

Галузь винаходу: цей винахід відноситься до галузі вірусів, більш конкретно – до галузі вірусу африканської чуми свиней (ВАЧС, англ. "ASFV"). Цей винахід відноситься до способів отримання вакцини, яка захищає від інфікування ВАЧС, та до використання такої вакцини для профілактики або полегшення інфекції та (або) поширення у свиней вірусу африканської чуми свиней.

#### Рівень техніки

Африканська чума свиней (АЧС) являє собою вірусне захворювання, до якого схильні лише свійські та дикі свині. Після первинного інфікування симптоми можуть проявитися через дві – десять діб. Залежно від патогенності вірусу гине від 30 % до 100 % заражених тварин. Загальні симптоми охоплюють собою наступне: втрату апетиту, слабкість, почервоніння шкіри, запалення слизових оболонок очей, блювоту, криваву діарею та лихоманку. На додаток до цього, шкіра може посиніти, ділянки шкіри – відмирати (чорні плями) та можуть виникати кровотечі. Крім того, ця хвороба може спричиняти спонтанні викидні у вагітних свиноматок. Також може наступити раптова смерть без попередніх помітних симптомів. Симптоми АЧС нагадують симптоми класичної чуми свиней.

Свині можуть пережити гостру фазу і нібито одужати, лише щоби стати тривалими носіями вірусу (від кількох місяців до всієї тривалості життя), і таким чином знову виділяти вірус і заражати інших тварин.

Цей вірус поширюється безпосередньо – від тварини до тварини, та опосередковано – через забруднені матеріали, такі як фекалії, свинина та інші продукти свинарства, кусючі мухи та кліщі, особливо через різновид м'якого кліща *Ornithodoros moubata*, в якому цей вірус розмножується. Харчові відходи або субпродукти від заражених свиней також можуть містити АЧС, що сприяє поширенню вірусу. Робляться такі спроби, як міжнародні заходи та підтримка пильності на свинарських фермах для запобігання подальшому поширенню цього захворювання. З 2007 року відбулося декілька спалахів АЧС у Східній Європі, Китаї та Росії. АЧС нещодавно діагностували у популяції диких кабанів у Бельгії.

АЧС викликається великим вірусом із дволанцюговою ДНК, що належить до сімейства *Asfarviridae*. Його ДНК-геном має значні коливання в довжині – від 160 до 210 т. п. о., в залежності від ізоляту. Цей геном охоплює собою від 150 до 167 відкритих рамок зчитування, що визначають 54 структурних білки частинки вірусу АЧС і більше ніж 100 інфекційних білків [Dixon et al., 2013. *Virus Res* 173: 3-14]. На сьогоднішній день ідентифіковано вісім сірологічних груп, які називаються сірогрупами 1 – 8, але, цілком імовірно, що буде виявлено ще більше сірогруп. Складність та мінливість вірусу ускладнили виробництво вакцини, яка захищає від інфекцій АЧС. Було використано декілька різних підходів, включно з інактивованими вакцинами, субодичними вакцинами, аттенуйованими живими вакцинами та рекомбінантними живими аттенуйованими вакцинами [Arias et al., 2017. *Vaccines* 5, 35; doi: 10.3390/vaccines5040035].

Встановлено, що інактивовані вакцини не забезпечують захисту навіть у присутності ад'ювантів [Stone et al., 1967. *Am J Vet Res* 28: 475-481; Blome et al., 2014. *Vaccine* 32: 3879-3882].

Субодичні вакцини не забезпечують жодний або забезпечують лише частковий захист. Деякою мірою це може бути пов'язано з великою кількістю закодованих білків (~ 160) та труднощами з вибором відповідних білків. Крім того, послідовність великої кількості білків ВАЧС не схожа з відомими білками [Dunigan et al., 2006. *Virus Research* 117: 119-132], що ускладнює прогнозування функції цих білків.

Живі аттенуйовані вакцини отримують або з вірулентних штамів, або з природних низько вірулентних штамів, таких як OURT88/3 [Boinas et al., 2004. *J Gen Virol* 85: 2177-2187] та NH/68 [Gil et al., 2008. *Arch Virol* 153: 1845-1854]. Ці живі аттенуйовані вакцини часто забезпечують до 100 % захисту від гомологічних штамів, але лише частковий перехресний захист від гетерологічних штамів. На додаток до цього, вони часто спричиняють неприємні побічні ефекти, такі як пневмонія, рухові порушення, некротичні вогнища, викидні та навіть смерть [Sánchez-Cordón et al., 2018. *Vet J* 233: 41-48; Arias et al., 2017. *Vaccines* 5, 35; doi: 10.3390/vaccines5040035].

Найбільш перспективні результати нещодавно були отримані з рекомбінантними живими аттенуйованими вакцинами, в які для досягнення прийнятних рівнів безпеки та ефективності були введені генні делеції або комбінації генних делецій. Спостерігався захист від певних ізолятів, хоча він комбінувався з різними рівнями залишкової вірулентності, що, цілком імовірно, залежить від конкретного використаного штаму [Sánchez-Cordón et al., 2018. *Vet J* 233: 41-48; Arias et al., 2017. *Vaccines* 5, 35; doi: 10.3390/vaccines5040035]. Довгострокова генетична стабільність цих делеційних мутантів невідома, як і результати більш масштабного випробування в польових умовах.

Таким чином, існує потреба у вакцині, яка була б ефективною та безпечною, та забезпечувала б захист від інфікування великою кількістю різних штамів вірусу АЧС.

#### 2 Стислий опис суті винаходу

У цьому винаході, таким чином, представлено рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, переважно – рекомбінантну молекулу ДНК, яка містить експресійну касету, що кодує поліепітоп, який містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней, при цьому зазначені Т-клітинні антигени розділені спейсерами, переважно – спейсерами з 1-10 амінокислотних залишків, які містять

сигнали для протеасомного розщеплення. Зазначений поліепітоп переважно містить 2-50 пептидів як Т-клітинні антигени. Зазначений поліепітоп переважно містить 2-50 нонапептидів як Т-клітинні антигени, переважно – нонапептиди 1-13 та 15-20, як показано в Таблиці 1, які розділені спейсерами із приблизно 1-5 амінокислотних залишків, переважно – спейсерними послідовностями 1-11, як показано в Таблиці 2.

Рекомбінантна молекула згідно з цим винаходом може додатково кодувати універсальний Т-клітинний епітоп. Зазначена рекомбінантна молекула згідно з цим винаходом може додатково містити нуклеотидну послідовність для убіквітину, переважно – на 5'-кінці поліепітопу.

У цьому винаході також представлено вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу згідно з цим винаходом. Зазначена вірусна частинка може додатково містити маркерний білок.

У цьому винаході також представлено спосіб стимулювання імунної відповіді у свині, що охоплює собою введення рекомбінантної молекули згідно з цим винаходом та (або) вірусної частинки згідно з цим винаходом. Зазначене введення переважно здійснюється у комбінації з вірусною частинкою, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней, свині в кількості, ефективній для індукування імунної відповіді. Зазначена рекомбінантна молекула переважно вводиться парентерально, переважно – внутрішньом'язово та (або) внутрішньошкірно, переважно – шляхом імуоелектропорації. Зазначена рекомбінантна молекула та (або) вірусна частинка переважно вводяться 2-4 рази, переважно – з інтервалами приблизно 2 тижні. Переважно, щоби принаймні одне із введень рекомбінантної молекули нуклеїнової кислоти та (або) вірусної частинки комбінувалося із введенням синтетичних Т-клітинних антигенів з білків вірусу африканської чуми свиней. Щонайменше одне з повторних введень рекомбінантної молекули та (або) вірусної частинки комбінується з введенням вірусної частинки, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено композицію, що містить рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти згідно з цим винаходом та (або) вірусну частинку згідно з цим винаходом, а також ветеринарно прийнятний ексципієнт.

У цьому винаході також представлено вакцину, що містить ефективну імунізуючу кількість композиції, яка містить рекомбінантну молекулу згідно з цим винаходом та (або) вірусну частинку згідно з цим винаходом, та ветеринарно прийнятний ексципієнт.

У цьому винаході також представлено спосіб профілактики або полегшення інфекції та (або) поширення у свиней вірусу африканської чуми свиней, що охоплює собою введення рекомбінантної молекули згідно з цим винаходом та (або) вірусної частинки згідно з цим винаходом щонайменше одній свині. Зазначене введення рекомбінантної молекули та (або) вірусної частинки переважно комбінується із введенням вірусної частинки, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено вірусну частинку, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено набір вірусних частинок та набір компонентів, що містять В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено набір вірусних частинок, що охоплює собою вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу за будь-яким із пп. 1-5, та одну або декілька вірусних частинок, що містять В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено набір компонентів, що охоплює собою вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу згідно з цим винаходом та одну або декілька вірусних частинок, що містять В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено набір компонентів, що охоплює собою вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу згідно з цим винаходом та синтетичні Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено вірусну частинку, яка містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, або набір вірусних частинок, які містять В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, для застосування у способі захисту свині від подальшого інфікування вірусом африканської чуми свиней.

3 Стислий опис графічних матеріалів

Фіг. 1. Послідовності

1А. Вставка рекомбінантної молекули нуклеїнової кислоти із зазначенням убіквітину та Т-клітинних

епітопів.

1В. Вставка ASFDVAC2. Жирним шрифтом вказано амінокислотну послідовність убіквітину та Т-клітинні антигени 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 20, 11 та 18, як зазначено в Таблиці 1. Курсивом позначено амінокислотну послідовність PADRE та нуклеотидну послідовність CpG.

1С. Нуклеотидна послідовність MVA-p30+B602L (3106 п. о.). У напрямку від 5'-кінця вказані сайт Swal – великими літерами, лівий фланг ТК, промотор MVA 13.5L – жирним і підкресленим шрифтом, послідовність Козака, жирним шрифтом – кодувальна послідовність гена p30 зі штаму E75, підкресленим шрифтом – послідовність мітки FLAG, стоп-кодон – курсивом, великими літерами – послідовність термінації з mH5, рання/ пізня промоторна послідовність mH5 – жирним і підкресленим шрифтом, послідовність Козака, кодувальна послідовність для BA71V-B602L (9RL) – жирним шрифтом, послідовність потрібної мітки FLAG – підкресленим шрифтом, стоп-кодон – курсивом, великими літерами – послідовність термінації з C11R, правий фланг ТК, і сайт Swal – великими літерами.

1D. Нуклеотидна послідовність MVA-p54+EP402R+K205R (3309 п. о.). У напрямку від 5'-кінця вказані сайт Swal – великими літерами, лівий фланг ТК, промотор MVA 13.5L – жирним і підкресленим шрифтом, послідовність Козака, жирним шрифтом – кодувальна послідовність гена p54, підкресленим шрифтом – послідовність мітки FLAG, стоп-кодон – курсивом, великими літерами – послідовність термінації з mH5, рання/ пізня промоторна послідовність mH5, кодувальна послідовність для BA71V-B602L (9RL) – жирним шрифтом, послідовність потрібної мітки FLAG – підкресленим шрифтом, стоп-кодон – курсивом, великими літерами – послідовність термінації з C11R, промоторна послідовність LEO – жирним і підкресленим шрифтом, послідовність Козака, жирним шрифтом – кодувальна послідовність гена BA71V-K205R, підкресленим шрифтом – послідовність мітки FLAG, стоп-кодон – курсивом, великими літерами – послідовність термінації з M2L, правий фланг ТК, і сайт Swal – великими літерами.

1Е. Нуклеотидна послідовність MVA-p72+A104R (2992 п. о.). У напрямку від 5'-кінця вказані сайт Swal – великими літерами, лівий фланг ТК, промотор MVA 13.5L – жирним і підкресленим шрифтом, послідовність Козака, жирним шрифтом – кодувальна послідовність гена p72, підкресленим шрифтом – послідовність мітки FLAG, стоп-кодон – курсивом, великими літерами – послідовність термінації з mH5, рання/ пізня промоторна послідовність mH5 – жирним і підкресленим шрифтом, послідовність Козака, кодувальна послідовність для BA71V-A140R – жирним шрифтом, підкресленим шрифтом – послідовність мітки FLAG, стоп-кодон – курсивом, великими літерами – послідовність термінації з C11R, правий фланг ТК, і сайт Swal – великими літерами.

Фіг. 2. Результати вакцинації рекомбінантною конструкцією нуклеїнової кислоти

2А. Криві виживання. 2В. Клінічні показники для кожної групи у зазначену добу після зараження (ДПЗ). Білі колонки позначають тварин, які загинули. 2С. Результати аналізу ELISPOT мононуклеарних клітин периферичної крові, які були виділені зі свиней у зазначену ДПЗ. Клітини стимулювали середовищем, вірусом та пептидами (вакциною), як зазначено.

Фіг. 3. Результати вакцинації вірусними конструкціями

3А. Криві виживання. 3В. Середні показники тяжкості захворювання свиней у різних групах. 3С. Клітинно-опосередкована імунна відповідь у трьох групах лікування. Мононуклеарні клітини периферичної крові виділяли зі свиней у зазначену добу після зараження (вісь Х: ДПЗ). Вісь Y: продукування гамма-інтерферону, як визначено за допомогою ELISPOT. Клітини стимулювали середовищем (негативний контроль), вірусом (ПВБ) та пептидами, як зазначено.

4 Детальний опис суті винаходу

4.1 Визначення

При використанні в цьому документі термін "Т-клітинний епітоп" або "Т-клітинний антиген" відноситься до епітопу, який може бути розпізнаний імунною системою після внутрішньоклітинного процесингу антигена. Після процесингу Т-клітинний епітоп пов'язується із щонайменше однією молекулою ГКГ і експресується на поверхні клітини, яка презентує антиген, у вигляді комплексу ГКГ – пептид. Т-клітинні епітопи, презентовані молекулами ГКГ класу I, зазвичай мають довжину від 8 до 11 амінокислот, тоді як молекули ГКГ класу II можуть презентувати пептиди довжиною приблизно 12-25 амінокислот, переважно – приблизно 13-17 амінокислот. Доступні програмні програми, які можуть передбачати потенційні Т-клітинні епітопи всередині білків на основі, наприклад, профілів амфіпатичності білків, мотивів послідовностей, кількісних матриць, штучних нейронних мереж, машин опорних векторів, кількісного взаємозв'язку структури та активності, та моделювань молекулярного стикування [Desai and Kulkarni-Kale, 2014. Methods Mol Biol 1184: 333-64]. Ці програми охоплюють собою IEDB Analysis Resource, ELISpot (PepScan, Лелістад, Нідерланди), RANKPEP [Reche et al., 2004. Immunogenetics 56: 405-19], nHLAPred [Bhasin and Raghava, 2007. J Biosci 32: 31-42] та NetMHC [Lundegaard et al., 2008. Nucleic Acids Res 36: W509-12].

Переважним Т-клітинним епітопом або Т-клітинним антигеном, як цей термін використовується в цій заявці, є епітоп ГКГ класу I, який також називають цитотоксичним Т-клітинним епітопом, що містить 8-11 амінокислотних залишків, переважно – приблизно 9 амінокислотних залишків.

При використанні в цьому документі термін "поліепітоп" відноситься до біомолекули, переважно – до пептиду або білка, який має безліч епітопів, таких як Т-клітинні епітопи, переважно – епітопи ГКГ класу I. Зазначені окремі епітопи переважно розділяються лінкерними послідовностями. Зазначені лінкерні послідовності забезпечують гнучкість і можуть брати участь у процесингу поліепітопу в окремі епітопи.

При використанні в цьому документі термін "експресійна касета" відноситься до молекули нуклеїнової кислоти, яка забезпечує експресію однієї або декількох відкритих рамок читування, які присутні у зазначеній касеті. Експресійна касета переважно містить промоторну послідовність, принаймні одну відкриту рамку читування та 3'-нетрансбовану ділянку, яка переважно містить сигнал поліаденілування. Експресійна касета може додатково містити енхансерні послідовності, один або декілька посттранскрипційних регуляторних елементів та (або) одну або декілька інтронних послідовностей. Для експресії в еукаріотичних клітинах зазначені посттранскрипційні регуляторні елементи та (або) одна або декілька інтронних послідовностей можуть посилити транспорт із ядра клітини продуктів транскрипції, тобто матричної РНК, експресійної касети, щоби забезпечити трансляцію РНК у цитоплазмі клітини. Зазначена експресійна касета переважно оптимізована для експресії у свиней.

При використанні в цьому документі термін "пептид" відноситься до білкової молекули, яка містить 2-50 амінокислотних залишків. Пептид може бути присутнім у більшому білку до процесингу цього білка в окремі пептиди.

При використанні в цьому документі термін "білок" відноситься до білкової молекули, яка містить більше 50 амінокислотних залишків.

При використанні в цьому документі термін "нонапептид" відноситься до пептиду, який містить дев'ять амінокислотних залишків.

При використанні в цьому документі термін "спейсер" відноситься до малих пептидів, переважно з 1-10 амінокислотних залишків, більш переважно – з 1-5 амінокислотних залишків, які присутні між окремими епітопами поліепітопу і забезпечують гнучкість та процесинг епітопів протеасомою, та презентацію окремих епітопів посередництвом ГКГ. Амінокислотні послідовності відповідних спейсерів наведені, наприклад, в US20130011424, та в Toes et al., 2001. J Exp Med 194: 1-12, які включені в цей документ шляхом посилання.

