



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **130738** (13) **C2**
(51) МПК (2026.01)

A61K 39/12 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 35/76 (2015.01)
A61K 48/00
C12N 7/01 (2006.01)
C12N 15/34 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C07K 19/00
A61P 31/20 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A61P 43/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2021 01891**
(22) Дата подання заявки: **18.09.2019**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **07.05.2026**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **18195280.5, 201910239547.X**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **18.09.2018, 27.03.2019**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **EP, CN**
(41) Публікація відомостей про заявку: **02.06.2021, Бюл.№ 22**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **06.05.2026, Бюл.№ 18**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/NL2019/050614, 18.09.2019**
(72) Винахідник(и): **Віллемсенс Петрус Теодорус Джоханнес (NL), Пеетерс Бернардус Петрус Хубертус (NL)**
(73) Володілець (володільці): **СТІХТІНГ ВАГЕНІНГЕН РІСЕРЧ, Droevendaalsesteeg 4, 6708 PB Wageningen, The Netherlands (NL)**

(74) Представник: **Портна Людмила Семенівна, реєстр. №150**
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
LOPERA-MADRID JAIME et. al. Safety and immunogenicity of mammalian cell derived and modified vaccinia Ankara vectored African swine fever subunit antigens in swine. Veterinary immunology and immunopathology. Elsevier BV. Amsterdam. NL. 24.01.2017. Vol. 185. P. 20-33, URL: <http://doi.org/10.1016/J.VETIMM.2017.01.004>
ARIAS MARISA et. al. Approaches and perspectives for development of African swine fever virus vaccines. Vaccines. 07.10.2017. Vol. 5. No. 4. P. 35, URL: <http://doi.org/10.3390/vaccines5040035>
LOKHANDWALA SHEHNAZ et. al. Induction of robust immune responses in swine by using a cocktail of adenovirus-vectored African swine fever virus antigens. Clinical and diagnostic laboratory immunology. 14.09.2016. Vol. 23. No. 11. P.888-900, URL: <http://doi.org/10.1128/CLV.00395-16>
ARGILAGUET JORDI M. et. al. DNA vaccination partially protects against African swine fever virus lethal challenge in the absence of antibodies. Plos One. 26.09.2012. Vol. 7. No. 9. P. e40942, URL: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0040942>
LACASTA A. et. al. Expression library immunization can confer protection against lethal challenge with African swine fever virus. Journal of virology. 10.09.2014. Vol. 88. No. 22. P.13322-13332, URL: <http://doi.org/10.1128/JVI.01893-14>
WO 2017/096341 A2, 08.06.2017
WO 2011/110953 A2, 15.09.2011
BARDERAS M. G. et al. Antigenic and immunogenic properties of a chimera of two immunodominant African swine fever virus proteins. Archives of Virology. 2001. Vol. 146. No. 9. P. 1681-1691, URL: <https://doi.org/10.1007/s007050170056>

UA 130738 C2

(54) ВАКЦИНА ПРОТИ ВІРУСУ АФРИКАНСЬКОЇ ЧУМИ СВИНЕЙ

(57) Реферат:

Винахід належить до рекомбінантної молекули нуклеїнової кислоти, що містить експресійну касету, яка кодує поліепітоп, який містить Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней. Цей винахід також належить до вірусної частинки, що містить зазначену рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, та до вірусної частинки, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней. Цей винахід також належить до способів стимулювання імунної відповіді у свині, що охоплюють собою введення рекомбінантної молекули згідно з цим винаходом та (або) вірусної частинки згідно з цим винаходом свині у кількості, ефективній для індукування імунної відповіді.

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, субодиничними 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].

Субодиничні 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 імуноелектропорації. 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

1A. Вставка рекомбінантної молекули нуклеїнової кислоти із зазначенням убівітину та Т-клітинних епітопів.

1B. Вставка ASFDVAC2. Жирним шрифтом вказано амінокислотну послідовність убівітину 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.

1C. Нуклеотидна послідовність MVA-р30+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 р30 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-р54+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 р54, 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.

