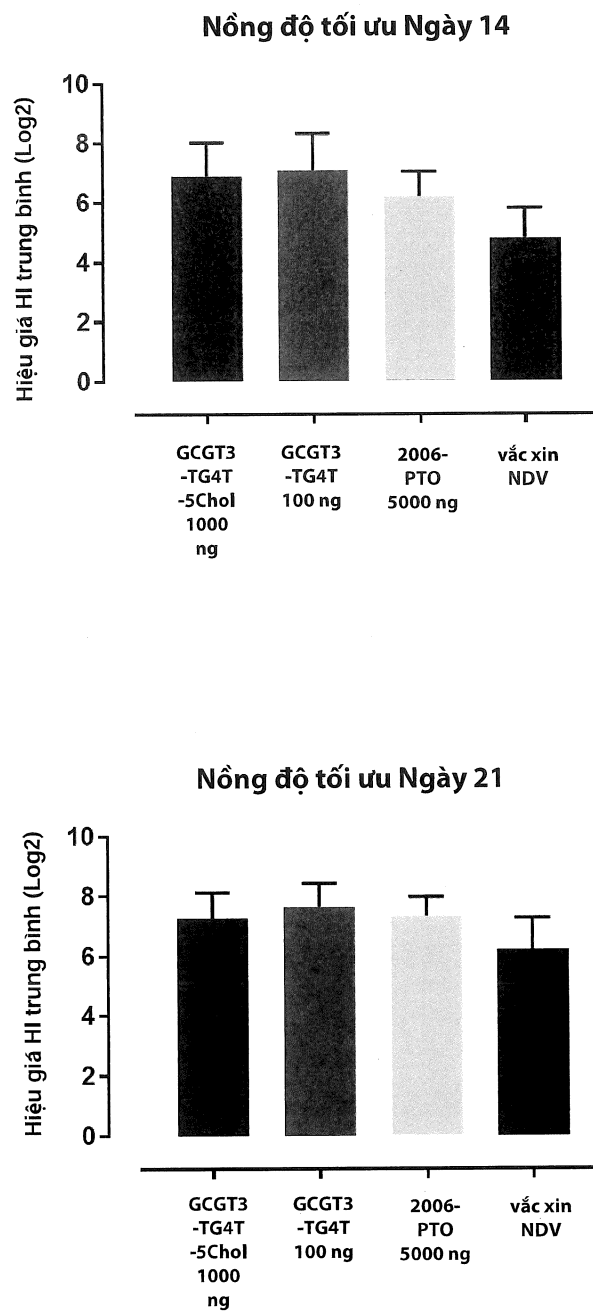


FIG. 21

**FIG. 22**

**FIG. 23**