При використанні в цьому документі термін "універсальний Т-клітинний епітоп" відноситься до пептидної послідовності, яка пов'язується та представляється багатьма різними молекулами ГКГ, і тому передбачається, що вона активує імунну систему багатьох особин. Зазначений універсальний Т-клітинний епітоп переважно являє собою епітоп ГКГ класу II, який також називають Т-хелперним клітинним епітопом.

При використанні в цьому документі термін "нуклеотидна послідовність убіквітину" відноситься до молекули нуклеотиду, яка кодує убіквітин. Убіквітин являє собою білок із 76 амінокислот, послідовність якого високо консервативно збережена протягом еволюції від безхребетних до ссавців. Убіквітин бере участь в АТФ-залежному нелізосомальному протеолізі. Зазначена нуклеотидна послідовність переважно експресує амінокислотну послідовність N-MQIFVKTLTGKTITLEVEPSDTIENVKAKIQDKEGIPPDQQLIFAGKQLEDGRTLSDYNIQKESTLHLVLRIRG.

При використанні в цьому документі термін "вірусна частинка" відноситься до інфекційної вірусної частинки або вірусоподібної частинки, яка аттенуована та не здатна до автономного поширення. Геном вірусної частинки переважно містить делеції в генах, які мають значення для відділення зазначеної частинки від зараженої клітини. Делеція зазначених генів забезпечує простір для вставки чужорідних генів, що кодують, наприклад, рекомбінантну молекулу ДНК, яка містить експресійну касету, що кодує В-клітинні епітопи та (або) Т-клітинні епітопи згідно з цим винаходом.

При використанні в цьому документі термін "свиня" відноситься до тварини з сімейства парнокопитних тварин Suidae. Термін свиня охоплює собою домашню свиню та її предка – звичайного євразійського дикого кабана (*Sus scrofa*), палаванську бородату свиню, борнейську бородату свиню, свиню Г'юда або в'єтнамську бородавчасту свиню, вісайську бородавчасту свиню, целебеську бородавчасту свиню, флореську бородавчасту свиню, міндорську бородавчасту свиню, філіппінську бородавчасту свиню, яванську бородавчасту свиню, бабірусу та бородавочника.

При використанні в цьому документі термін "ефективна кількість" відноситься до значення кількості рекомбінантної молекули згідно з цим винаходом та (або) до значення кількості однієї або декількох вірусних частинок згідно з цим винаходом, яка чинить вплив на подальше інфікування свині вірусом африканської чуми свиней.

#### 4.2 Рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти

В цьому винаході представлено рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, яка містить експресійну касету, що кодує поліепітоп, який містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней, при цьому зазначені Т-клітинні антигени розділені спейсерами, переважно – спейсерами з 1-10 амінокислотних залишків, які містять сигнали для протеасомного розщеплення.

Зазначена молекула нуклеїнової кислоти, переважно – РНК або ДНК, переважно отримується за

допомогою рекомбінантних технологій, включно з використанням полімераз, рестрикційних ферментів та лігаз, як відомо спеціалісту в цій галузі. Альтернативним чином, зазначена нуклеїнова кислота отримується за допомогою штучного синтезу генів, наприклад, синтезу частково або повністю перекритих олігонуклеотидів, або комбінацією органічної хімії та рекомбінантних технологій, як відомо спеціалісту в цій галузі. Зазначена нуклеїнова кислота переважно кодон-оптимізована для посилення експресії експресійної касети, що кодує поліепітоп, у вакцинованої свині. Подальша оптимізація може охоплювати собою видалення прихованих сайтів сплайсингу, видалення прихованих полі(А)-хвостів та (або) видалення послідовностей, які призводять до несприятливого фолдингу мРНК. Наявність інтрона, фланкованого сайтами сплайсингу, може стимулювати експорт з ядра інфікованих клітин.

В одному варіанті реалізації цього винаходу зазначена молекула нуклеїнової кислоти являє собою РНК, включно з немодифікованою РНК, модифікованою РНК і, переважно, самореplikувальною РНК. Зазначена самореplikувальна РНК може бути заснована на вірусних системах для ампліфікації молекули РНК, таких як похідні альфавірусів, флавівірусів, рабдовірусів, вірусів кору та (або) флавівірусів. Зазначена РНК може утворювати комплекс або конденсуватися з молекулами, такими як наночастинки, поліетиленімін, катіонні ліпіди, включно з синтетичними катіонними ліпідами, такими як N-[1-(2,3-діолеїлокси)пропіл]-N, N, N-триметиламоній хлорид (DOTMA), ліпофектамін та SAINT®, та (або) хітозани.

Експресійна касета переважно містить засоби для забезпечення високих рівнів експресії, такі як сильні промотори, наприклад, вірусного походження (наприклад, цитомегаловірус людини) або промотори, отримані з генів, які на високому рівні експресуються в клітині, такий як клітина свині (Running Deer and Allison, 2004. Biotechnol Prog 20: 880-889; Патент США № 5888809).

Крім того, представлено клітину-хазяїна, яка містить рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, що містить експресійну касету у відповідності з цим винаходом. Зазначена клітина-хазяїн може вирощуватися або зберігатися для подальшого отримання рекомбінантної молекули нуклеїнової кислоти у відповідності з цим винаходом. Зазначена клітина переважно являє собою бактеріальну клітину, наприклад, клітину *Escherichia coli*.

Нуклеїнова кислота переважно солюбілізується, наприклад, у буферному розчині, такому як ФСБ, перед введенням свині. Кількість, яка вводиться, переважно містить від 1 мкг до 1 мг нуклеїнової кислоти в цілому на одну тварину.

Зазначена рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти, яка містить експресійну касету, що кодує поліепітоп, експресує від 2 до 50 Т-клітинних антигенів, переважно – від 5 до 30 Т-клітинних антигенів, більш переважно – приблизно 20 Т-клітинних антигенів, наприклад, 18 Т-клітинних антигенів, 19 Т-клітинних антигенів, 20 Т-клітинних антигенів і 21 Т-клітинний антиген, із білків вірусу африканської чуми свиней. Придатні Т-клітинні антигени переважно прогнозуються за допомогою доступних комп'ютерних програм. Переважні Т-клітинні антигени мають афінність зв'язування з головним комплексом гістосумісності (ГКГ) класу I. Переважна комп'ютерна програма, що включається в аналіз придатних Т-клітинних антигенів, має назву NetMHC [Andreatta and Nielsen, 2016. Bioinformatics 32: 511-7], та заснована на штучних нейронних мережах, які дозволяють вставки та делеції при вирівнюванні. Ця програма може дізнатися профіль довжини різних молекул ГКГ. Переважно, щоби аутологічні пептиди не вибирались як придатні Т-клітинні антигени, оскільки вони можуть викликати аутоімунне захворювання.

Зазначені 2-50 Т-клітинних антигенів являють собою пептиди з 6-15 амінокислотних залишків, переважно – від 8 до 11 амінокислотних залишків, більш переважно – приблизно 9 амінокислотних залишків, які відокремлюються спейсерами, переважно – спейсерами з 1-10 амінокислотних залишків, які містять сигнали для протеасомного розщеплення. Переважні Т-клітинні антигени отримують з білків вірусу африканської чуми свиней MGF\_505-7R, NP1450L, G1340L, B385R, G1211R, E423R, NP1450L, MGF\_5059R, E301R, C717R, EP424R, F778R, CP530R, R298L, CP2475L, O174L, MGF\_360-2L, NP1450L, M1249L та (або) MGF\_360-1L.

Переважні Т-клітинні антигени вибрані з пептидів, зазначених у Таблиці 1.

Таблиця 1

Амінокислотні послідовності переважних Т-клітинних антигенів

|   |            |    |           |
|---|------------|----|-----------|
| 1 | TLNLLLSY   | 11 | YTLNHAFTL |
| 2 | KTFCKNLPLY | 12 | SMSLNYYFY |
| 3 | MSVSTFWPY  | 13 | FINSTDFLY |
| 4 | RINRNYPY   | 14 | YYYGYYYQL |
| 5 | ITYLNNMGY  | 15 | AINTFMYYY |
| 6 | RTASSAELY  | 16 | YQLDLFTAL |
| 7 | ATQQLALNY  | 17 | CIDLGANAF |

Таблиця 1

## Амінокислотні послідовності переважних Т-клітинних антигенів

|    |           |    |           |
|----|-----------|----|-----------|
| 8  | SIITRHLEY | 18 | FSFGRTLVI |
| 9  | KTFSDLSNY | 19 | SSMDDISAY |
| 10 | YRFVWYQPF | 20 | CIDLGADAF |

Переважаюча рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти, що містить експресійну касету згідно з цим винаходом, переважно кодує пептиди 1-20 з Таблиці 1, більш переважно – пептиди 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, більш переважно, в напрямку від N-кінця, в цьому порядку, пептиди 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 20, 11, 18.

Зазначені спейсери переважно складаються з приблизно 1-5 амінокислотних залишків, в тому числі з 2 амінокислотних залишків, з 3 амінокислотних залишків та з 4 амінокислотних залишків. Переважні спейсери охоплюють собою пептиди, зазначені в Таблиці 2.

Таблиця 2

## Спейсерні послідовності

|   |       |    |       |
|---|-------|----|-------|
| 1 | ARY   | 7  | AQW   |
| 2 | NQF   | 8  | ADRRY |
| 3 | ADRRF | 9  | ADNQF |
| 4 | ADAQW | 10 | ADRIW |
| 5 | RRW   | 11 | ADARY |
| 6 | ADARW |    |       |

Переважаюча рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти, що містить експресійну касету згідно з цим винаходом, переважно кодує універсальний Т-клітинний епітоп. Зазначений універсальний Т-клітинний епітоп переважно розташований перед Т-клітинними епітопами вірусу африканської чуми свиней, тобто з N-кінця до цих Т-клітинних епітопів. Приклади таких універсальних Т-клітинних епітопів наведені в Khatun et al., 2017. Chemistry 23: 4233-4254. Переважний універсальний Т-клітинний епітоп забезпечується неприродним пан-DR епітопом, який називається PADRE, що має амінокислотну послідовність AKXVAAWTLKAAaZC, де X позначає L-циклогексилаланін, а Z позначає амінокапронову кислоту ((Alexander et al., 2000. J Immunol 164: 1625-1633). Для цілей експресії переважно використовують похідне, що має послідовність AKFVAAWTLKAAAARY.

Переважаюча рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти, що містить експресійну касету згідно з цим винаходом, переважно додатково містить нуклеотидну послідовність, яка кодує убіквітин, переважно – на 5'-кінці поліепітопу. Злиття убіквітину з поліепітопом, що містить Т-клітинні антигени, посилює націлювання на протеасому, що призводить до покращеного процесингу поліепітопу та посилення Т-клітинних відповідей.

Переважаюча рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти містить нуклеотидну послідовність, представлена на Фіг. 1B.

## 4.3 Вірусні частинки

У цьому винаході також представлено вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, що містить експресійну касету, що кодує поліепітоп, який містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней згідно з цим винаходом.

У цьому винаході також представлено вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, що експресує В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней. Зазначені В-клітинні антигени переважно вибрані з білків p30, p54, p72, EP402R (pEP402R), A104R (pA104R) та (або) B602L (pB602L) із вірусу африканської чуми свиней. Спеціалісту в цій галузі буде зрозуміло, що термін "білок EP402R" відноситься до pEP402R; термін "білок A104R" відноситься до pA104R; і термін "білок B602L" відноситься до pB602L. Зазначені В-клітинні антигени переважно містять амінокислотну послідовність білків p30, p54, p72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней, переважно містять по суті повні амінокислотні послідовності білків p30, p54, p72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней. Приклади таких амінокислотних послідовностей наведені під номером доступу UniProt P34204 (P30\_ASFB7) для фосфопротеїну p30 зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt Q65194 для білка оболонки p54 зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt P22776 для основного капсидного білка p70 зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt Q89501 для гомолога CD2 EP402R зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt P68742 для вірусного гістоноподібного білка A104R зі штаму Badajoz 1971; та під номером

доступу UniProt Q65169 для білка B602L зі штаму Badajoz 1971.

Зазначені В-клітинні антигени переважно експресуються з використанням тандемних експресійних касет, наприклад, для експресії р30 та B602L; р72 і A104R) та (або) р54 і EP402R, або потрібних експресійних касет, наприклад, для експресії експресійних касет р54 і EP402R та K205R). Конструкції ДНК, що кодують В-клітинні антигени, можуть бути отримані синтетичним шляхом, наприклад, отримані з GenScript, як відомо спеціалісту в цій галузі. Ділянки, що кодують В-клітинні антигени, переважно клонуються з різними промоторами MVA та послідовностями термінації транскрипції для управління експресією цих генів. Крім того, зазначені В-клітинні антигени переважно забезпечені послідовністю мітки, що дозволяє виявляти експресію білка. Придатні мітки охоплюють собою мітку 6xHis, домен с-мус (EQKLISEEDL), геаглютинінову мітку (YPYDVPDYA), мальтозопов'язувальний білок, глутатіон-S-трансферазу, мальтозопов'язувальний білок, пептидну мітку FLAG, пептид-акцептор біотину, стрептавідин-пов'язувальний пептид і кальмодулін-пов'язувальний пептид, як представлено в Chatterjee, 2006. *Cur Opin Biotech* 17, 353-358. Мітка FLAG являє собою переважну мітку. Зазначена мітка переважно присутня на С-кінці В-клітинного антигена.

Вірусні частинки, які можна використовувати як вектори для переносу зазначених рекомбінантних молекул нуклеїнових кислот, переважно – молекул ДНК, охоплюють собою частинки на основі аденоасоційованого вірусу, лентивірусу, наприклад, вектор на основі ретровірусу, такий як вектор на основі вірусу мишачого лейкозу Молоні, вірусу некрозу селезінки SFFV, вірусу мієлопроліферативної саркоми, вірусу стовбурових клітин миші або гаммаретровірусу SFG (Rivière et al., 1995. *PNAS* 92: 6733-6737), аденовірусу, вірусу простого герпесу, поксвірусу, такого як модифікований вірус вісповакцини Анкара (MVA; Mackowiak et al., 1999. *Adv Vet Med* 41: 571-583; Cottingham et al., 2008. *PLoS One* 20: e1638) або поксвірусу канарки, аренавірусу, вірусу кору, вірусу хвороби Ньюкасла [Kortekaas et al., 2010. *Vaccine* 28: 2271-2276) та (або) буньявірусу, такого як вірус гарячки Рифт-Валлі (Wichgers Schreur et al., 2014. *J Virol* 88: 10883-10893).

Переважна вірусна частинка заснована на поксвірусі. Зазначена вірусна частинка переважно є частинкою на основі модифікованого вірусу вісповакцини Анкара (MVA), такою як описана в Cottingham et al., 2008. *PLoS One* 20: e1638). Переважна експресійна касета в MVA містить промоторну послідовність MVA 13.5, як описано, наприклад, в US20150299267. Експресійна касета переважно вставляється в ген ТК вакцинного вектору MVA (аттенуйована натуральна віспа) за допомогою рекомбінації зі штучною бактеріальною хромосомою (ШБХ, англ. "BAC") у відповідності з процедурами, відомими спеціалісту в цій галузі.

Зазначена вірусна частинка переважно продукується в еукаріотичній клітині. Зазначена еукаріотична клітина переважно являє собою клітину, яку можна легко інфікувати та (або) трансфікувати за допомогою стандартних способів, відомих спеціалісту в цій галузі, такі як, наприклад, клітини дріжджів та клітини фібробластів курки. Зазначена еукаріотична клітина переважно являє собою клітину комахи або клітину ссавця. Придатні клітини комах охоплюють собою, наприклад, клітини яечників *Spodoptera frugiperda*, такі як Sf9 та Sf21, клітини *Drosophila Schneider* 2 та клітини *Aedes albopictus* C6/36. Придатні клітини ссавців охоплюють собою, наприклад, клітини нирки новонародженого хом'яка, клітини ембріональної нирки людини, такі як HEK293 та клітини FreeStyle HEK293F™ (ThermoFisher Scientific), клітини Vero, клітини MDCK, клітини CHO, клітини HeLa та клітини PER.C6 (Fallaux, F. J. et al. 1998. *Hum Gene Ther* 9: 1909-1917). Переважні клітини являють собою клітини ембріональної нирки людини, такі як клітини HEK293 та клітини FreeStyle HEK293F™.

В одному варіанті реалізації цього винаходу зазначена вірусна частинка додатково містить маркерний білок. Зазначений маркерний білок дозволяє ідентифікувати свиней, які отримали вірусну частинку згідно з цим винаходом. Зазначений маркерний білок дозволяє розрізнити вакциновану свиню від свині, яка інфікована вірусом АЧС дикого типу. Зазначений маркерний білок переважно являє собою флуоресцентний білок, бета-глюкуронідазу, бета-галактозидазу, люциферазу гаусії, люциферазу ренілі та (або) секретовану лужну фосфатазу. Спеціалісту в цій галузі буде зрозуміло, що кодувальна послідовність для зазначеного маркерного білка присутня в геномі вірусної частинки згідно з цим винаходом таким чином, що маркерний білок експресується в клітині, яка отримала вірусну частинку вірусу згідно з цим винаходом.