1E. Нуклеотидна послідовність MVA-р72+A104R (2992 п. о.). У напрямку від 5'-кінця сайт Swal – великими літерами, лівий фланг ТК, промотор MVA 13.5L – жирним і підкресленим шрифтом, послідовність Козака, жирним шрифтом – кодувальна послідовність гена р72, 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

2A. Криві виживання. 2B. Клінічні показники для кожної групи у зазначену добу після зараження (ДПЗ). Білі колонки позначають тварин, які загинули. 2C. Результати аналізу ELISPOT моноклеарних 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

3A. Криві виживання. 3B. Середні показники тяжкості захворювання свиней у різних групах. 3C. Клітинно-опосередкована імунна відповідь у трьох групах лікування. Моноклеарні клітини периферичної крові виділяли зі свиней у зазначену добу після зараження (вісь X: 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 зчитування, які присутні у зазначеній касеті. Експресійна касета переважно містить промоторну послідовність, принаймні одну відкриту рамку зчитування 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-MQIFVKTLTGKITLEVERSDTIENVKAKIQDKEGIPPDQQRILFAGKQLEDGRTLSDYNIQKESTLHLVLRG.

При використанні в цьому документі термін "вірусна частинка" відноситься до інфекційної

вірусної частинки або вірусоподібної частинки, яка аттенуйована та не здатна до автономного поширення. Генوم 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, самореплікувальною РНК. Зазначена самореплікувальна 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

5

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.

10

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.

15

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

Таблиця 1

Амінокислотні послідовності переважних Т-клітинних антигенів

1	TLNLLLSY	11	YTLNHAFTL
2	KTFCKNLPY	12	SMSLNYYFY
3	MSVSTFWPY	13	FINSTDFLY
4	RINRNYYPY	14	YYYGYYYQL
5	ITYLNNMGY	15	AINTFMYYY
6	RTASSAELY	16	YQLDLFTAL
7	ATQQLALNY	17	CIDLGANAF
8	SIITRHLEY	18	FSFGRTLVI
9	KTFSDLSNY	19	SSMDDISAY
10	YRFVWYQPF	20	CIDLGADAF

Переважна 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.

20

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.

25

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		

Переважна 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

30

35

послідовність AKFVAAWTLKAAAARY.

Переважна 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.

Переважна рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти містить нуклеотидну послідовність, представлена на Фіг. 1В.

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 р30, р54, р72, EP402R (рEP402R), A104R (рA104R) та (або) B602L (рB602L) із вірусу африканської чуми свиней. Спеціалісту в цій галузі буде зрозуміло, що термін "білок EP402R" відноситься до рEP402R; термін "білок A104R" відноситься до рA104R; і термін "білок B602L" відноситься до рB602L. 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 фосфопротейну 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 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 потрійних 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-тус (EQKLISEEDL), гемаглютинінову мітку (YPYDVDPYA), 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 комах або клітину ссавця. Придатні клітини комах охоплюють собою, наприклад, клітини яєчників *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 гістоноподібного 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.

5 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 верхнє-респіраторна та легенева інгаляція, сонопорація, хімічні речовини та механічна абразія, а також кінетична/ балістична доставка [Weniger et al., 2018. Vaccine 36: 427-437].

10 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
15 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/
20 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
25 по 100 мс; портативного генератора імпульсів (CUIY21 EDIT; Nera Gene, Ітікава, Японія) і пінцетних електродів (6 імпульсів по 10 мс з вихідним струмом 300-600 мА); генератора імпульсів BTH 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
30 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 (IGEA) з лінійними/ гексагональними
35 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 –
40 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.

45 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,
50 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.

55 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 введення рекомбінантної молекули та (або) вірусної частинки комбінується з введенням вірусної частинки, що містить В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней, переважно – вибрані
60 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 10000000000 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.

5 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 прийнятних 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 поліоксидетильованих формах. Ці олійні розчини або суспензії можуть також містити спирт із довгим ланцюгом у ролі розчинника або диспергатора, або подібний спирт, як описано у *Pharmacopoea Helvetica*.

20 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.

25 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.

30 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 ActA 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.

45 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.

50 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 плазмиду назвали pCVI-ASF DVAC2.

Для дослідження контрольної вакцини використовувались три групи свиней по 6 тварин у кожній. Тварин з групи 1 вакцинували тричі pCVI-ASF DVAC2. 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- γ , 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- γ , 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- γ , 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- γ , проти суміші з нонапептидів. Всі групи продемонстрували значну відповідь клітин, які секретують ІФН- γ , 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 ASFDVAC2 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 ASFDVAC2, 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 потрібної 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 10⁸ TCID50 MVA-VAC2. Тварин із групи 2 вакцинували двічі комбінацією всіх 4 MVA-рекомбінантів, що експресують Т-клітинні епітопи та В-клітинні епітопи (по 10⁸ TCID50 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 днів. 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- γ , 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.