У цьому винаході також представлено набір вірусних частинок, що містять В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено набір вірусних частинок, що охоплює собою вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу за будь-яким із пп. 1-5, та одну або декілька вірусних частинок, що містять В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено набір компонентів, що містить вірусні частинки, які містять В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней.

Зазначені В-клітинні антигени переважно вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней. Зазначені В-клітинні антигени переважно містять амінокислотну послідовність білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу

африканської чуми свиней, переважно містять по суті повні амінокислотні послідовності білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней. Приклади таких амінокислотних послідовностей наведені під номером доступу UniProt P34204 (P30\_ASFB7) для фосфопротеїну р30 зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt Q65194 для білка оболонки р54 зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt P22776 для основного капсидного білка р70 зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt Q89501 для гомолога CD2 EP402R зі штаму Badajoz 1971; під номером доступу UniProt P68742 для вірусного гістонопоподібного білка A104R зі штаму Badajoz 1971; та під номером доступу UniProt Q65169 для білка B602L зі штаму Badajoz 1971.

У цьому винаході також представлено набір компонентів, що охоплює собою вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу, що містить експресійну касету, яка кодує поліепітоп, що містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней згідно з цим винаходом та одну або декілька вірусних частинок, що містять В-клітинні антигени африканського вірусу чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней згідно з цим винаходом.

У цьому винаході також представлено набір компонентів, що охоплює собою вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу, що містить експресійну касету, яка кодує поліепітоп, що містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней згідно з цим винаходом та синтетичні Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней.

#### 4.4 Способи стимулювання імунної відповіді у свині

У цьому винаході представлено спосіб стимулювання імунної відповіді у свині, що охоплює собою введення рекомбінантної молекули згідно з цим винаходом та (або) вірусної частинки згідно з цим винаходом свині у кількості, ефективній для індукування імунної відповіді.

У цьому винаході представлено спосіб стимулювання імунної відповіді у свині, що охоплює собою введення рекомбінантної молекули за будь-яким із пп. 1-5 та (або) вірусної частинки за п. 6 або п. 7 у комбінації з вірусною частинкою, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней, свині в кількості, ефективній для індукування імунної відповіді.

Рекомбінантна молекула згідно з цим винаходом та (або) вірусна частинка згідно з цим винаходом переважно міститься у композиції, переважно – у фармацевтичній композиції.

Рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти та (або) вірусна частинка можуть бути введені свині будь-яким способом, відомим спеціалісту в цій галузі, включно з наступними: ін'єкція, пластири для місцевої пасивної дифузії або іонофорезу, електропорація, термічна мікропорація, назальні розпилювачі, аерозольна верхньореспіраторна та легенева інгаляція, сонопорація, хімічні речовини та механічна абразія, а також кінетична/ балістична доставка [Weniger et al., 2018. Vaccine 36: 427-437].

Переважно рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти та (або) вірусна частинка вводиться/ вводяться парентерально, наприклад, шляхом ін'єкції. Рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти та (або) вірусна частинка згідно з цим винаходом переважно формулюється зі звичайних, нетоксичних фармацевтично прийнятних переносників, ад'ювантів або носіїв. Термін "парентерально", при використанні в контексті цього документа, охоплює собою підшкірні, внутрішньошкірні або інтрадермальні, внутрішньовенні, внутрішньом'язові, інтраартикулярні, інтрасиновіальні, внутрішньогрудинні, інтратекальні, внутрішньовогнищеві та внутрішньочерепні ін'єкції або методики інфузії.

Рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти згідно з цим винаходом більш переважно вводиться свиням шляхом електропорації, більш переважно – шляхом внутрішньом'язової/ внутрішньошкірної електропорації. Електропорація може бути виконана з використанням, наприклад, набору електродів, що складається з набору позолочених троакарних голок діаметром 0,43 мм з відстанню 1,5 мм між ними (Inovio Pharmaceuticals, Плімут Мітинг, Пенсильванія, США), який притискається до шкірної бульбашки, утвореної за методом Манту шляхом введення 50 мкл плазмідної композиції, з застосуванням імпульсів по 25 В тривалістю по 100 мс; портативного генератора імпульсів (CUY21 EDIT; Nera Gene, Ітікава, Японія) і пінцетних електродів (6 імпульсів по 10 мс з вихідним струмом 300-600 мА); генератора імпульсів BTX ECM 830 з безголковим мікропатчевим круглим електродом, встановленим на ручці (модель MP 35) (Genetronics, Сан-Дієго, Каліфорнія, США), і з застосуванням шістьох прямокутних імпульсів у 60, 70 або 80 В, відповідно, з тривалістю імпульсу в 60 мс, інтервалом між імпульсами в 200 мс і оберненням полярності після трьох імпульсів.

В іншому переважному способі застосовується внутрішньом'язове введення в праве стегно у двох місцях, розташованих на відстані приблизно трьох сантиметрів одне від одного в об'ємі 0,25 мл на одне місце ін'єкції. Відразу після ін'єкції може застосовуватися процедура електропорації *in vivo* із застосуванням клініпоратора (IGEА) з лінійними/ гексагональними голковими електродами в місці ін'єкції. Простір між голками переважно становить близько 2 см, а електропоратор переважно встановлюється на 100 В. Електричний струм у 50 В/см застосовується для підтримки середньої сили струму в 0,6 А. Проводять вплив імпульсами, застосовуючи від двох до двадцяти імпульсів, переважно – від п'яти до десяти імпульсів, переважно – приблизно вісім імпульсів, тривалістю

приблизно 5-50 мілісекунд, переважно – приблизно 20 мілісекунд, з інтервалами в 50-500 мілісекунд, переважно – приблизно 200 мілісекунд.

Зазначене введення переважно повторюють, переважно 1-3 рази, таким чином, що рекомбінантна молекула та (або) вірусна частинка вводяться загалом 2-4 рази. Повторне введення переважно проводити з інтервалами в приблизно 2 тижні.

Захисна імунна відповідь може вимагати як клітинного, так і серологічного імунітету. Отже, в переважному способі стимулювання імунної відповіді у свині щонайменше одне введення рекомбінантної молекули та (або) вірусної частинки комбінується із введенням синтетичних пептидів, що містять Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней, переважно – 2-50 пептидів, більш переважно – приблизно 10-30 пептидів, наприклад, приблизно 20 пептидів, наприклад 18 пептидів, 19 пептидів, 20 пептидів і 21 пептид.

Зазначені пептиди, що містять Т-клітинні антигени, переважно являють собою пептиди з 6-15 амінокислотних залишків, переважно – з 8 та 11 амінокислотних залишків, більш переважно – з приблизно 9 амінокислотних залишків. Переважні пептиди вибрані з пептидів, зазначених у Таблиці 1.

Зазначені пептиди переважно вводяться парентерально, наприклад, шляхом ін'єкції, більш переважно – шляхом внутрішньом'язової ін'єкції.

У переважному способі стимулювання імунної відповіді у свині щонайменше одне із введень рекомбінантної молекули та (або) вірусної частинки комбінується з введенням вірусної частинки, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

Кількість вірусної частинки згідно з цим винаходом, яка вводиться свині, загалом становить від 1000 до 1000000000 інфекційних вірусних частинок на одну тварину. Кількість інфекційних частинок може бути визначена за допомогою стандартних методик, відомих спеціалісту в цій галузі, таких як, наприклад, крива доза – ефект.

У цьому винаході також представлено композицію, переважно – ветеринарно прийнятну композицію, яка містить рекомбінантну молекулу та (або) вірусну частинку згідно з цим винаходом та ветеринарно прийнятний ексципієнт.

Зазначена композиція переважно являє собою водну або олійну суспензію. Ця суспензія може бути сформульована згідно зі способами, відомими в цій галузі, з використанням відповідних диспергувальних або змочувальних агентів (таких як, наприклад, Tween 80) та суспендувальних агентів. Серед прийнятих носіїв та розчинників, які можуть бути використані, слід зазначити маніт, воду, розчин Рінгера та ізотонічний розчин хлориду натрію. Крім того, стерильні нелеткі олії зазвичай використовують як розчинник або суспензійне середовище. З цією метою може бути використана будь-яка м'яка нелетка олія, включно із синтетичними моно- або дигліцеридами. Жирні кислоти, такі як олеїнова кислота та її гліцеридні похідні, є корисними для одержання придатної композиції, так само як і природні фармацевтично прийнятні олії, такі як оливкова олія або касторова олія, особливо у їхніх поліоксietiльованих формах. Ці олійні розчини або суспензії можуть також містити спирт із довгим ланцюгом у ролі розчинника або диспергатора, або подібний спирт, як описано у Pharmascoroea Helvetica.

У цьому винаході також представлено вакцину, що містить ефективну імунізуючу кількість композиції, яка містить рекомбінантну молекулу та (або) вірусну частинку згідно з цим винаходом, та ветеринарно прийнятний ексципієнт. Зазначена вакцина переважно додатково містить вірусну частинку, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

Композиція, що містить вірусну частинку згідно з цим винаходом, переважно додатково містить ад'юванти, які містять цитокіни, такі як інтерферон-гамма, імуностимулюючі послідовності нуклеїнових кислот, такі як олігонуклеотиди CpG, ліпосоми, вірусоподібні частинки, поверхнево-активні речовини, такі як гексадециламін, поліаніони, такі як піран та сульфат декстрану.

Переважний ад'ювант являє собою ISCOM, як описано в міжнародній заявці на патент WO2002026255A1. Технологія ISCOM має ряд переваг перед іншими ад'ювантами. ISCOM стимулюють як гуморальну, так і клітинно-опосередковану імунну відповідь. ISCOM являє собою високоефективний ад'ювант, що дозволяє додаткове зменшення кількостей інактивованого компонента або його частини згідно з цим винаходом. Переважний ISCOM являє собою ISCOM Matrix-M.

Інший переважний ад'ювант являє собою BLP. BLP являють собою самоад'ювантні носії для доставки вакцин, отримані з інактивованих бактерій *Lactococcus lactis*. *L. lactis* – це безпечна бактерія, яка зазвичай використовується у харчовій промисловості, наприклад, для виробництва сиру та пробіотичних напоїв. BLP отримують простою обробкою гарячою кислотою, в результаті чого отримують міцний клітинний матрикс, який переважно складається з пептидогліканової поверхні. Зазначений пептидоглікан переважно містить С-кінцевий пептидоглікан-пов'язувальний домен LysM гідролази AstA з клітинної стінки *Lactococcus lactis*, як описано в WO 2010/033031. Ця поверхня індукує тривалий імунітет, необхідний для захисту від збудників хвороб. Нежива природа частинок

BLP забезпечує їх точне дозування без ризику розповсюдження.

BLP також забезпечують безпечну та універсальну основу, яку можна ефективно завантажувати певними вибраними антигенами, наприклад, однією або декількома вірусними частинками згідно з цим винаходом, що містять Т-клітинні антигени та (або) В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней. Повне завантаження BLP антигенами досягається за допомогою технології нековалентного зчеплення, як описано в WO2010/033031. Ця технологія дозволяє просто змішувати злитий антиген із BLP, що тим самим призводить до надійного та негайного зв'язування антигена з поверхнею цих частинок. Отримані покриті антигеном частинки BLP переважно доставляються свині через слизові шари носа (спрей) або ротової порожнини (капсула) без необхідності ін'єкції.

У цьому винаході також представлено спосіб профілактики або полегшення інфекції та (або) поширення у свиней вірусу африканської чуми свиней, що охоплює собою введення рекомбінантної молекули, яка містить експресійну касету, що кодує поліепітоп, який містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней, та (або) вірусної частинки, що містить зазначену рекомбінантну молекулу, щонайменше одній свині. Зазначене введення рекомбінантної молекули та (або) вірусної частинки переважно комбінується із введенням вірусної частинки, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані з білків р30, р54, р72, EP402R, A104R та (або) B602L із вірусу африканської чуми свиней.

Зазначений спосіб забезпечує захист від подальшого інфікування вірулентним вірусом дикого типу африканської чуми свиней. Захист визначається як виживання та відсутність клінічних проявів захворювання, а також зменшення подальшого поширення вірусу дикого типу будь-яким шляхом передачі, включно з горизонтальним та вертикальним поширенням. Час до настання захисту та тривалий захист є частиною ефективності вакцини. Крім того, широкий захист від різних видів або серотипів вірусів також є частиною ефективності вакцини згідно з цим винаходом.

У цьому винаході також представлено вірусну частинку, яка містить Т-клітинні антигени, переважно містить експресійну касету, що кодує поліепітоп, який містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней, або В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, або набір вірусних частинок, які містять Т-клітинні антигени та В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, для застосування в способі захисту свині від подальшого інфікування вірусом африканської чуми свиней.

У цьому винаході також представлено набір компонентів, який охоплює собою вірусні частинки, що містять Т-клітинні антигени, переважно містять експресійну касету, що кодує поліепітоп, який містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней та В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, для застосування в способі захисту свині від подальшого інфікування вірусом африканської чуми свиней.

З метою ясності та для стислого опису відмітні ознаки цього винаходу описані в цьому документі як частина тих самих або окремих варіантів його реалізації, однак слід розуміти, що обсяг цього винаходу може охоплювати собою варіанти реалізації, які мають комбінації всіх або деяких описаних ознак.

## 5 Приклади

Приклад 1: ДНК-вакцинація на основі експресії Т-клітинних епітопів ВАЧС

Спосіб:

На основі повних послідовностей геномів відомих ізолятів АЧС та послідовності генома свині застосовувалася програма прогнозування епітопів NetMHCpan для отримання списку Т-клітинних епітопів, які не залежать від штаму вірусу або породи свині (див. Таблицю 1). Дев'ятнадцять Т-клітинних епітопів найвищого рівня використовувались для створення поліепітопної синтетичної ДНК-вакцини. Послідовність ДНК кодувала 19 нонапептидних епітопів, розділених спейсерами від 3 до 5 амінокислот, які містять сигнали для протеасомного розщеплення та подальшого процесингу (див. Фіг. 1А). Епітоп 14 не використовувався, оскільки він, можливо, заважав би правильному процесингу. Також для цієї мети було включено послідовність універсального Т-клітинного епітопу під назвою PADRE (див. Фіг. 1В). Для посилення протеасомної деградації було додано нуклеотидну послідовність убіквітину на 5'-кінці синтетичного гена. Це призводить до більш ефективної протеасомної деградації та покращеного представлення епітопів Т-клітинам-хазяїнам. Нарешті, було додано ад'ювантну послідовність CpG до 3'-НТО синтетичного гена. Кодон-оптимізована версія синтетичного гена була хімічно синтезована компанією GenScript Corporation та клонована за промотором CMV у плазміді pCVI (похідне pCI-neo [Promega], отримане шляхом видалення фрагмента рестрикції ClaI) за допомогою сайтів рестрикції NheI та NotI. Отриману плазмід називали pCVI-ASFVAC2.

Для дослідження контрольної вакцини використовувались три групи свиней по 6 тварин у кожній. Тварин з групи 1 вакцинували тричі pCVI-ASFVAC2. Тварин з групи 2 також вакцинували тричі, але одночасно з 3-ю ДНК-вакцинацією вони також отримали бустер сумішшю синтетичних нонапептидів, що відповідають Т-клітинним епітопам синтетичного гена. Тварин з контрольної групи (група 3) вакцинували тричі порожньою плазмідною pCVI. Свиней вакцинували з інтервалами в 2 тижні. Вакцину застосовували внутрішньом'язово/ внутрішньошкірно шляхом імуноелектропорації за допомогою клініпораторного пристрою (IGEА Clinical Biophysics, Карпі, Італія). Електричні імпульси, генеровані

апаратом електропорації, покращують засвоєння ДНК навколишніми тканинами. Пептиди застосовували шляхом внутрішньом'язової вакцинації. Через два тижні після останньої вакцинації свиней заражали штамом ВАЧС Netherlands '86 (Wageningen Bioveterinary Research, Нідерланди; див. Terpstra and Wensvoort, 1986. Tijdschrift voor diergeneeskunde 111: 389-392). Штам вирощували в альвеолярних макрофагах свині. За інфікованими свинями спостерігали протягом 2 тижнів для виявлення клінічних симптомів. Рівні вірусів у крові визначали за допомогою ПЛР. Гуморальні імунні реакції вивчали за допомогою твердофазного ІФА з використанням цілого вірусу як антигена. Рівні клітин, що секретують ІФН-у, визначали за допомогою ELISPOT після стимуляції *in vitro* вірусом або сумішшю з двадцяти нонапептидів.

#### Результати:

Контрольне зараження невакцинованої контрольної групи (група 3) призвело до 40 % виживання. Вакцинація призвела до виживання близько 83 % у групах 1 та 2 (див. Фіг. 2А). Свині в групі 2 мали суттєво нижчі загальні клінічні показники, ніж свині в інших групах (Фіг. 2В). Свині в цій групі також мали значну відповідь клітин, які секретують ІФН-у, проти суміші з нонапептидів з 42-ї доби після першої вакцинації (п. в.) (0-а доба після контрольного зараження [п. з.]) і до кінця цього експерименту (див. Фіг. 2С). Свині в групі 2 мали значну відповідь клітин, які секретують ІФН-у, проти суміші з нонапептидів з 49-ї доби п. в. (7-ї доби п. з.). У контрольній групі не спостерігалось відповіді клітин, які секретують ІФН-у, проти суміші з нонапептидів. Всі групи продемонстрували значну відповідь клітин, які секретують ІФН-у, проти вірусу на 56-у добу п. в. (14-а доба п. з.). Значних відмінностей у рівнях вірусної ДНК у крові між групами виявлено не було. Значних відмінностей у процентних показниках блокування відсотка антитіл до АЧС у твердофазному ІФА не спостерігалось.

Приклад 2: Вакцинація з використанням векторів MVA, що експресують Т- та В-клітинні епітопи ВАЧС

#### Спосіб:

На підставі багатообіцяючих результатів дослідження поліепітопної ДНК-вакцини, синтетичний ген ASF2VAC2 був забезпечений промоторною послідовністю MVA 13.5 і введений у ген ТК вакцинного вектора MVA (аттенуйована натуральна віспа) за допомогою ШБХ-рекомбінування згідно з опублікованими процедурами (Cottingham, 2012. Methods Mol Biol 890: 37-57). Отриманий вірус був названий MVA-VAC2. Вставка MVA-VAC2 містить, у напрямку з 5'-кінця, лівий фланг ТК, промотор MVA 13.5L, послідовність Козака, синтетичний ген ASF2VAC2, послідовності термінації від mH5 і правий фланг ТК.

Крім того, ШБХ-рекомбінування застосовували для вставки генів, які кодують шість добре відомих основних В-клітинних антигенів вірусу АЧС (p30, p54, p72, EP402R, A104R та B602L), у вектор MVA за допомогою тандемної (p30+B602L; p72+A104R) або потрійної касети експресії (p54+EP402R+K205R) гена (MVA-p30/B602L, MVA-p72/A104R та MVA-p54/EP402R/K205R, відповідно). З цією метою були створені синтетичні конструкції ДНК (GenScript), а ділянки, що кодують білок, були забезпечені різними промоторами MVA та послідовностями термінації транскрипції для управління експресією цих генів. Крім того, щоби сприяти виявленню експресії білка, кожна з ділянок, що кодують білок, була забезпечена С-кінцевою послідовністю мітки FLAG.

Для експерименту з контрольною вакцинацією використовували три групи свиней по 10 тварин у кожній. Тварин із групи 1 вакцинували двічі внутрішньом'язово із застосуванням  $10^8$  TCID<sub>50</sub> MVA-VAC2. Тварин із групи 2 вакцинували двічі комбінацією всіх 4 MVA-рекомбінантів, що експресують Т-клітинні епітопи та В-клітинні епітопи (по  $10^8$  TCID<sub>50</sub> кожного). Невакциновані тварини з групи 3 служили контролем. Через два тижні після другої вакцинації тварин заражали штамом ВАЧС Netherlands '86.

#### Результати:

Контрольне зараження невакцинованих тварин (група 3) призвело до 0 % виживання (див. Фіг. 3А). Примітно, що 9 з 10 свиней, які були вакциновані комбінацією всіх 4 MVA-рекомбінантів (група 2), вижили і демонстрували лише низьку тяжкість захворювання протягом лише декількох діб. У групі 1 серед тварин, яких вакцинували лише MVA-VAC2, вижили 4 свині. Тварини з цієї групи демонстрували більш високу тяжкість захворювання та протягом більш тривалого періоду часу порівняно з тваринами з групи 2 (див. Фіг. 3В). Ці результати добре відповідають клітинно-опосередкованому імунітету (KOI), вимірюваному на основі відповіді клітин, які секретують ІФН-у, проти суміші Т-клітинних нонапептидних епітопів або цілого антигена ВАЧС (Фіг. 3С).

#### Висновок:

У цьому дослідженні були отримані багатообіцяючі результати для розробки вакцини проти АЧС із використанням комбінованої вакцини, що складається з векторних вірусів MVA, які експресують Т-клітинні, а також В-клітинні епітопи ВАЧС. Комбінована вакцина забезпечувала захист від смертності та клінічного прояву захворювання після зараження.

|              |                                                                   |                                                                                                             |    |
|--------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>3-1-1</b> | Sequence Number [ID]                                              | 1                                                                                                           |    |
| <b>3-1-2</b> | Length                                                            | 75                                                                                                          |    |
| <b>3-1-3</b> | Moltype                                                           | AA                                                                                                          |    |
| <b>3-1-4</b> | Division                                                          | PAT                                                                                                         |    |
| <b>3-1-5</b> | Features Location/Qualifiers                                      | REGION 1..75<br>note = ubiquitin<br>source 1..75<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct    |    |
| <b>3-1-6</b> | Residues                                                          |                                                                                                             |    |
|              | MQIFVKTLTG KTITLEVEPS DTIENVKAKI QDKEGIPPDQ QRLIFAGKQL EDGRTLSDYN |                                                                                                             | 60 |
|              | IQKESTLHLV LRLRG                                                  |                                                                                                             | 75 |
| <b>3-2</b>   | <b>Sequences</b>                                                  |                                                                                                             |    |
| <b>3-2-1</b> | Sequence Number [ID]                                              | 2                                                                                                           |    |
| <b>3-2-2</b> | Length                                                            | 8                                                                                                           |    |
| <b>3-2-3</b> | Moltype                                                           | AA                                                                                                          |    |
| <b>3-2-4</b> | Division                                                          | PAT                                                                                                         |    |
| <b>3-2-5</b> | Features Location/Qualifiers                                      | REGION 1..8<br>note = T-cell antigen<br>source 1..8<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |    |
| <b>3-2-6</b> | Residues                                                          |                                                                                                             |    |
|              | TLNLLLSY                                                          |                                                                                                             | 8  |
| <b>3-3</b>   | <b>Sequences</b>                                                  |                                                                                                             |    |
| <b>3-3-1</b> | Sequence Number [ID]                                              | 3                                                                                                           |    |
| <b>3-3-2</b> | Length                                                            | 9                                                                                                           |    |
| <b>3-3-3</b> | Moltype                                                           | AA                                                                                                          |    |
| <b>3-3-4</b> | Division                                                          | PAT                                                                                                         |    |
| <b>3-3-5</b> | Features Location/Qualifiers                                      | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |    |
| <b>3-3-6</b> | Residues                                                          |                                                                                                             |    |
|              | KTFCKNLPY                                                         |                                                                                                             | 9  |
| <b>3-4</b>   | <b>Sequences</b>                                                  |                                                                                                             |    |
| <b>3-4-1</b> | Sequence Number [ID]                                              | 4                                                                                                           |    |
| <b>3-4-2</b> | Length                                                            | 9                                                                                                           |    |
| <b>3-4-3</b> | Moltype                                                           | AA                                                                                                          |    |
| <b>3-4-4</b> | Division                                                          | PAT                                                                                                         |    |
| <b>3-4-5</b> | Features Location/Qualifiers                                      | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |    |
| <b>3-4-6</b> | Residues                                                          |                                                                                                             |    |
|              | MSVSTFWPY                                                         |                                                                                                             | 9  |

---

|              |                              |                                                                                                             |
|--------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-5</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-5-1</b> | Sequence Number [ID]         | 5                                                                                                           |
| <b>3-5-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-5-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-5-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-5-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |
| <b>3-5-6</b> | Residues                     |                                                                                                             |
| RINRNYYPY    |                              | 9                                                                                                           |

---

|              |                              |                                                                                                             |
|--------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-6</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-6-1</b> | Sequence Number [ID]         | 6                                                                                                           |
| <b>3-6-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-6-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-6-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-6-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |
| <b>3-6-6</b> | Residues                     |                                                                                                             |
| ITYLNNMGY    |                              | 9                                                                                                           |

---

|              |                              |                                                                                                             |
|--------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-7</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-7-1</b> | Sequence Number [ID]         | 7                                                                                                           |
| <b>3-7-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-7-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-7-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-7-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |
| <b>3-7-6</b> | Residues                     |                                                                                                             |
| RTASSAELY    |                              | 9                                                                                                           |

---

|              |                              |                                                                                                             |
|--------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-8</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-8-1</b> | Sequence Number [ID]         | 8                                                                                                           |
| <b>3-8-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-8-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-8-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-8-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |
| <b>3-8-6</b> | Residues                     |                                                                                                             |

|              |                              |                                                                                                             |
|--------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-9</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-9-1</b> | Sequence Number [ID]         | 9                                                                                                           |
| <b>3-9-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-9-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-9-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-9-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |

**3-9-6** Residues

SIITRHLEY

9

|               |                              |                                                                                                             |
|---------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-10</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-10-1</b> | Sequence Number [ID]         | 10                                                                                                          |
| <b>3-10-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-10-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-10-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-10-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |

**3-10-6** Residues

KTFSDLSNY

9

|               |                              |                                                                                                             |
|---------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-11</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-11-1</b> | Sequence Number [ID]         | 11                                                                                                          |
| <b>3-11-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-11-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-11-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-11-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |

**3-11-6** Residues

YRFVWYQPF

9

|               |                              |                                                                                                             |
|---------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-12</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                             |
| <b>3-12-1</b> | Sequence Number [ID]         | 12                                                                                                          |
| <b>3-12-2</b> | Length                       | 9                                                                                                           |
| <b>3-12-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                          |
| <b>3-12-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                         |
| <b>3-12-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..9<br>note = T-cell antigen<br>source 1..9<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |

**3-12-6**      Residues

YTLNHAFTL

9

**3-13**          **Sequences****3-13-1**      Sequence Number [ID]

13

**3-13-2**      Length

9

**3-13-3**      Moltype

AA

**3-13-4**      Division

PAT

**3-13-5**      Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

mol\_type = protein

organism = synthetic construct

**3-13-6**      Residues

SMSLNYYFY

9

**3-14**          **Sequences****3-14-1**      Sequence Number [ID]

14

**3-14-2**      Length

9

**3-14-3**      Moltype

AA

**3-14-4**      Division

PAT

**3-14-5**      Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

mol\_type = protein

organism = synthetic construct

**3-14-6**      Residues

FINSTDFLY

9

**3-15**          **Sequences****3-15-1**      Sequence Number [ID]

15

**3-15-2**      Length

9

**3-15-3**      Moltype

AA

**3-15-4**      Division

PAT

**3-15-5**      Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

mol\_type = protein

organism = synthetic construct

**3-15-6**      Residues

YYYGYYYQL

9

**3-16**          **Sequences****3-16-1**      Sequence Number [ID]

16

**3-16-2**      Length

9

**3-16-3**      Moltype

AA

**3-16-4**      Division

PAT

**3-16-5**      Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

mol\_type = protein

organism = synthetic construct

**3-16-6** Residues

AINTFMYYY

9

**3-17** Sequences

**3-17-1** Sequence Number [ID]

17

**3-17-2** Length

9

**3-17-3** Moltype

AA

**3-17-4** Division

PAT

**3-17-5** Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

mol\_type = protein

organism = synthetic construct

**3-17-6** Residues

YQLDLFTAL

9

**3-18** Sequences

**3-18-1** Sequence Number [ID]

18

**3-18-2** Length

9

**3-18-3** Moltype

AA

**3-18-4** Division

PAT

**3-18-5** Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

mol\_type = protein

organism = synthetic construct

**3-18-6** Residues

CIDLGANAF

9

**3-19** Sequences

**3-19-1** Sequence Number [ID]

19

**3-19-2** Length

9

**3-19-3** Moltype

AA

**3-19-4** Division

PAT

**3-19-5** Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

mol\_type = protein

organism = synthetic construct

**3-19-6** Residues

FSFGRTLVI

9

**3-20** Sequences

**3-20-1** Sequence Number [ID]

20

**3-20-2** Length

9

**3-20-3** Moltype

AA

**3-20-4** Division

PAT

**3-20-5** Features Location/Qualifiers

REGION 1..9

note = T-cell antigen

source 1..9

**mol\_type = protein**  
**organism = synthetic construct**

**3-20-6**      Residues  
SSMDDISAY

9

**3-21      Sequences**

**3-21-1**      Sequence Number [ID]  
**3-21-2**      Length  
**3-21-3**      Moltype  
**3-21-4**      Division  
**3-21-5**      Features Location/Qualifiers

**21**  
**9**  
**AA**  
**PAT**  
**REGION 1..9**  
**note = T-cell antigen**  
**source 1..9**  
**mol\_type = protein**  
**organism = synthetic construct**

**3-21-6**      Residues  
CIDLGADAF

9

**3-22      Sequences**

**3-22-1**      Sequence Number [ID]  
**3-22-2**      Length  
**3-22-3**      Moltype  
**3-22-4**      Division  
**3-22-5**      Features Location/Qualifiers

**22**  
**5**  
**AA**  
**PAT**  
**REGION 1..5**  
**note = Spacer sequence**  
**source 1..5**  
**mol\_type = protein**  
**organism = synthetic construct**

**3-22-6**      Residues  
ADRRF

5

**3-23      Sequences**

**3-23-1**      Sequence Number [ID]  
**3-23-2**      Length  
**3-23-3**      Moltype  
**3-23-4**      Division  
**3-23-5**      Features Location/Qualifiers

**23**  
**5**  
**AA**  
**PAT**  
**REGION 1..5**  
**note = Spacer sequence**  
**source 1..5**  
**mol\_type = protein**  
**organism = synthetic construct**

**3-23-6**      Residues  
ADAQW

5

**3-24      Sequences**

**3-24-1**      Sequence Number [ID]  
**3-24-2**      Length  
**3-24-3**      Moltype  
**3-24-4**      Division  
**3-24-5**      Features Location/Qualifiers

**24**  
**5**  
**AA**  
**PAT**  
**REGION 1..5**  
**note = Spacer sequence**

|               |                              |                                                                                                              |   |
|---------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
|               |                              | source 1..5<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct                                          |   |
| <b>3-24-6</b> | Residues                     |                                                                                                              | 5 |
| ADARW         |                              |                                                                                                              |   |
| <b>3-25</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                              |   |
| <b>3-25-1</b> | Sequence Number [ID]         | 25                                                                                                           |   |
| <b>3-25-2</b> | Length                       | 5                                                                                                            |   |
| <b>3-25-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                           |   |
| <b>3-25-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                          |   |
| <b>3-25-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..5<br>note = Spacer sequence<br>source 1..5<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |   |
| <b>3-25-6</b> | Residues                     |                                                                                                              | 5 |
| ADRRY         |                              |                                                                                                              |   |
| <b>3-26</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                              |   |
| <b>3-26-1</b> | Sequence Number [ID]         | 26                                                                                                           |   |
| <b>3-26-2</b> | Length                       | 5                                                                                                            |   |
| <b>3-26-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                           |   |
| <b>3-26-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                          |   |
| <b>3-26-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..5<br>note = Spacer sequence<br>source 1..5<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |   |
| <b>3-26-6</b> | Residues                     |                                                                                                              | 5 |
| ADNQF         |                              |                                                                                                              |   |
| <b>3-27</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                              |   |
| <b>3-27-1</b> | Sequence Number [ID]         | 27                                                                                                           |   |
| <b>3-27-2</b> | Length                       | 5                                                                                                            |   |
| <b>3-27-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                           |   |
| <b>3-27-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                          |   |
| <b>3-27-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..5<br>note = Spacer sequence<br>source 1..5<br>mol_type = protein<br>organism = synthetic construct |   |
| <b>3-27-6</b> | Residues                     |                                                                                                              | 5 |
| ADRIW         |                              |                                                                                                              |   |
| <b>3-28</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                              |   |
| <b>3-28-1</b> | Sequence Number [ID]         | 28                                                                                                           |   |
| <b>3-28-2</b> | Length                       | 5                                                                                                            |   |
| <b>3-28-3</b> | Moltype                      | AA                                                                                                           |   |
| <b>3-28-4</b> | Division                     | PAT                                                                                                          |   |
| <b>3-28-5</b> | Features Location/Qualifiers | REGION 1..5                                                                                                  |   |