3-1 Sequences

3-1-1	Sequence Number [ID]	1
3-1-2	Length	75
3-1-3	Moltype	AA
3-1-4	Division	PAT

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

3-5-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct
3-5-6	Residues	
	RINRNYYPY	9
3-6	Sequences	
3-6-1	Sequence Number [ID]	6
3-6-2	Length	9
3-6-3	Moltype	AA
3-6-4	Division	PAT
3-6-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct
3-6-6	Residues	
	ITYLNNMGY	9
3-7	Sequences	
3-7-1	Sequence Number [ID]	7
3-7-2	Length	9
3-7-3	Moltype	AA
3-7-4	Division	PAT
3-7-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct
3-7-6	Residues	
	RTASSAELY	9
3-8	Sequences	
3-8-1	Sequence Number [ID]	8
3-8-2	Length	9
3-8-3	Moltype	AA
3-8-4	Division	PAT
3-8-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct
3-8-6	Residues	
	ATQQALALNY	9
3-9	Sequences	
3-9-1	Sequence Number [ID]	9
3-9-2	Length	9
3-9-3	Moltype	AA
3-9-4	Division	PAT
3-9-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9

			note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct
3-9-6	Residues		
	SIITRHLEY		9
3-10	Sequences		
3-10-1	Sequence Number [ID]	10	
3-10-2	Length	9	
3-10-3	Moltype	AA	
3-10-4	Division	PAT	
3-10-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct	
3-10-6	Residues		
	KTFSDLSNY		9
3-11	Sequences		
3-11-1	Sequence Number [ID]	11	
3-11-2	Length	9	
3-11-3	Moltype	AA	
3-11-4	Division	PAT	
3-11-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct	
3-11-6	Residues		
	YRFVWYQPF		9
3-12	Sequences		
3-12-1	Sequence Number [ID]	12	
3-12-2	Length	9	
3-12-3	Moltype	AA	
3-12-4	Division	PAT	
3-12-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = T-cell antigen source 1..9 mol_type = protein 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]	21	
3-21-2	Length	9	
3-21-3	Moltype	AA	
3-21-4	Division	PAT	
3-21-5	Features Location/Qualifiers	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]	22	
3-22-2	Length	5	
3-22-3	Moltype	AA	
3-22-4	Division	PAT	
3-22-5	Features Location/Qualifiers	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]	23	
3-23-2	Length	5	
3-23-3	Moltype	AA	
3-23-4	Division	PAT	
3-23-5	Features Location/Qualifiers	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]	24	
3-24-2	Length	5	
3-24-3	Moltype	AA	
3-24-4	Division	PAT	
3-24-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..5 note = Spacer sequence source 1..5 mol_type = protein organism = synthetic construct	
3-24-6	Residues		
ADARW			5
3-25	Sequences		
3-25-1	Sequence Number [ID]	25	
3-25-2	Length	5	
3-25-3	Moltype	AA	
3-25-4	Division	PAT	
3-25-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..5 note = Spacer sequence source 1..5 mol_type = protein organism = synthetic construct	