|                   |                              |                                                        |    |
|-------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------|----|
|                   |                              | note = Spacer sequence                                 |    |
|                   |                              | source 1..5                                            |    |
|                   |                              | mol_type = protein                                     |    |
|                   |                              | organism = synthetic construct                         |    |
| <b>3-28-6</b>     | Residues                     |                                                        |    |
| ADARY             |                              |                                                        | 5  |
| <b>3-29</b>       | <b>Sequences</b>             |                                                        |    |
| <b>3-29-1</b>     | Sequence Number [ID]         | 29                                                     |    |
| <b>3-29-2</b>     | Length                       | 15                                                     |    |
| <b>3-29-3</b>     | Moltype                      | AA                                                     |    |
| <b>3-29-4</b>     | Division                     | PAT                                                    |    |
| <b>3-29-5</b>     | Features Location/Qualifiers | REGION 1..15                                           |    |
|                   |                              | note = non-natural pan DR epitope (PADRE)              |    |
|                   |                              | MOD_RES 3                                              |    |
|                   |                              | note = residue is L-cyclohexylalanine                  |    |
|                   |                              | MOD_RES 14                                             |    |
|                   |                              | note = residue is aminocaproic acid                    |    |
|                   |                              | source 1..15                                           |    |
|                   |                              | mol_type = protein                                     |    |
|                   |                              | organism = synthetic construct                         |    |
| <b>3-29-6</b>     | Residues                     |                                                        |    |
| AKXVAAWTLK AAAXC  |                              |                                                        | 15 |
| <b>3-30</b>       | <b>Sequences</b>             |                                                        |    |
| <b>3-30-1</b>     | Sequence Number [ID]         | 30                                                     |    |
| <b>3-30-2</b>     | Length                       | 16                                                     |    |
| <b>3-30-3</b>     | Moltype                      | AA                                                     |    |
| <b>3-30-4</b>     | Division                     | PAT                                                    |    |
| <b>3-30-5</b>     | Features Location/Qualifiers | REGION 1..16                                           |    |
|                   |                              | note = derived from non-natural pan DR epitope (PADRE) |    |
|                   |                              | source 1..16                                           |    |
|                   |                              | mol_type = protein                                     |    |
|                   |                              | organism = synthetic construct                         |    |
| <b>3-30-6</b>     | Residues                     |                                                        |    |
| AKFVAAWTLK AAAARY |                              |                                                        | 16 |
| <b>3-31</b>       | <b>Sequences</b>             |                                                        |    |
| <b>3-31-1</b>     | Sequence Number [ID]         | 31                                                     |    |
| <b>3-31-2</b>     | Length                       | 10                                                     |    |
| <b>3-31-3</b>     | Moltype                      | AA                                                     |    |
| <b>3-31-4</b>     | Division                     | PAT                                                    |    |
| <b>3-31-5</b>     | Features Location/Qualifiers | REGION 1..10                                           |    |
|                   |                              | note = c-myc domain tag                                |    |
|                   |                              | source 1..10                                           |    |
|                   |                              | mol_type = protein                                     |    |
|                   |                              | organism = synthetic construct                         |    |
| <b>3-31-6</b>     | Residues                     |                                                        |    |
| EQKLISEEDL        |                              |                                                        | 10 |

|               |                              |                                                                                                                                                   |
|---------------|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-32</b>   | <b>Sequences</b>             |                                                                                                                                                   |
| <b>3-32-1</b> | Sequence Number [ID]         | <b>32</b>                                                                                                                                         |
| <b>3-32-2</b> | Length                       | <b>9</b>                                                                                                                                          |
| <b>3-32-3</b> | Moltype                      | <b>AA</b>                                                                                                                                         |
| <b>3-32-4</b> | Division                     | <b>PAT</b>                                                                                                                                        |
| <b>3-32-5</b> | Features Location/Qualifiers | <b>REGION 1..9</b><br><b>note = hemagglutinin tag</b><br><b>source 1..9</b><br><b>mol_type = protein</b><br><b>organism = synthetic construct</b> |
| <b>3-32-6</b> | Residues                     |                                                                                                                                                   |
| YPYDVPDYA     |                              | 9                                                                                                                                                 |

|                                                                    |                              |                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-33</b>                                                        | <b>Sequences</b>             |                                                                                                                                                                                         |
| <b>3-33-1</b>                                                      | Sequence Number [ID]         | <b>33</b>                                                                                                                                                                               |
| <b>3-33-2</b>                                                      | Length                       | <b>1081</b>                                                                                                                                                                             |
| <b>3-33-3</b>                                                      | Moltype                      | <b>DNA</b>                                                                                                                                                                              |
| <b>3-33-4</b>                                                      | Division                     | <b>PAT</b>                                                                                                                                                                              |
| <b>3-33-5</b>                                                      | Features Location/Qualifiers | <b>misc_feature 1..1081</b><br><b>note = Insert of ASFDVAC2</b><br><b>source 1..1081</b><br><b>mol_type = other DNA</b><br><b>organism = synthetic construct</b><br><b>CDS 16..1032</b> |
| <b>3-33-6</b>                                                      | Residues                     |                                                                                                                                                                                         |
| gctagcgccg ccaccatgca gatttttcgtg aagacactga ccgggaagac cattaccctg |                              | 60                                                                                                                                                                                      |
| gaagtcgagc catcagatac cattgagaac gtgaaggcaa agattcagga caaggaagga  |                              | 120                                                                                                                                                                                     |
| atccccccag atcagcagag actgatatttc gcaggaaaac agctggaaga cgggagaaca |                              | 180                                                                                                                                                                                     |
| ctgtcagatt acaatatcca gaaggagtca accctgcacc tgggtgctgag actgagaggg |                              | 240                                                                                                                                                                                     |
| gcaaaattcg tcgcagcctg gacactgaag gcagccgcag ccagatataa aaccctgaat  |                              | 300                                                                                                                                                                                     |
| ctgctgctgt catacgcaga cgccagatgg aagacattct gcaaaaacct gccttatgca  |                              | 360                                                                                                                                                                                     |
| agatacatgt cagtgtcaac cttctggccc tatgccgacg ccagatggag aatcaacaga  |                              | 420                                                                                                                                                                                     |
| aactactacc catacgcaga taaccagttc attacatacc tgaacaacat gggatatgca  |                              | 480                                                                                                                                                                                     |
| agatacagaa ccgcatcatc agccgaactg tacgcagaca gaatttgggc aacacagcag  |                              | 540                                                                                                                                                                                     |
| ctggcactga actatgcaga tgccagatac tcaatcatta caagacacct ggagtatgca  |                              | 600                                                                                                                                                                                     |
| agatacaaga ccttctcaga cctgtcaaac tataatcagt tctacagatt cgtctggtac  |                              | 660                                                                                                                                                                                     |
| cagcccttcg cagacagaag attctcaatg tcaactgaact actatttcta cgcacagcc  |                              | 720                                                                                                                                                                                     |
| cagtggttca tcaattcaac agatttcctg tacagaagat gggcaattaa caccttcag   |                              | 780                                                                                                                                                                                     |
| tactattatg ccgatgccag atggtaccag ctggatctgt tcacagcact ggccgacgca  |                              | 840                                                                                                                                                                                     |
| agatggtgca tcgatctggg agccaacgca ttcgccgacg caagatggtc atcaatggac  |                              | 900                                                                                                                                                                                     |
| gatatctcag cctatgcaag atactgtatt gacctggggg ccgatgcatt cgcccagtgg  |                              | 960                                                                                                                                                                                     |
| tacaccctga atcacgcatt cacactggca gatagaagat atttctcatt cggaagaacc  |                              | 1020                                                                                                                                                                                    |
| ctggtgtatt gataatcgtc gtttgtcgtt ttgtcgttgg tgcacgatg caggcggccg   |                              | 1080                                                                                                                                                                                    |
| c                                                                  |                              | 1081                                                                                                                                                                                    |

|               |                              |                      |
|---------------|------------------------------|----------------------|
| <b>3-34</b>   | <b>Sequences</b>             |                      |
| <b>3-34-1</b> | Sequence Number [ID]         | <b>34</b>            |
| <b>3-34-2</b> | Length                       | <b>338</b>           |
| <b>3-34-3</b> | Moltype                      | <b>AA</b>            |
| <b>3-34-4</b> | Division                     | <b>PAT</b>           |
| <b>3-34-5</b> | Features Location/Qualifiers | <b>REGION 1..338</b> |

**note = Synthetic Construct**  
**source 1..338**  
**mol\_type = protein**  
**organism = synthetic construct**

**3-34-6 Residues**

|            |            |            |            |            |             |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----|
| MQIFVKTLTG | KTITLEVEPS | DTIENVKAKI | QDKEGIPPDQ | QRLIFAGKQL | EDGRTLSDYN  | 60  |
| IQESTLHLV  | LRLRGAKFVA | AWTLKAAAAR | YKTLNLLLSY | ADARWKTFC  | NLPYARYMSV  | 120 |
| STFWPYADAR | WRINRNYYPY | ADNQFITYLN | NMGYARYRTA | SSAELYADRI | WATQQALALNY | 180 |
| ADARYSIITR | HLEYARYKTF | SDLSNYNQFY | RFVWYQPFAD | RRFSMSLNYY | FYADAQWFIN  | 240 |
| STDFLYRRWA | INTFMYYYAD | ARWYQLDLFT | ALADARWCID | LGANAFADAR | WSSMDDISAY  | 300 |
| ARYCIDLGAD | AFAQWYTLNH | AFTLADRRYF | SFGRTLVIY  |            |             | 338 |

---

**3-35 Sequences**

|               |                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|---------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-35-1</b> | Sequence Number [ID]         | <b>35</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>3-35-2</b> | Length                       | <b>338</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>3-35-3</b> | Moltype                      | <b>AA</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>3-35-4</b> | Division                     | <b>PAT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>3-35-5</b> | Features Location/Qualifiers | <b>REGION 1..338</b><br><b>note = Insert of ASFDVAC2</b><br><b>DOMAIN 1..75</b><br><b>note = ubiquitin</b><br><b>DOMAIN 76..88</b><br><b>note = PADRE</b><br><b>DOMAIN 92..100</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 106..114</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 118..126</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 132..140</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 146..154</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 158..166</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 172..180</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 186..194</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 198..206</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 210..218</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 224..232</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 238..246</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 250..258</b><br><b>note = T-cell antigen</b><br><b>DOMAIN 264..272</b><br><b>note = T-cell antigen</b> |

**DOMAIN 278..286**  
**note = T-cell antigen**  
**DOMAIN 292..300**  
**note = T-cell antigen**  
**DOMAIN 304..312**  
**note = T-cell antigen**  
**DOMAIN 316..324**  
**note = T-cell antigen**  
**DOMAIN 330..338**  
**note = T-cell antigen**  
**source 1..338**  
**mol\_type = protein**  
**organism = synthetic construct**

### 3-35-6 Residues

|            |            |            |            |            |             |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----|
| MQIFVKTLTG | KTITLEVEPS | DTIENVKAKI | QDKEGIPPDQ | QRLIFAGKQL | EDGRTLSDYN  | 60  |
| IQKESTLHLV | LRLRGAKFVA | AWTLKAAAAR | YKTLNLLLSY | ADARWKTFCF | NLPYARYMSV  | 120 |
| STFWPYADAR | WRINRNYYPY | ADNQFITYLN | NMGYARYRTA | SSAELYADRI | WATQQALALNY | 180 |
| ADARYSIITR | HLEYARYKTF | SDLSNYNQFY | RFVWYQPFAD | RRFSMSLNYY | FYADAQWFIN  | 240 |
| STDFLYRRWA | INTFMYYYAD | ARWYQLDLFT | ALADARWCID | LGANAFADAR | WSSMDDISAY  | 300 |
| ARYCIDLGAD | AFAQWYTLNH | AFTLADRRYF | SFGRTLVI   |            |             | 338 |

### 3-36 Sequences

**3-36-1** Sequence Number [ID]

**36**

**3-36-2** Length

**3106**

**3-36-3** Moltype

**DNA**

**3-36-4** Division

**PAT**

**3-36-5** Features Location/Qualifiers

**misc\_feature 1..3106**  
**note = MVA-p30+B602L nucleic acid**  
**sequences**  
**source 1..3106**  
**mol\_type = other DNA**  
**organism = synthetic construct**

### 3-36-6 Residues

|             |            |             |             |             |             |      |
|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| atttaaatat  | ggacgcatga | taagaataat  | tttgaagcat  | tggaagcaac  | taaactatgt  | 60   |
| gatgtccttg  | aatcaattac | agataaaaat  | agaaactata  | atcatataat  | agtgtagggt  | 120  |
| ggtagtattg  | ctcttgtag  | tagagacttt  | agttaaggta  | ctgtaaaaat  | agaaactata  | 180  |
| atcatataat  | agtgtagggt | ggtagtaggg  | tactcgtgat  | taattttatt  | gttaaaacttg | 240  |
| tccttaagtc  | ttgccaccat | ggattttatt  | ttaaatatat  | ccatgaaaaat | ggaggtcatc  | 300  |
| ttcaaaacgg  | atttaagatc | atcttcacaa  | gttgtgtttc  | atgcgggtag  | cttgtataat  | 360  |
| tgggttttctg | ttgagattat | caatagcggg  | agaattgtta  | cgaccgctat  | aaaaacattg  | 420  |
| ctcagtactg  | ttaagtatga | tattgtgaaa  | tctgctcata  | tatatgcagg  | gcaagggtat  | 480  |
| actgaacatc  | aggctcaaga | agaatggaat  | atgattctgc  | atgtgctggt  | tgaagaggag  | 540  |
| acagaatcct  | cagcatcatc | ggaaagcatt  | catgaaaaaa  | atgataatga  | aaccaatgaa  | 600  |
| tgcacatcct  | cctttgaaac | attgtttgag  | caagagccct  | catcagagga  | acctaaagac  | 660  |
| tccaagctgt  | atatgcttgc | acaaaagact  | gtgcaacata  | ttgaacaata  | tggaaaggca  | 720  |
| cctgatttta  | acaaggttat | tagagcacat  | aactttattc  | aaaccattca  | tggaaaccct  | 780  |
| ctaaaggaag  | aagaaaaaga | ggtggttaaga | ctcatgggtca | ttaaactttt  | aaaaaaaaaa  | 840  |
| gattacaagg  | acgatgacga | taagtagtag  | gtttttatat  | aaaaaggcgc  | gccataaaaa  | 900  |
| tttttatact  | agtgtaccgc | ggtcgaatcg  | atttaattaa  | cgatgctagc  | attgtcgacg  | 960  |
| gtggtggcgc  | ggccgcctcg | agaaaaattg  | aaaataaata  | caaagggttct | tgagggttgt  | 1020 |
| gttaaattga  | aagcgagaaa | taatcataaa  | taagccacca  | ccgtttgcca  | ccatggcaga  | 1080 |
| atttaaatatt | gatgagcttc | tcaaaaacgt  | attggaggat  | ccctctactg  | aaatatccga  | 1140 |
| agaaacgctt  | aaacagcttt | atcaaaggac  | gaacccttac  | aaacagttca  | aaaatgatag  | 1200 |

|             |            |             |             |             |             |      |
|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| caggggtggcc | ttttgctctt | ttacaaat    | gcgggagcag  | tatattcgac  | gtcttataat  | 1260 |
| gactagcttt  | attggatatg | tcttcaaagc  | tctgcaggaa  | tggatgcctt  | cctattcaaa  | 1320 |
| acctacccac  | acgacccaaa | ctcttctcag  | tgagctaata  | acgttagttg  | atactttgaa  | 1380 |
| acaggaaact  | aatgatgttc | cctctgaatc  | ggtagtaa    | acaattttat  | ctatagcgga  | 1440 |
| tagctgcaaa  | accagacgc  | agaaaagcaa  | ggaagctaaa  | acaacgatcg  | atagcttttt  | 1500 |
| acgagaacat  | tttgtgtttg | atccta      | tcatgctcaa  | agtgcgtata  | cttgtgcaag  | 1560 |
| cacttgtgca  | gataccaatg | tagacacctg  | tgcaagcact  | tgtgcaagca  | cttgtgcaag  | 1620 |
| cacttgtgca  | agcacttgtg | caagcacagg  | tgcaagcact  | tgtgcagata  | ccaatgtaga  | 1680 |
| cacctgtgca  | agcacttgtg | cagataccaa  | tgtagacacc  | tgtgcaagca  | cttgtgcaga  | 1740 |
| taccaatgta  | gacacctgtg | caagcacttg  | tgcaataacc  | aattgtaaaca | cttgtgcaag  | 1800 |
| catgtgtgca  | gataccaatg | tagacacctg  | tgcaagcacc  | tgtgcaaaca  | cctgtgcaag  | 1860 |
| cacagaatac  | accgatttag | cagatcctga  | gcgcattccct | ttacacatca  | tgcaaaaaac  | 1920 |
| attaaatgtg  | ccta       | ttcaggccga  | tattgatgca  | attacccaaa  | ccccacaggg  | 1980 |
| ctatagggca  | gcagcccaca | tattacaaaa  | tatagaactt  | catcaaagca  | ttaa        | 2040 |
| gcttgaaaat  | ccgagggcgt | ttaa        | tctctttaac  | acaaaaatta  | ctagatatct  | 2100 |
| ttcgcagcat  | attccacctc | aggatacttt  | ctataagtgg  | aattattaca  | ttgaggataa  | 2160 |
| ttacgaagag  | ttgcgggccg | ctacggaaag  | catctacca   | gaaaagcccg  | acctagagtt  | 2220 |
| tgcccttcat  | at         | ttgatg      | tggtggatag  | cagcaaccaa  | caaaaggttg  | 2280 |
| ttataaatat  | aaagaccaga | tttctcaga   | ggtttcatcc  | attcaattag  | gcaactggac  | 2340 |
| actcctggga  | agctttaagg | ccaacagaga  | gcgctacaat  | tattttaatc  | aaaataatga  | 2400 |
| aataataaaa  | cggat      | accgtcatga  | ggaagacct   | aagataggaa  | aagagattct  | 2460 |
| acgaaatacc  | at         | ttaccaca    | aaaaagcaaa  | aaatatacaa  | gaaaccggcc  | 2520 |
| ggggctctcc  | atctataatt | caacctttca  | cacggatagc  | gggattaagg  | gactgctttc  | 2580 |
| ctttaaggag  | ctaaaaaacc | tagaaaaagc  | atctggaaat  | atcaaaaaag  | ctcgagagta  | 2640 |
| tgattttata  | gacgactgcg | aagaaaaaat  | taagcaactg  | cttagtaaaag | aaaatttaac  | 2700 |
| ccccgatgaa  | gaaagcgagc | tgataaaaaac | aaaaaaacag  | ttaaataatg  | cgcttgaaat  | 2760 |
| gctcaatgtg  | cctgatgata | cgatacgggt  | agatatgtgg  | gtcaacaata  | ataataaaact | 2820 |
| cgaaaaagaa  | at         | ttatata     | caaaagcaga  | attggactac  | aaggaccacg  | 2880 |
| caaggaccac  | gacatcgact | acaaggacga  | cgacgacaag  | tgatttttat  | aaattttttt  | 2940 |
| tatgagtatt  | tttcaaaaaa | tgtataaagt  | gtatgtctta  | tgtatattta  | taaaaatgct  | 3000 |
| aaatatgcga  | tgtatctatg | ttatttctcc  | gtgataggta  | tcgatgaagg  | acagttcttt  | 3060 |
| ccagacattg  | ttgaattctg | tgagcgtatg  | gcaaacgaat  | ttaaat      |             | 3106 |