3-25-6	Residues			
ADRRY				
3-26	Sequences			
3-26-1	Sequence Number [ID]	26		
3-26-2	Length	5		
3-26-3	Moltype	AA		
3-26-4	Division	PAT		
3-26-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..5 note = Spacer sequence source 1..5 mol_type = protein organism = synthetic construct		
3-26-6	Residues			
ADNQF				
3-27	Sequences			
3-27-1	Sequence Number [ID]	27		
3-27-2	Length	5		
3-27-3	Moltype	AA		
3-27-4	Division	PAT		
3-27-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..5 note = Spacer sequence source 1..5 mol_type = protein organism = synthetic construct		
3-27-6	Residues			
ADRIW				
3-28	Sequences			
3-28-1	Sequence Number [ID]	28		
3-28-2	Length	5		
3-28-3	Moltype	AA		
3-28-4	Division	PAT		
3-28-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..5 note = Spacer sequence source 1..5 mol_type = protein organism = synthetic construct		
3-28-6	Residues			
ADARY				
3-29	Sequences			
3-29-1	Sequence Number [ID]	29		
3-29-2	Length	15		
3-29-3	Moltype	AA		
3-29-4	Division	PAT		
3-29-5	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	
3-29-6	Residues		
	AKXVAAWTLK AAAXC		15
3-30	Sequences		
3-30-1	Sequence Number [ID]	30	
3-30-2	Length	16	
3-30-3	Moltype	AA	
3-30-4	Division	PAT	
3-30-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..16 note = derived from non-natural pan DR epitope (PADRE) source 1..16 mol_type = protein organism = synthetic construct	
3-30-6	Residues		
	AKFVAAWTLK AAAARY		16
3-31	Sequences		
3-31-1	Sequence Number [ID]	31	
3-31-2	Length	10	
3-31-3	Moltype	AA	
3-31-4	Division	PAT	
3-31-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..10 note = c-myc domain tag source 1..10 mol_type = protein organism = synthetic construct	
3-31-6	Residues		
	EQKLISEEDL		10
3-32	Sequences		
3-32-1	Sequence Number [ID]	32	
3-32-2	Length	9	
3-32-3	Moltype	AA	
3-32-4	Division	PAT	
3-32-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..9 note = hemagglutinin tag source 1..9 mol_type = protein organism = synthetic construct	
3-32-6	Residues		
	YPYDVDPDYA		9
3-33	Sequences		
3-33-1	Sequence Number [ID]	33	
3-33-2	Length	1081	
3-33-3	Moltype	DNA	

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

3-34	Sequences	
3-34-1	Sequence Number [ID]	34
3-34-2	Length	338
3-34-3	Moltype	AA
3-34-4	Division	PAT
3-34-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..338 note = Synthetic Construct source 1..338 mol_type = protein organism = synthetic construct
3-34-6	Residues	
	MQIFVKTLTG KTITLEVEPS DTIENVKAKI QDKEGIPPDQ QRLIFAGKQL EDGRTLSDYN	60
	IQKESTLHLV LRLRGAKFVA AWTLKAAAAR YKTLNLLLSY ADARWKTFCK NLPYARYMSV	120
	STFWPYADAR WRINRNYPY ADNQFITYLN NMGYARYRTA SSAELYADRI WATQQLALNY	180
	ADARYSIITR HLEYARYKTF SDLSNYNQFY RFVWYQPFAD RRFMSLNYY FYADAQWFIN	240
	STDFLYRRWA INTFMYYYAD ARWYQLDLFT ALADARWCID LGANAFADAR WSSMDDISAY	300
	ARYCIDLGAD AFAQWYTLNH AFTLADRRYF SFGRTLVI	338

3-35	Sequences	
3-35-1	Sequence Number [ID]	35
3-35-2	Length	338
3-35-3	Moltype	AA
3-35-4	Division	PAT
3-35-5	Features Location/Qualifiers	REGION 1..338 note = Insert of ASFDVAC2