### 3-37 Sequences

3-37-1 Sequence Number [ID]

3-37-2 Length

3-37-3 Moltype

3-37-4 Division

3-37-5 Features Location/Qualifiers

37

3309

DNA

PAT

misc\_feature 1..3309

note = MVA-p54+EP402R+K205R nucleic acid sequences

source 1..3309

mol\_type = other DNA

organism = synthetic construct

### 3-37-6 Residues

|            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| atttaaatat | ggacgcatga | taagaataat | tttgaagcat | tggaagcaac | taaactatgt | 60  |
| gatgtcttgg | aatcaattac | agataaaaat | agaaactata | atcatataat | agtgtagggt | 120 |
| ggtagtattg | ctcttgtgac | tagagacttt | agttaaggta | ctgtaaaaat | agaaactata | 180 |
| atcatataat | agtgtagggt | ggtagtaggg | tactcgtgat | taattttatt | gttaaacttg | 240 |
| tccttaagtc | ttgccaccat | ggattctgaa | ttttttcaac | cggtttatcc | gcggcattat | 300 |
| ggtagagtgt | tgtcaccagt | cacccaccca | agcttcttct | ccacacatat | gtatactatt | 360 |
| ctcattgcta | tcgtggctct | agtcattatt | atcatcgttc | taatctatct | attctcttca | 420 |
| agaaagaaaa | aagctgctgc | cgctattgag | gaggaagata | tacagtttat | aaatccttat | 480 |

|             |             |             |             |             |             |      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| caagatcagc  | aatgggcaga  | agtcactcca  | caaccaggta  | cctctaaacc  | ggctggagcg  | 540  |
| actacagcaa  | gtgcaggcaa  | accagtcacg  | ggcagaccgg  | caacaaacag  | accagcaaca  | 600  |
| aacaaaccag  | tcacggacaa  | cccagttacg  | gacagactag  | tcatggcaac  | tggcgggccca | 660  |
| gcggccgcac  | ctgcggccgc  | gagtgtctcat | ccgactgagc  | cttacacgac  | agtcactact  | 720  |
| cagaacactg  | cttcacaaac  | aatgtcggct  | attgaaaatt  | tacgacaaag  | aaacacctat  | 780  |
| acgcataaag  | acctagaaaa  | ctccttggac  | tacaaggacg  | atgacgacaa  | gtagtagggtt | 840  |
| tttatataaa  | aaggcgcgcc  | ataaaaaattt | ttatactagt  | gtaccgcggt  | cgaatcgatt  | 900  |
| taattaacga  | tgctagcatt  | gtcgacgggtg | gtggcgcggc  | cgcctcgaga  | aaaattgaaa  | 960  |
| ataaatacaa  | aggttcttga  | gggttggtgtt | aaattgaaaag | cgagaaaataa | tcataaataa  | 1020 |
| gccaccaccg  | tttgccacca  | tgtgttttaa  | aatagtttta  | aacaatatta  | taatatggag  | 1080 |
| tacttttaaat | caaactgtat  | ttttaaataa  | tattttttaca | attaatgata  | catatgggtgg | 1140 |
| tctattttgg  | aatacatatt  | atgataataa  | tcgtagtaat  | tttacttatt  | gtggaatagc  | 1200 |
| aggaaattat  | tgttcatgtt  | gtggtcataa  | catatcattg  | tataatacaa  | caaataattg  | 1260 |
| tagttttaatt | atttttccta  | acaatacaga  | aatattttaat | agaacatatg  | aattagtata  | 1320 |
| tttgggacaaa | aaaattaatt  | atacagtaaa  | actattaaaa  | tctgttgatt  | ccccaaactat | 1380 |
| tacatataat  | tgtactaatt  | ctttaataac  | atgtaaaaat  | aataatggga  | caaatgttaa  | 1440 |
| tatatatttta | attattaaca  | atacaattgt  | taatgatact  | aatggagata  | tccttaatta  | 1500 |
| ttatttggat  | ggtaataata  | attttacagc  | tacatgtatg  | attaataata  | caattagttc  | 1560 |
| attgaatgaa  | acagaaaata  | taaattgtac  | taatccaata  | ttaaaatatc  | aaaattattt  | 1620 |
| atccacatta  | ttttatatca  | taatatttat  | tgtgagtggg  | tttaataatag | gtatatttat  | 1680 |
| ttcaatcata  | tctgtattat  | ctatacgaag  | aaaaagaaaa  | aaacatgttg  | aagaaataga  | 1740 |
| aagtccacca  | ccctctgaat  | ctaatgaaga  | agatatttct  | cacgatgaca  | ccacttccat  | 1800 |
| acatgaacca  | tctcccagag  | aaccattact  | tcctaagcct  | tacagtcggt  | atcagtataa  | 1860 |
| tacacctatt  | tactacatgc  | gtccctcaac  | acaaccactc  | aacccatttc  | ccctacctaa  | 1920 |
| accatgcccg  | ccacctaaac  | catgtcctcc  | acccaagcca  | tgcccgccac  | ccaaacctg   | 1980 |
| tcctccacct  | aaaccgtgtt  | ctccacccaa  | accgtgtcgt  | ccacctaaac  | catgtcctcc  | 2040 |
| acctaaacca  | tgtcctccac  | ctaaaccatg  | tcctccacct  | aaaccatgtc  | ctccatccaa  | 2100 |
| accatgtcct  | tcacctgaat  | cctattctcc  | acccaaacca  | ctacctagta  | tcccgttact  | 2160 |
| acccaatatc  | ccgccattat  | ctacacaaaa  | tatttcgctt  | attcatgtag  | atagaattat  | 2220 |
| tgactacaaa  | gaccatgacg  | gtgattataa  | agatcatgac  | atcgactaca  | aggatgacga  | 2280 |
| tgacaagtag  | ttttttataaa | ttttttttat  | gagtattttt  | acaaaaatgt  | ataaagtgtg  | 2340 |
| tgtcttatgt  | atattttataa | aaatgctaaa  | tatgcatgtg  | atctatgtta  | ttttattttt  | 2400 |
| tttttttggg  | atataaatat  | ccggtaaaat  | tgaaaaaata  | tacactaatt  | agcgtctcgt  | 2460 |
| ttcagacgct  | agctcgaggc  | caccatgggt  | gagccacgcg  | aacagttttt  | tcaagacctg  | 2520 |
| ctttcagcag  | tggatcaaca  | aatggacact  | gtaaaaaatg  | acataaaaag  | catcatgaaa  | 2580 |
| gaaaaaacat  | cttttatggg  | gtcattcgaa  | aacttttatag | aacgttacga  | taccatggaa  | 2640 |
| aaaaatattc  | aagaccttca  | gaataagtac  | gaagaaatgg  | cggccaacct  | tatgaccgtc  | 2700 |
| atgacggata  | caaaaattca  | gcttggagcc  | attatcgccc  | aacttgagat  | tctgatgata  | 2760 |
| aatggcactc  | cacttccggc  | aaaaaaaaaca | acgattaagg  | aggctatgcc  | cctaccttca  | 2820 |
| tcaaacacga  | acaatgatca  | aacgagtcct  | cccgcctcag  | gcaaaacaag  | tgaaacacct  | 2880 |
| aaaaaaaaatc | ccacgaatgc  | aatgttcttc  | acgcgtagcg  | aatgggcatc  | ctcgaaaact  | 2940 |
| tttcgagaaa  | agtttttaac  | accagaaatt  | caggccatat  | tggatgagca  | gtttgcaaac  | 3000 |
| aagaccggga  | tcgaaagatt  | gcatgccgag  | ggtctttaca  | tgtgggagaac | ccaattctct  | 3060 |
| gacgaacaga  | agaaaatggg  | caaagagatg  | atgaagaagg  | attacaagga  | cgatgacgat  | 3120 |
| aagtagattg  | ttgcaaatat  | acagaaatag  | aaatattaat  | ttttatacta  | caatggacaa  | 3180 |
| cattatgtcg  | gccgagtatt  | atctatctct  | ttatgccaaa  | tataattttc  | tccgtgatag  | 3240 |
| gtatcgatga  | aggacagttc  | tttccagaca  | ttgttgaatt  | ctgtgagcgt  | atggcaaacg  | 3300 |
| aatttaaat   |             |             |             |             |             | 3309 |

### 3-38 Sequences

3-38-1 Sequence Number [ID]

3-38-2 Length

3-38-3 Moltype

3-38-4 Division

38

2992

DNA

PAT

**3-38-5** Features Location/Qualifiers

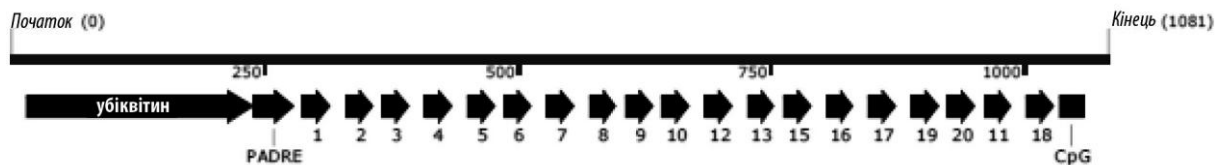
**misc\_feature 1..2992**  
**note = MVA-p72+A104R nucleic acid**  
**sequences**  
**source 1..2992**  
**mol\_type = other DNA**  
**organism = synthetic construct**

**3-38-6** Residues

|             |            |             |            |             |             |      |
|-------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|------|
| atttaaatat  | ggacgcatga | taagaataat  | tttgaagcat | tggaagcaac  | taaactatgt  | 60   |
| gatgtccttg  | aatcaattac | agataaaaaat | agaaactata | atcatataat  | agtgtagggt  | 120  |
| ggtagtattg  | ctcttgtgac | tagagacttt  | agttaaggta | ctgtaaaaaat | agaaactata  | 180  |
| atcatataat  | agtgtagggt | ggtagtaggg  | tactcgtgat | taattttatt  | gttaaacttg  | 240  |
| tccttaagtc  | ttgccaccat | ggcatcagga  | ggagctttct | gtcttattgc  | taacgatggg  | 300  |
| aaggccgaca  | agattatatt | ggcccaagac  | ttgcttaata | gcaggatttc  | taacattaaa  | 360  |
| aatgtgaaca  | aaagttatgg | gaaacccgac  | cccgaaccca | ctttgagtca  | aatcgaagaa  | 420  |
| acacatttgg  | ttcattttaa | tgcgcatttt  | aagccttatg | ttccagtagg  | gtttgaatac  | 480  |
| aataaagtac  | gcccgcatac | gggtaccccc  | accttgggaa | acaagcttac  | ctttggtatt  | 540  |
| ccccagtacg  | gagacttttt | ccatgatatg  | gtgggccacc | atatattggg  | tgcattgcat  | 600  |
| tcgtcctggc  | aggatgctcc | gattcagggc  | acggcccaga | tgggggcca   | tggtcagctt  | 660  |
| caaacgtttc  | ctcgcaacgg | atatgactgg  | gacaaccaa  | cacctttaga  | ggcgccggtt  | 720  |
| tacacgcttg  | tagatccctt | tggaagacct  | attgtacccg | gcacaaagaa  | tgcgtaccga  | 780  |
| aacttggttt  | actactgcca | ataccccgga  | gaacgacttt | atgaaaacgt  | aagattcgat  | 840  |
| gtaaattggaa | attccctgga | cgaatatagt  | tcggatgtca | caacgcttgt  | gcgcaaattt  | 900  |
| tgcattccag  | gggataaaat | gactggatat  | aagcacttgg | tcggccagga  | ggtatcgggtg | 960  |
| gagggaacta  | gtggccctct | cctatgcaac  | attcatgatt | tgcacaagcc  | gcaccaaagc  | 1020 |
| aaacctattc  | ttaccgatga | aaatgatacg  | cagcgaacgt | gcagccatac  | caacccgaaa  | 1080 |
| ttcctttcac  | aacattttcc | cgagaactct  | cacaatatcc | aaacagcagg  | taaacaagat  | 1140 |
| attactocta  | ttacggacgc | aacgtatctg  | gacataagac | gtaatgttca  | ttacagctgt  | 1200 |
| aatggacctc  | aaacccctaa | atactatcag  | ccccctcttg | cgctctggat  | taagctgcgc  | 1260 |
| ttttggttta  | acgagaacgt | gaaccttgct  | attccctcgg | tatccattcc  | cttcggcgag  | 1320 |
| cgctttatca  | ccataaagct | tgcattcgaa  | aaggatttgg | tgaatgaatt  | tcctggactc  | 1380 |
| tttatacgcc  | agtcgcgttt | tatacctgga  | cgccccagta | gacgcaatat  | acgctttaa   | 1440 |
| ccatggttta  | tcccaggagt | cattaatgaa  | atctcgtcga | cgaataatga  | actttacatc  | 1500 |
| aataacctgt  | ttgtaacccc | tgaatacac   | aacctgtttg | taaaacgcgt  | tcgattttcc  | 1560 |
| ctgatacgtg  | tccataaaac | gcaggtgacc  | cacaccaaca | ataaccacca  | cgatgaaaaa  | 1620 |
| ctaattgtctg | ctcttaaatg | gcccattgaa  | tatatgttta | taggattaaa  | acctacctgg  | 1680 |
| aacatctccg  | atcaaaatcc | tcatcaacac  | cgagattggc | acaagttcgg  | acatgttggt  | 1740 |
| aacgccatta  | tgcagcctac | tcaccacgca  | gagataagct | ttcaggatag  | agatacagct  | 1800 |
| cttcagacg   | catgttcac  | tatatcggat  | attagccccg | ttacgtatcc  | gatcacatta  | 1860 |
| cctattatta  | aaaacatttc | cgtaactgct  | catggtatca | atcttatcga  | taagtttcca  | 1920 |
| tcaaagttct  | gcagctctta | catacccttc  | cactacggag | gcaatgcaat  | taaaaccccc  | 1980 |
| gatgatccgg  | gtgcgatgat | gattaccttt  | gctttgaagc | cacgggagga  | ataccaaccc  | 2040 |
| agtggtcata  | ttaacgtatc | cagagcaaga  | gaattttata | ttagttggga  | cacggattac  | 2100 |
| gtggggctca  | tactacggc  | tgatcttggt  | gtatcggcat | ctgctattaa  | ctttcttctt  | 2160 |
| cttcagaacg  | gttcagctgt | gctgcgttac  | agtaccgact | acaaagacca  | tgacggtgat  | 2220 |
| tataaagatc  | atgacatcga | ctacaaggat  | gacgatgaca | agtagtaggt  | ttttatataa  | 2280 |
| aaaggcgcg   | cataaaaatt | tttatactag  | tgtaccgcgg | tcgaatcgat  | ttaattaacg  | 2340 |
| atgctagcat  | tgtcgacgg  | ggtggcgcg   | ccgcctcgag | aaaaattgaa  | aataaataca  | 2400 |
| aaggttcttg  | agggttgtgt | taaattgaaa  | gcgagaaata | atcataaata  | agccaccacc  | 2460 |
| gtttgccacc  | atgtcgacaa | aaaaaaagcc  | cacaattacc | aagcaagagc  | tttactcctt  | 2520 |
| agtagcggca  | gataccaggt | taaataaagc  | attgattgaa | agaatcttta  | caagccagca  | 2580 |
| aaaaataatc  | caaaatgctt | taaagcaca   | tcaagaagtt | attataccac  | ccggaatcaa  | 2640 |
| gttcaccgct  | gttacagtga | aagctaaacc  | tgctcgccag | ggccataacc  | ccgcaacagg  | 2700 |
| agagcctatt  | caaattaaag | ccaagcctga  | acataaagcc | gtaaagatac  | gagcattgaa  | 2760 |
| acctgttcat  | gatatgttaa | atgactacaa  | ggatgacgat | gacaagtagt  | ttttataaat  | 2820 |

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| tttttttatg agtatttttta caaaaatgta taaagtgtat gtcttatgta tatttataaa | 2880 |
| aatgctaaat atgcgatgta tctatgttat ttctccgtga taggtatcga tgaaggacag  | 2940 |
| ttctttccag acattgttga attctgtgag cgtatggcaa acgaatttaa at          | 2992 |