DOMAIN 1..75
 note = ubiquitin
 DOMAIN 76..88
 note = PADRE
 DOMAIN 92..100
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 106..114
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 118..126
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 132..140
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 146..154
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 158..166
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 172..180
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 186..194
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 198..206
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 210..218
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 224..232
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 238..246
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 250..258
 note = T-cell antigen
 DOMAIN 264..272
 note = T-cell antigen
 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	ADARWKTFCK	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
gatgtcttgg	aatcaattac	agataaaaaat	agaaactata	atcatataat	agtgtagggtt	120
ggtagtattg	ctcttgtgac	tagagacttt	agttaaggta	ctgtaaaaat	agaaactata	180
atcatataat	agtgtagggtt	ggtagtaggg	tactcgtgat	taatttttatt	gttaaacttg	240
tccttaagtc	ttgccaccat	ggatttttatt	ttaaataatat	ccatgaaaaat	ggagggtcatc	300
ttcaaaacgg	atttaagatc	atcttcacaa	gtttgtgtttc	atgcgggtag	cttgtataat	360
tggttttctg	ttgagattat	caatagcggg	agaattgtta	cgaccgctat	aaaaacattg	420
ctcagtactg	ttaagtatga	tattgtgaaa	tctgctcata	tatatgcagg	gcaaggggat	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
gtgggtggcg	ggccgcctcg	agaaaaattg	aaaataaata	caaaggttct	tgagggttgt	1020
gttaaattga	aagcgagaaa	taatcataaa	taagccacca	ccgtttgcca	ccatggcaga	1080
atttaatat	gatgagcttc	tcaaaaacgt	attggaggat	ccctctactg	aaatatccga	1140
agaaacgctt	aaacagcttt	atcaaaggac	gaacccttac	aaacagttca	aaaatgatag	1200
cagggtggcc	ttttgctctt	ttacaaat	gcgggagcag	tatatctgac	gtcttataat	1260
gactagcttt	attggatatg	tcttcaaagc	tctgcaggaa	tggtatgcctt	cctattcaaa	1320
acctacccac	acgaccaaaa	ctcttctcag	tgagctaata	acgttagttg	atactttgaa	1380
acaggaaact	aatgatgttc	cctctgaatc	ggtagtaa	acaattttat	ctatagcgga	1440
tagctgcaaa	accagacgc	agaaaagcaa	ggaagctaaa	acaacgatcg	atagcttttt	1500
acgagaacat	tttgtgtttg	atcctaattc	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	tgcaagatac	aatgtaaaca	cttgtgcaag	1800
catgtgtgca	gataccaatg	tagacacctg	tgcaagcacc	tgtgcaaaca	cctgtgcaag	1860
cacagaatac	accgatttag	cagatcctga	gcgcacccct	ttacacatca	tgcaaaaaac	1920
attaaatgtg	cctaagtggc	ttcaggccga	tattgatgca	attacccaaa	ccccacaggg	1980
ctatagggca	gcagcccaca	tattacaaaa	tatagaactt	catcaaagca	ttaaacaatat	2040
gcttgaaaaat	ccgagggcgt	ttaaaccat	tctctttaac	acaaaaatta	ctagatatct	2100
ttcgacagcat	attccacctc	aggatacttt	ctataagtgg	aattattaca	ttgaggataa	2160
ttacgaagag	ttgcggggccg	ctacggaaag	catctaccca	gaaaagcccg	acctagagtt	2220
tgcttcat	atattatgatg	tggtggatag	cagcaaccaa	caaaagggtg	atgaatttta	2280
ttataaatat	aaagaccaga	ttttctcaga	ggtttcatcc	attcaattag	gcaactggac	2340
actcctggga	agctttaagg	ccaacagaga	gcgctacaat	tatttttaatc	aaaataatga	2400
aataataaaa	cggatttttg	accgtcatga	ggaagacctc	aagataggaa	aagagattct	2460

acgaaatacc	atttaccaca	aaaaagcaaa	aatatatacaa	gaaaccgggcc	cggatgctcc	2520
ggggctctcc	atctataatt	caacctttca	cacggatagc	gggattaagg	gactgctttc	2580
ctttaaggag	ctaaaaaacc	tagaaaaagc	atctggaaat	atcaaaaaag	ctcgagagta	2640
tgattttata	gacgactgcg	aagaaaaaat	taagcaactg	cttagtaaag	aaaattttaac	2700
ccccgatgaa	gaaagcgagc	tgataaaaaac	aaaaaaaacag	ttaaataatg	cgcttgaaat	2760
gctcaatgtg	cctgatgata	cgatacgggt	agatatgtgg	gtcaacaata	ataataaact	2820
cgaaaaagaa	attttatata	caaaagcaga	attggactac	aaggaccacg	acggtgacta	2880
caaggaccac	gacatcgact	acaaggacga	cgacgacaag	tgatttttat	aaattttttt	2940
tatgagtatt	tttacaataa	tgtataaagt	gtatgtctta	tgtatatatta	taaaaatgct	3000
aaatatgcga	tgtatctatg	ttatttctcc	gtgataggta	tcgatgaagg	acagttcttt	3060
ccagacattg	ttgaattctg	tgagcgtatg	gcaaacgaat	ttaaata		3106