1A



Фиг. 1

1B

GCTAGCGCCGCCACC**ATGCAGATTTTCGTGAAGACACTGACCGGGAAGACCATTACCCTGGAAGTCGAGCCATCAGATACCATTGAGAACGTGAAGGC**  
**M Q I F V K T L T G K T I T L E V E P S D T I E N V K A**  
**AAAGATTCAAGACAAGGAAGGAATCCCCCAGATCAGCAGAGACTGATTTTCGCAGGAAAACAGCTGGAAGACGGGAGAACACTGTGAGATTACAATA**  
**K I Q D K E G I P P D Q Q R L I F A G K Q L E D G R T L S D Y N**  
**TCCAGAAGGAGTCAACCCTGCACCTGGTGTGAGACTGAGAGGGGCAAAATTCGTCGCAGCCTGGACACTGAAGGCAGCCGACCCAGATATATAAAC**  
**I Q K E S T L H L V L R L R G A K F V A A W T L K A A A A R Y K T**  
**CTGAATCTGCTGCTGTCATACGCAGACGCCAGATGGAAGACATTCTGCAAAAACCTGCCTTATGCAAGATACATGTCAAGTGTCAACCTTCTGGCCCTA**  
**L N L L L S Y A D A R W K T F C K N L P Y A R Y M S V S T F W P Y**  
 TGCCGACGCCAGATGGAGAATCAACAGAACTACTACCCATACGCAGATAACCACTTCATTACATACCTGAACAACATGGGATATGCAAGATACAGAA  
 A D A R W R I N R N Y Y P Y A D N Q F I T Y L N N M G Y A R Y R  
 CCGCATCATCAGCCGAAGTGTACGCAGACAGAATTGGGCAACACAGCAGCTGGCACTGAAGTATGCAAGATGCCAGATACCTCAATCATTACAAGACAC  
**T A S S A E L Y A D R I W A T Q Q L A L N Y A D A R Y S I I T R H**  
 CTGGAGTATGCAAGATACAAGACCTTCTCAGACCTGTCAAATAATCAGTTTACAGATTCTGTCTGGTACCAGCCCTTCGCAGACAGAAGATTCTC  
**L E Y A R Y K T F S D L S N Y N Q F Y R F V W Y Q P F A D R R F S**  
 AATGTCACTGAAGTACTATTTCTACGCAGACGCCAGTGGTTCATCAATTCAACAGATTCTGTGTACAGAAGATGGGCAATTAACACCTTCATGTACT  
**M S L N Y Y F Y A D A Q W F I N S T D F L Y R R W A I N T F M Y**  
 ATTATGCCGATGCCAGATGGTACCAGCTGGATCTGTTACAGCACTGGCCGACGCAAGATGGTGCATCGATCTGGGAGCCAACGCATTGCGCCGACGCA  
**Y Y A D A R W Y Q L D L F T A L A D A R W C I D L G A N A F A D A**  
 AGATGGTCATCAATGGACGATATCTCAGCCTATGCAAGATACTGTATTGACCTGGGGGCCGATGCATTGCGCCAGTGGTACACCCTGAATCACGCATT  
**R W S S M D D I S A Y A R Y C I D L G A D A F A Q W Y T L N H A F**  
 CACACTGGCAGATAGAAGATATTTCTCATTCGGAAGAACCCTGGTGTATTGATAATCGTCGTTTGTCTGTTTGTCTGTTGGTGCATCGATGCAGGCGGC  
**T L A D R R Y F S F G R T L V Y \*** CpG

CGC

1C

ATTTAAATatggacgcatgataagaataatTTTgaagcattggaagcaactaaactatgtgatgtcttggaatcaattacagaTAAAAATAGAAACT  
ATAATCATATAATAGTGTAGGTTGGTAGTATTGCTCTTGTGACTAGAGACTTTAGTTAAGGTACTGTAAAAATAGAACTATAATCATATAATAGTG  
TAGGTTGGTAGTAGGGTACTCGTGATTAATTTTATTGTTAAACTTGTCTTAAAGTCTTGCCACCATGGATTTTATTTTAAATATATCCATGAAAATG  
GAGGTCATCTTCAAACCGGATTTAAGATCATCTTCACAAGTTGTGTTTCATGCGGGTAGCTTGTAATTTGGTTTCTGTTGAGATTATCAATAGCG  
GTAGAATTGTTACGACCGCTATAAAACATTGCTCAGTACTGTTAAGTATGATATTGTGAAATCTGCTCATATATATGCAGGGCAAGGGTATACCTGA  
ACATCAGGCTCAAGAAGATGGAATATGATTCTGCATGTGCTGTTTGAAGAGGAGACAGAATCCTCAGCATCATCGGAAAGCATTATGAAAAAAT  
GATAATGAAACCAATGAATGCACATCCTCCTTTGAAACATTGTTTGAGCAAGAGCCCTCATCAGAGGAACCTAAAGACTCCAAGCTGTATATGCTTG  
CACAAAAGACTGTGCAACATATTGAACAATATGAAAGGCACCTGATTTTAAACAAGGTTATTAGAGCACATAACTTTATTCAAACCATTTCATGGAAC  
CCCTCTAAAGGAAGAAGAAAAAGAGGTGGTAAGACTCATGGTCATTAAACTTTTAAAAAAGGATTACAAGGACGATGACGATAAGTAGTAGGTT  
TTTATATAAAAAAGCGCGCCATAAAAAATTTTATACTAGTGTACCGCGGTGCAATCGATTTAATTAACGATGCTAGCATTGTGACGGTGGTGGCGC  
GGCCGCctcgagaaaaattgaaaaataatacaaaaggttcttgagggttggtgtaaattgaaagcgagaaataatcataaataagccaccacggtttg  
ccaccATGGCAGAATTTAATATTGATGAGCTTCTCAAAAACGATTGGAGGATCCCTCTACTGAAATATCCGAAGAAACGCTTAAACAGCTTTATCA  
AAGGACGAACCTTACAAACAGTTCAAAAATGATAGCAGGGTGGCCTTTTGTCTTTTACAAATTTGCGGGAGCAGTATATTGCAGCTCTTATAATG  
ACTAGCTTTATTGGATATGTCTTCAAAGCTCTGCAGGAATGGATGCCTTCTATTCAAACCTACCCACACGACCAAAACCTCTTCTCAGTGAGCTAA  
TAACGTTAGTTGATACTTTGAAACAGGAACTAATGATGTTCCCTCTGAATCGGTAGTAAATACAATTTTATCTATAGCGGATAGCTGCAAAACCCA  
GACGCAGAAAAGCAAGGAAGCTAAACAACGATCGATAGCTTTTACGAGAACATTTTGTGTTTGATCCTAATCTTCATGCTCAAAGTGCGTATACT  
TGTGCAAGCACTTGTGCAATACCAATGTAGACACCTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACAG  
GTGCAAGCACTTGTGCAATACCAATGTAGACACCTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACAG  
TGTAGACACCTGTGCAAGCACTTGTGCAATACCAATGTAAACACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACCTGT  
GCAAAACCTGTGCAAGCACAGATACACCGATTAGCAGATCCTGAGCGCATCCCTTTACACATCATGCAAAAAACATTAAATGTGCCTAATGAGC  
TTCAGGCCGATATTGATGCAATTACCCAAACCCACAGGGCTATAGGGCAGCAGCCACATATTACAAATATAGAACTTCATCAAAGCATTAACA  
TATGCTTGAAATCCGAGGGCGTTTAAACCATCTCTTTAAACACAAAATTAAGTATCTTTTCGAGCATATTCCACCTCAGGATACCTTCTAT  
AAGTGGAATTATTACATTGAGGATAATTACGAAGAGTTGCGGGCGCTACGGAAGCATCTACCCAGAAAAGCCGACCTAGAGTTTGCCTTCATTA

Фіг. 1 продовження

TTTATGATGTGGTGGATAGCAGCAACCAAAAGGTTGATGAATTTTATTATAAATAAAGACCAGATTTTCTCAGAGGTTTCATCCAT  
TCAATTAGGCAACTGGACACTCCTGGGAAGCTTTAAGGCCACAGAGAGCGCTACAATTTATTTAATCAAAATAATGAAATAATAAACCGGATTTTGG  
ACCGTCATGAGGAAGACCTAAAGATAGGAAAAGAGATTCTACGAAATACCATTTACCACAAAAAGCAAAAAATATACAAGAAACCGCCCGGATGCT  
CCGGGGCTCTCCATCTATAATTCAACCTTTACACGGATAGCGGGATTAAAGGACTGCTTCTCTTAAAGAGCTAAAAAACCTAGAAAAAGCATCTGG  
AAATATCAAAAAGCTCGAGAGTATGATTTTATAGACGACTGCGAAGAAAAAATTAAGCAACTGCTTAGTAAAGAAAATTTAACCCCGATGAAGAAA  
GCGAGCTGATAAAAAACAAAAACAGTTAAATATGCGCTTGAAATGCTCAATGTGCCTGATGATACGATACGGGTAGATATGTGGGTCAACAATAAT  
AATAAACTCGAAAAAGAAATTTTATATACAAAAGCAGAATTGGACTACAAGGACACGACGGTGACTACAAGGACACGACATCGACTACAAGGACGA  
CGACGACAAGTGATTTTATAAATTTTATGAGTATTTTACAAAAATGTATAAAGTGTATGTCTTATGTATATTTATAAAATGCTAAATATGC  
GATGTATCTATGTTATttctccgtgataggtatcgatgaaggacagttctttccagacattgttgaaattctgtgagcgtatggcaacgaATTTAAAT

1D

ATTTAAATatggacgcatgataagaataatTTTgaagcattggaagcaactaaactatgtgatgtcttggaatcaattacagaTAAAAATAGAACTA  
TAATCATATAATAGTGTAGGTTGGTAGTATTGCTCTTGTGACTAGAGACTTTAGTTAAGGTACTGTAAAAATAGAACTATAATCATATAATAGTGTA  
GGTTGGTAGTAGGGTACTCGTGATTAATTTTATTGTTAAACTTGTCTTAAAGTCTTGCCACCATGGATTTGAATTTTTCACCGGTTTATCCGCGG  
CATTATGGTGAGTGTTTGTACCAAGTCACCCACCAAGCTTCTTCCACACATATGTATACCTATTCTCATGCTATCGTGGTCTTAGTCATTATTAT  
CATCGTTCTAATCTATCTATTCTTCAAGAAAGAAAAAGCTGCTGCCGCTATTGAGGAGGAAGATATACAGTTTATAAATCCTTATCAAGATCAGC  
AATGGGCAGAAGTCACTCCACAACCAAGTACCTCTAAACCGGCTGGAGCGACTACAGCAAGTGCAGGCAAAACAGTCACGGGCAGACCGGCAACAAAC  
AGACCAGCAACAAACCAAGTACGGGCAACCCAGTTACGGACAGACTAGTCATGGCAACTGGCGGGCCAGCGGCCGACCTGCGGCCGCGAGTGC  
TCATCCGACTGAGCCTTACACGACAGTCACTACTCAGAACACTGCTTCAAAACAATGTGCGCTATTGAAATTTACGACAAAGAAACACCTATACGC  
ATAAAGACCTAGAAAACCTCTTGACTACAAGGACGATGACGACAAGTAGTAGGTTTTTATATAAAAAAGCGCGCCATAAAAAATTTTATACTAGTGT  
ACCGCGGTGCAATCGATTTAATTAACGATGCTAGCATTGTGACGGTGGTGGCGGGCCGCTCGAGAAAAATGAAAAATAAATACAAGGTTCTTGA  
GGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATAAGCCACCACCGTTTGCCACCATGTGTTTAAAAATAGTTTTTAAACAATATTATAATATGG

Фіг. 1 продовження

AGTACTTTAAATCAAACGTATTTTAAATAATATTTTACAATTAATGATACATATGGTGGTCTATTTTGAATACATATTATGATAATAATCGTAG  
TAATTTTACTTATTGTGGAATAGCAGGAAATTATTGTTTCATGTTGGTCATAACATATCATTGTATAATACAACAAATAATTGTAGTTAATTATTT  
TTCTTAACAATACAGAAATATTAAATAGAACATATGAATTAGTATATTTGGACAAAAAATAATTATACAGTAAACCTATTAAATCTGTTGATTCC  
CCAACCTATTACATATAATTGTACTAATCTTTAATAACATGTAAAAATAATAATGGGACAAATGTTAATATATATTTAATTATTAACAATACAATTGT  
TAATGATACTAATGGAGATATCCTTAATTATTATTGGAATGGTAATAAATTTTACAGCTACATGTATGATTAATAATACAATTAGTTCATTGAATG  
AAACAGAAAAATATAAATTGTACTAATCCAATATTAAATATCAAAATTATTTATCCACATTATTTTATATCATAATaTTTATTGTGAGTGGATTAAAT  
ATAGGTATaTTTATTTCAATCATATCTGTATTATCTATACGAAGAAAAAGAAAAAACATGTTGAAGAAATAGAAAGTCCACCACCCTCTGAATCTAA  
TGAAGAAGATATTTCTCAGCATGACACCCTCCATACATGAACCATCTCCAGAGAACCATTAATCTCCTAAGCCTTACAGTCGTTATCAGTATAATA  
CACCTATTTACTACATGCGTCCCTCAACACAACCACTCAACCCATTTCCTTACCTAAACCATGCCCCGCCACCTAAACCATGTCTCCACCCAGCCA  
TGCCCCGCCACCCAAACCATGTCTCCACCTAAACCGTGTCTCCACCCAAACCGTGTCTCCACCTAAACCATGTCTCCACCTAAACCATGTCTCTCC  
ACCTAAACCATGTCTCCACCTAAACCATGTCTCCATCCAAACCATGTCTTACCTGAATCCTATTCTCCACCCAAACCACTACCTAGTATCCCGT  
TACTACCCAAATATCCCGCCATTATCTACACAAAATATTTTCGCTTATTCATGTAGATAGAATTATTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAGAT  
CATGACATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAGTTTTTATAAATTTTTTTTATGAGTATTTTTACAAAATGTATAAAGTGATGTCTTATGTAT  
ATTTATAAAATGCTAAATATGCGATGTATCTATGTTATTTTATTTTTTTTTTGGAAATATAATATCCGGTAAATTTGAAAAATATACACTAATT  
AGCGTCTCGTTTCAGACGCTAGCTCGAGGCCACCATGGTTGAGCCACGCGAACAGTTTTTTCAAGACCTGCTTTCAGCAGTGGATCAACAAATGGACA  
CTGTAAAAATGACATAAAAGACATCATGAAGAAAAAACATCTTTTATGGTGTCTTCGAAAACCTTATAGAAGCTTACGATACCATTGAAAAAAAT  
ATTCAAGACCTTCAGAATAAGTACGAAGAAATGGCGGCCAACCTTATGACCGTCATGACGGATACAAAATTCAGCTTGAGCCATTATCGCCCACT  
TGAGATTCTGATGATAAATGGCACTCCACTTCGGCAAAAAAACACAGATTAAAGAGGCTATGCCCTTACCTTCATCAACACGAACAATGATCAAA  
CGAGTCTCCCGCTCAGGCAAAACAAGTGAACACCTAAAAAAATCCACGAATGCAATGTTCTTCACGCGTAGCGAATGGGCATCTCGAAAACCT  
TTTCGAGAAAAGTTTTTAACACCAGAAATTCAGGCCATATTGGATGAGCAGTTTGCAACAAAGACCGGGATCGAAAAGATTGCATGCCGAGGGCTTTTA  
CATGTGGAGAACCAATCTCTGACGAACAGAAGAAATGGTCAAAGAGATGATGAAGAAGGATTACAAGGACGATGACGATAAGTAGATTGTTGCAA  
ATATACAGAAATAGAAATATTAATTTTTTATACTACAATGGACAACATTATGTGCGCCGAGTATTATCTATCTCTTTATGCCAAATATAATtttctcgg  
tgataggtatcgatgaaggacagttctttccagacattgttgaattctgtgagcgatggcaaacgaATTTAAAT