3-37 Sequences

3-37-1	Sequence Number [ID]	37
3-37-2	Length	3309
3-37-3	Moltype	DNA
3-37-4	Division	PAT
3-37-5	Features Location/Qualifiers	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

atttaaataat	ggacgcatga	taagaataat	tttgaagcat	tggaagcaac	taaactatgt	60
gatgtcttgg	aatcaattac	agataaaaaat	agaaactata	atcatataat	agtgtagggt	120
ggtagtattg	ctcttgtgac	tagagacttt	agttaaggta	ctgtaaaaat	agaaactata	180
atcatataat	agtgtagggt	ggtagtaggg	tactcgtgat	taattttatt	gttaaacttg	240
tccttaagtc	ttgccaccat	ggattctgaa	ttttttcaac	cggttttatcc	gcggcattat	300
ggtgagtgtt	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	tggcggggcca	660
gcggccgcac	ctgcggccgc	gagtgctcat	ccgactgagc	cttacacgac	agtcactact	720
cagaacactg	cttcacaaac	aatgtcggct	attgaaaatt	tacgacaaag	aaacacctat	780
acgcataaag	acctagaaaa	ctccttggac	tacaaggacg	atgacgacaa	gtagtagggt	840
tttatataaa	aaggcgcgcc	ataaaaaattt	ttatactagt	gtaccgcggg	cgaatcgatt	900
taattaacga	tgctagcatt	gtcgacgggtg	gtggcgcggc	cgccctcgaga	aaaattgaaa	960
ataaatacaa	aggttcttga	gggttggtgt	aaattgaaag	cgagaaataa	tcataaataa	1020
gccaccaccg	tttgccacca	tgtgttttaa	aatagtttta	aacaatatta	taatattggag	1080
tactttaaat	caaactgtat	ttttaaataa	tattttttaca	attaatgata	catatggtgg	1140
tctattttgg	aatacatatt	atgataataa	tcgtagtaat	tttacttatt	gtggaatagc	1200
aggaaattat	tgttcattgt	gtggtcataa	catatcattg	tataatacaa	caaataattg	1260
tagtttaatt	atttttccta	acaatacaga	aatattttaat	agaacatatg	aattagttata	1320
tttggaacaa	aaaattaatt	atacagtaaa	actatttaaaa	tctgttgatt	ccccaaactat	1380
tacatataat	tgtactaatt	ctttaataac	atgtaaaaat	aataatggga	caaattgttaa	1440
tatatattta	attattaaca	atacaattgt	taatgatact	aatggagata	tccttaatta	1500
ttatttggaat	ggtaataata	atttttacagc	tacatgtatg	attaataata	caattagttc	1560
attgaatgaa	acagaaaaata	taaattgtac	taatccaata	ttaaaaatata	aaaattatatt	1620
atccacatta	ttttatatca	taatattttat	tgtgagtggg	ttaataatag	gtatatattat	1680
ttcaatcata	tctgtattat	ctatacgaag	aaaaagaaaa	aaacatgttg	aagaaataga	1740

aagtccacca	ccctctgaat	ctaatagaaga	agatattttct	cacgatgaca	ccacttccat	1800
acatgaacca	tctcccagag	aaccattact	tcctaagcct	tacagtcggt	atcagtataa	1860
tacacctatt	tactacatgc	gtccctcaac	acaaccactc	aaccattttc	ccctacctaa	1920
accatgcccg	ccacctaaac	catgtcctcc	acccaagcca	tgcccgccac	ccaaaccatg	1980
tcctccacct	aaaccgtggt	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	gacctgacg	gtgattataa	agatcatgac	atcgactaca	aggatgacga	2280
tgacaagtag	ttttttataa	ttttttttat	gagtattttt	acaaaaatgt	ataaagtgtg	2340
tgtcttatgt	atattttataa	aaatgctaaa	tatgcgatgt	atctatgtta	ttttattttt	2400
tttttttggg	atataaatat	ccggtaaaat	tgaaaaaata	tacactaatt	agcgtctcgt	2460
ttcagacgct	agctcgaggc	caccatgggt	gagccacgcg	aacagttttt	tcaagacctg	2520
ctttcagcag	tggatcaaca	aatggacact	gtaaaaaatg	acataaaaaga	catcatgaaa	2580
gaaaaaacat	cttttatggt	gtcattcgaa	aacttttatag	aacgttacga	taccatggaa	2640
aaaaatattc	aagaccttca	gaataagtag	gaagaaatgg	cggccaacct	tatgaccgtc	2700
atgacggata	caaaaattca	gcttgagacc	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	agttttttaac	accagaaatt	caggccatat	tggatgagca	gtttgcaaac	3000
aagaccggga	tcgaaagatt	gcatgccgag	ggtctttaca	tgtggagaac	ccaattctct	3060
gacgaacaga	agaaaatggt	caaagagatg	atgaagaagg	attacaagga	cgatgacgat	3120
aagtagattg	ttgcaaatat	acagaaatag	aaatattaat	ttttatacta	caatggacaa	3180
cattatgtcg	gccgagtatt	atctatctct	ttatgccaaa	tataattttc	tccgtgatag	3240
gtatcgatga	aggacagttc	tttccagaca	ttgttgaatt	ctgtgagcgt	atggcacaacg	3300
aatttaaat						3309