Фіг. 1 продовження

1E

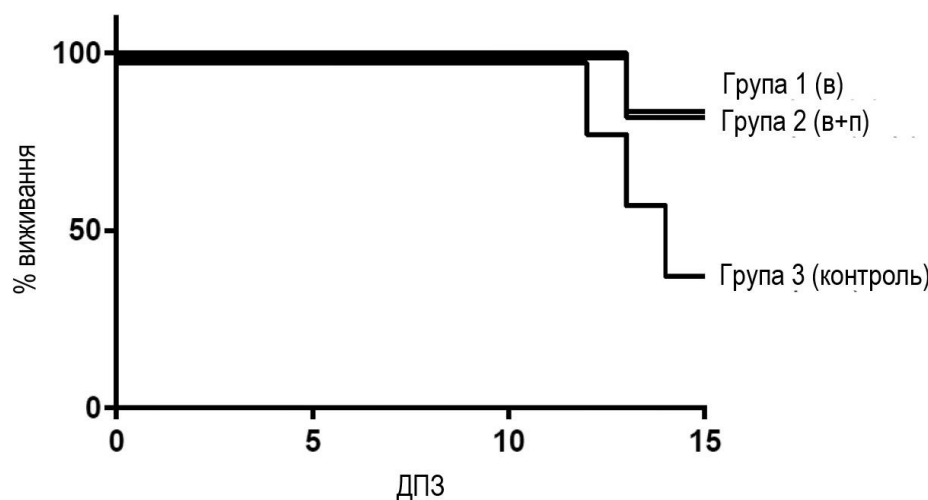
ATTTAAATatggacgcatgataagaataattttgaagcattggaagcaactaaactatgtgatgtcttggaaatcaattacagaTAAAAATAGAACTA  
TAATCATATAATAGTGTAGGTTGGTAGTATTGCTCTTGTGACTAGAGACTTTAGTTAAGGTACTGTAAAAATAGAACTATAATCATATAATAGTGT  
GGTTGGTAGTAGGGTACTCGTGATTAAATTTTATTGTTAAACTTGCCTTAAGTCTTGCCACCATGGCATCAGGAGGAGCTTTCTGTCTTATTGCTAAC  
GATGGGAAGGCCGACAAGATTATATTGGCCCAAGACTTGCCTAATAGCAGGATTTCTAACATTAAAAATGTGAACAAAAGTTATGGGAAACCCGACCC  
CGAACCCACTTTGAGTCAAATCGAAGAAACACATTTGGTTCATTTTAATGCGCATTTTAAGCCTTATGTTCCAGTAGGGTTTGAATACAATAAAGTAC  
GCCCCATACGGGTACCCACCTTGGGAAACAAGCTTACCTTTGGTATTCCCCAGTACGGAGACTTTTTCCATGATATGGTGGGCCACCATATATTG  
GGTGCATGTCTTCGTCCTGGCAGGATGCTCCGATTAGGCAACGGCCAGATGGGGGCCATGGTCAGCTTCAAACGTTTCTCGCAACGGATATGA  
CTGGGACAACCAAACCTTTAGAGGGCGCCGTTTACACGCTTGTAGATCCCTTTGGAAGACCTATTGTACCCGGCACAAAGAATGCGTACCGAACT  
TGTTTTACTACTGCGAATACCCGGGAGAACGACTTTATGAAAACGTAAGATTGATGTAAATGGAAATTCCTGGACGAATATAGTTCCGATGTACA  
ACGCTTGTGCGCAAATTTTGCATCCAGGGGATAAAATGACTGGATATAAGCACTTGGTCGGCCAGGAGGTATCGGTGGAGGGAAGTATGAGCCCTCT  
CCTATGCAACATTATGATTTGCACAAGCCGACCAAAGCAAACCTATTCTTACCAGTGAATGATACGAGCGAACGTGCAGCCATACCAACCCGA  
AATTCCTTTACAACATTTTCCCGAGAACTCTCACAATATCCAAACAGCAGGTAAACAAGATATTACTCTTATTACGGACGCAACGTATCTGGACATA  
AGACGTAATGTTTACAGCTGTAATGGACCTCAAAACCCCTAAATACCTATCAGCCCCCTCTTGCCTCTGGATTAAAGCTGCGCTTTTGGTTTAACGA  
GAACGTGAACCTTGCTATTCCCTCGGTATCCATTCCCTTCGGCGAGCGCTTTATCACCATAAAGCTTGCAATCGCAAAAGGATTTGGTGAATGAATTC  
CTGGACTCTTTATACGCCAGTCGCTTTTATACCTGGACGCCCCAGTAGACGCAATATACGCTTTAAACCATGGTTTATCCAGGAGTCATTAATGAA  
ATCTCGCTCACGAATAATGAACTTTACATCAATAACCTGTTTGTAAACCCCTGAAATACACAACCTgTTTGTAAACGCGTTCGATTTTCCCTGATACG  
TGTCATATAAACGCAGGTGACCCACACCAACAATAACCAACACGATGAAAACTAATGTCTGCTCTTAAATGGCCCATTTGAATATATGTTTATAGGAT  
TAAACCTACCTGGAACATCTCCGATCAAAATCCTCATCAACACCGAGATTGGCACAAGTTTCGGACATGTTGTTAACGCCATTATGCAGCCTACTCAC  
CAGCGAGAGATAAGCTTTAGGATAGAGATACAGCTCTTCCAGACGATGTTTCATCTATATCGGATATTAGCCCGTTACGTATCCGATCACATTACC  
TATTATTAAAAACATTTCCGTAAGTCTCATGGTATCAATCTTATCGATAAGTTTCCATCAAAGTTTCTGCAGCTCTTACATACCCCTTCCACTACGGAG  
GCAATGCAATTAAACCCCGATGATCCGGGTGCGATGATGATTACCTTTGCTTTGAAGCCACGGGAGGAATACCAACCCAGTGGTCATTTAACGTA  
TCCAGAGCAAGAGAATTTTATATTAGTTGGGACACGGATTACGTGGGGTCTATCACTACGGCTGATCTTGTGGTATCGGCATCTGCTATTAACCTTTCT

Фіг. 1 продовження

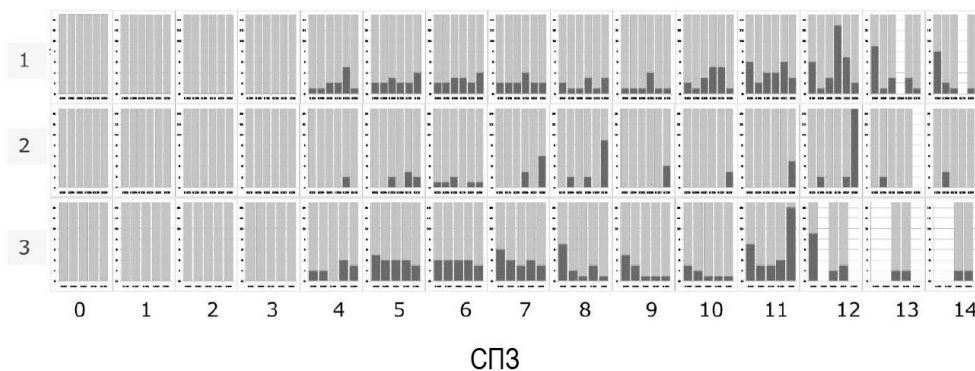
TCTTCTTCAGAACGGTTCAGCTGTGCTGCGTTACAGTACC GACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACG  
 ATGACAAGTAGTAGGTTTTTATATAAAAAGGCGGCCATAAAAAATTTTTTACTAGTGTACCGCGTCAATCGATTTAATTAACGATGCTAGCATTG  
 TCGACGGTGGTGGCGCGGCCGCCCTCGAGAAAAATTGAAAAATAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATA  
 AGCCACCACCGTTTGCCACCATGTCGACAAAAAAAAGCCACAATTACCAAGCAAGAGCTTTACTCCTTAGTAGCGGCAGATACCCAGTTAAATAAA  
 GCATTGATTGAAAGAATCTTTACAAGCCAGCAAAAAATAATCCAAAATGCTTTAAAGCACAATCAAGAAGTTATTATACCACCCGGAATCAAGTTCAC  
 CGTCGTTACAGTGAAAGCTAAACCTGCTCGCCAGGGCCATAACCCGCAACAGGAGAGCCTATTCAAATTAAAGCCAAGCCTGAACATAAAGCCGTAA  
 AGATACGAGCATTGAAACCTGTTTCATGATATGTTAAATGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAGTTTTTATAAATTTTTTTATGAGTATTTTTTACA  
 AAAATGTATAAAGTGTATGCTTATGTATATTTATAAAAAATGCTAAATATGCGATGTATCTATGTTAtttctccgtgataggtatcgatgaaggacag  
 ttctttccagacattgttgaattctgtgagcgatggcaaacgaATTTAAAT

Фіг. 1 продовження

2A

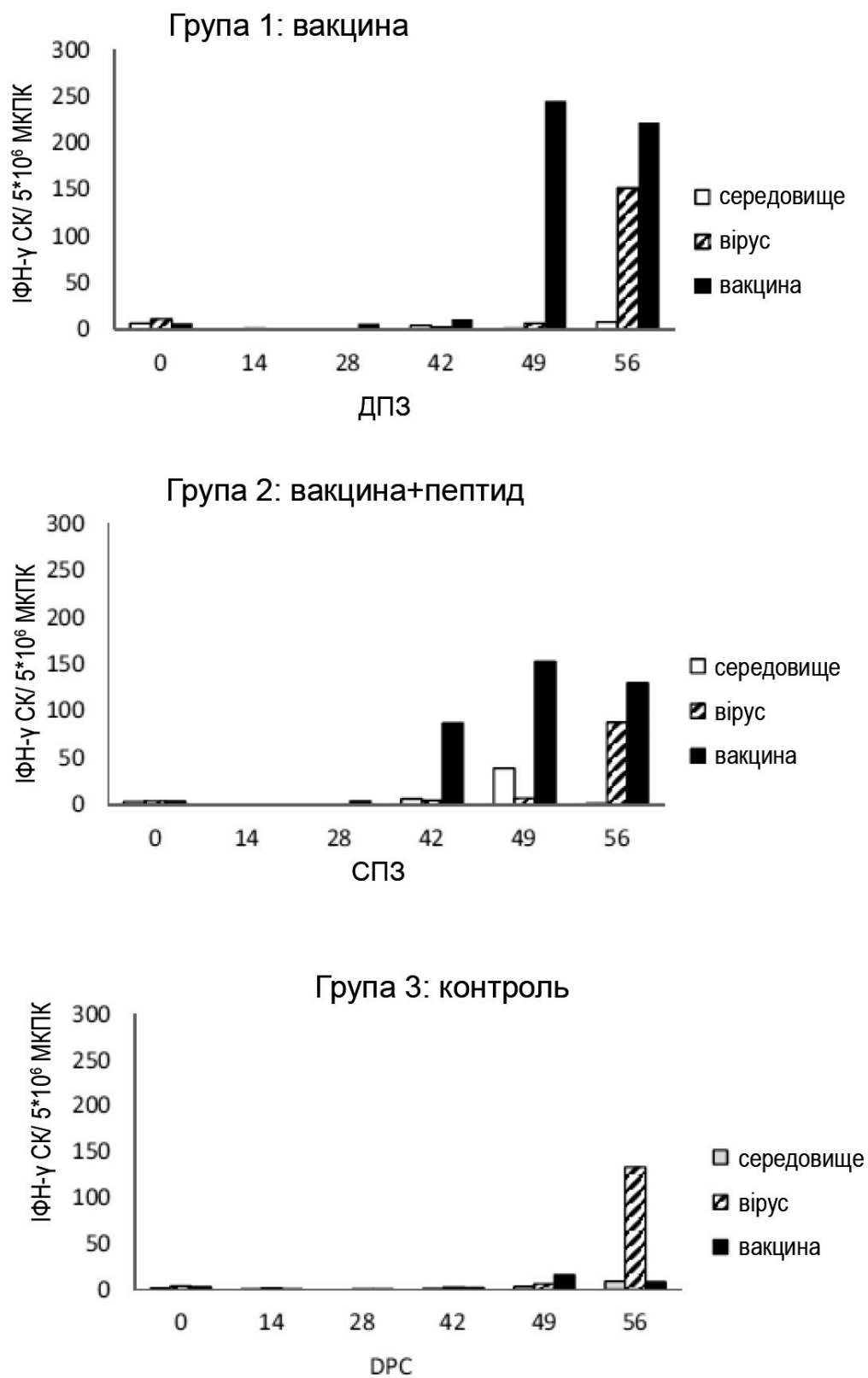


В



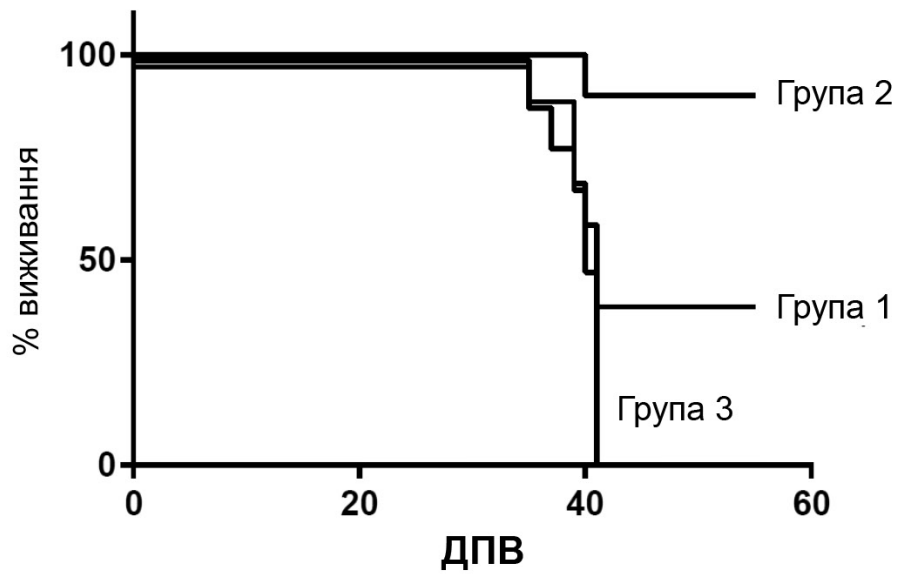
Фіг. 2

С



Фіг. 2 продовження

А



В

Тяжкість захворювання

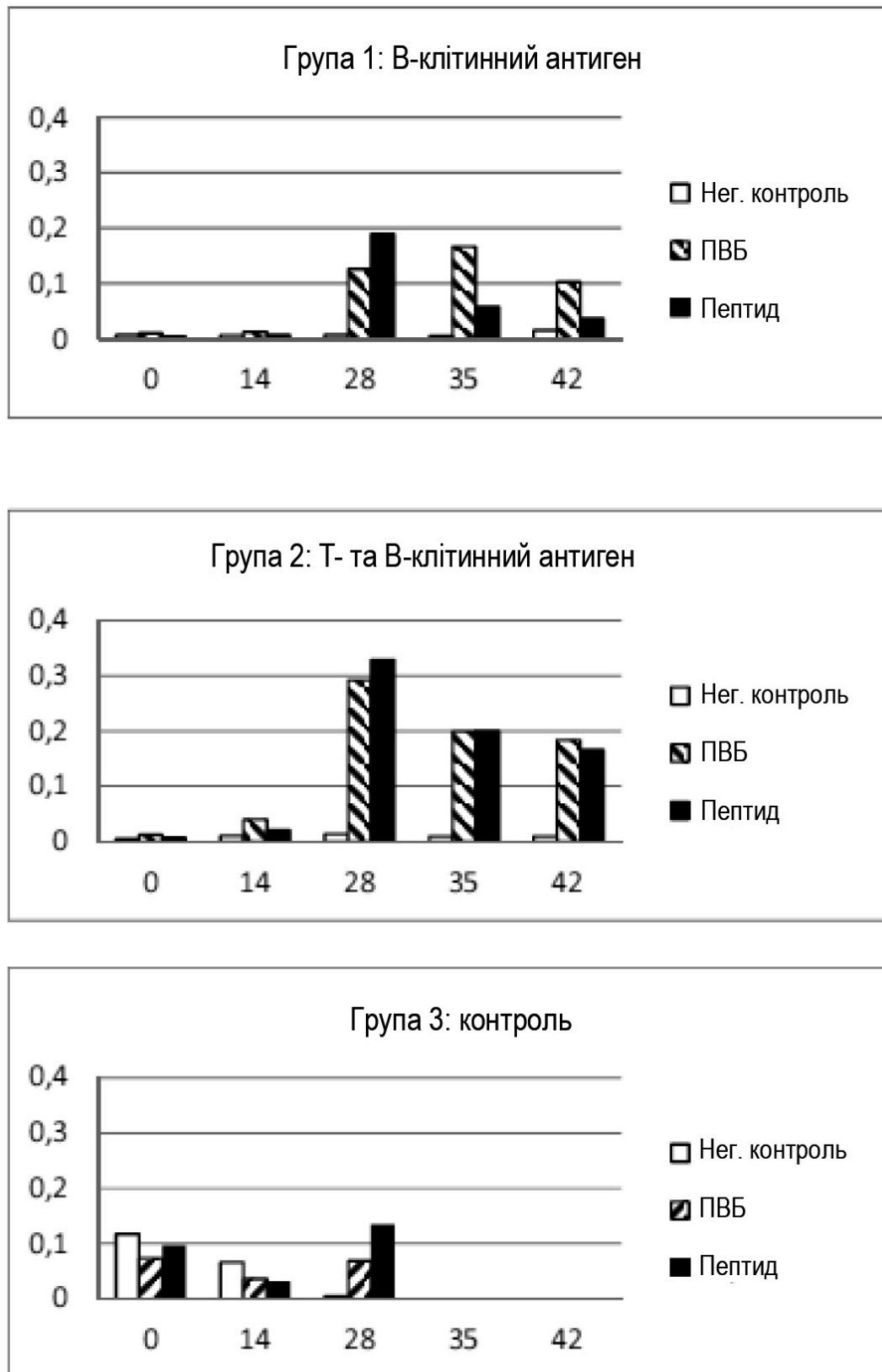


Середній показник тяжкості захворювання на групу ДПЗ

Фіг. 3

С

KOI-відповідь (ФФН-γ за ELISPOT)



Фіг. 3 продовження