3-38 Sequences

3-38-1	Sequence Number [ID]	38
3-38-2	Length	2992
3-38-3	Moltype	DNA
3-38-4	Division	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

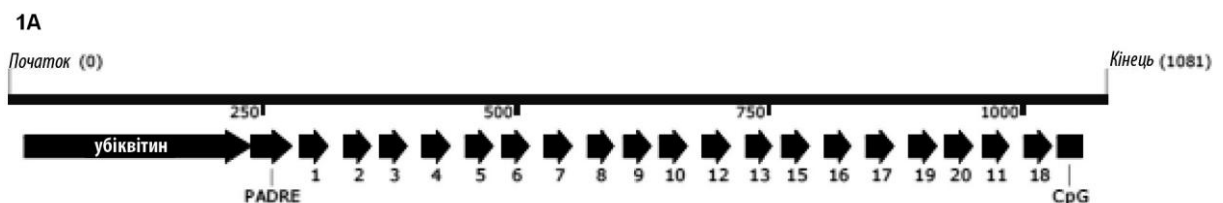
atttaaatat	ggacgcatga	taagaataat	tttgaagcat	tggaagcaac	taaactatgt	60
gatgtcttgg	aatcaattac	agataaaaaat	agaaactata	atcatataat	agtgtagggt	120
ggtagtattg	ctcttgtgac	tagagacttt	agttaaggta	ctgtaaaaat	agaaactata	180
atcatataat	agtgtagggt	ggtagtaggg	tactcgtgat	taatttttatt	gtttaaacttg	240
tccttaagtc	ttgccaccat	ggcatcagga	ggagctttct	gtcttattgc	taacgatggg	300
aaggccgaca	agattatatt	ggcccaagac	ttgcttaata	gcaggatttc	taacattaaa	360
aatgtgaaca	aaagtattg	gaaacccgac	cccgaaccca	ctttgagtca	aatcgaagaa	420
acacatttgg	ttcatttttaa	tgcgcatttt	aagccttatg	ttccagtagg	gtttgaatac	480
aataaaagtag	gcccgcatac	gggtaccccc	accttgggaa	acaagcttac	cttttggtatt	540
ccccagtacg	gagacttttt	ccatgatatg	gtggggccacc	atatattggg	tgcattgtcat	600
tcgtcctggc	aggatgctcc	gattcagggc	acggcccaga	tgggggccca	tggtcagcct	660
caaacgtttc	ctcgcaacgg	atatgactgg	gacaaccaa	cacctttaga	gggcgcggtt	720
tacacgcttg	tagatccctt	tggaagacct	attgtaccgc	gcacaaagaa	tgcgtaccga	780

aacttggttt	actactgcga	ataccccgga	gaacgacttt	atgaaaacgt	aagattcgat	840
gtaaatggaa	attccctgga	cgaatatagt	tcggatgtca	caacgcttgt	gcgcaaattt	900
tgcatcccg	gggataaaat	gactggatat	aagcacttgg	tcggccagga	ggtatcggtg	960
gagggaaacta	gtggccctct	cctatgcaac	attcatgatt	tgacaagcc	gcaccaaagc	1020
aaacctattc	ttaccgatga	aaatgatacg	cagcgaacgt	gcagccatac	caaccgaaa	1080
ttcctttcac	aacattttcc	cgagaactct	cacaatatcc	aaacagcagg	taaacaagat	1140
attactccta	ttacggacgc	aacgtatctg	gacataagac	gtaatgttca	ttacagctgt	1200
aatggacctc	aaaccctaa	atactatcag	ccccctcttg	cgctctggat	taagctgcgc	1260
ttttggttta	acgagaacgt	gaaccttgct	attccctcgg	tatccattcc	cttcggcgag	1320
cgctttatca	ccataaagct	tgcatcgcaa	aaggatttgg	tgaatgaatt	tcctggactc	1380
tttatacgcc	agtcgcgttt	tatacctgga	cgccccagta	gacgcaatat	acgctttaa	1440
ccatgggtta	tcccaggagt	cattaatgaa	atctcgtcga	cgaataatga	actttacatc	1500
aataacctgt	ttgtaacccc	tgaaatacac	aacctgtttg	taaaacgcgt	tcgattttcc	1560
ctgatacggtg	tccataaaaac	gcaggtgacc	cacaccaaca	ataaccacca	cgatgaaaaa	1620
ctaagtgtctg	ctcttaaatg	gcccattgaa	tatatgttta	taggattaaa	acctacctgg	1680
aacatctccg	atcaaaatcc	tcatcaacac	cgagattggc	acaagtccgg	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
gtggggtcta	tcactacggc	tgatcttgtg	gtatcggcat	ctgctattaa	ctttcttctt	2160
cttcagaacg	gttcagctgt	gctgcgttac	agtaccgact	acaagacca	tgacggtgat	2220
tataaagatc	atgacatcga	ctacaaggat	gacgatgaca	agtagtaggt	ttttatataa	2280
aaaggcgcgc	cataaaaatt	tttatactag	tgtaccgcgg	tcgaatcgat	ttaattaacg	2340
atgctagcat	tgtcgacggg	ggtggcgcgg	ccgcctcgag	aaaaattgaa	aataaataca	2400
aaggttcttg	agggtttgtg	taaattgaaa	gcgagaaata	atcataaata	agccaccacc	2460
gtttgccacc	atgtcgacaa	aaaaaaagcc	cacaattacc	aagcaagagc	tttactcctt	2520
agtagcggca	gataccaggt	taaataaagc	attgattgaa	agaatcttta	caagccagca	2580
aaaaataatc	caaaatgctt	taaagcacia	tcaagaagtt	attataccac	ccggaatcaa	2640
gttcaccgtc	gttacagtga	aagctaaacc	tgctcgccag	ggccataacc	ccgcaacagg	2700
agagcctatt	caaattaaag	ccaagcctga	acataaagcc	gtaaagatac	gagcattgaa	2760
acctgttcat	gatatgttaa	atgactacaa	ggatgacgat	gacaagtagt	ttttataaat	2820
tttttttatg	agtattttta	caaaaatgta	taaagtgtat	gtcttatgta	tattttataaa	2880
aatgctaaat	atgcgatgta	tctatgttat	ttctccgtga	taggtatcga	tgaaggacag	2940
ttctttccag	acattgttga	attctgtgag	cgtatggcaa	acgaatttaa	at	2992

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Вакцина, яка містить ефективну імунізуючу кількість рекомбінантної молекули нуклеїнової
- 5 кислоти, яка містить експресійну касету, що кодує поліепітоп, який містить комбінацію всіх Т-клітинних антигенів з SEQ ID NO: 2-14 і 16-21, при цьому вказані Т-клітинні антигени розділені спейсерами, з SEQ ID NO: 22-28, які містять сигнали для протеасомного розщеплення, або вірусну частинку, що містить вказану рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, при цьому
- 10 вказана вакцина додатково містить вірусну частинку, що містить рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, яка експресує В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней р30, р54, р72, EP402R, A104R і B602L, та ветеринарно прийнятний ексципієнт.
2. Вакцина за п. 1, яка **відрізняється** тим, що рекомбінантна молекула нуклеїнової кислоти являє собою рекомбінантну молекулу ДНК.
3. Вакцина за будь-яким із пп. 1-2, яка **відрізняється** тим, що рекомбінантна молекула
- 15 додатково кодує універсальний Т-клітинний епітоп.
4. Вакцина за будь-яким із пп. 1-3, яка **відрізняється** тим, що рекомбінантна молекула додатково містить нуклеотидну послідовність убіквітину.
5. Вакцина за п. 4, яка **відрізняється** тим, що нуклеотидна послідовність убіквітину присутня на 5'-кінці поліепітопу.
- 20 6. Вакцина за п. 4 або 5, яка **відрізняється** тим, що рекомбінантна молекула містить нуклеотидну послідовність з SEQ ID NO: 33.
7. Вакцина за будь-яким з пп. 1-6, яка **відрізняється** тим, що вірусна частинка містить рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, яка додатково містить маркерний білок.
8. Застосування вакцини за будь-яким з пп. 1-7 у виробництві лікарського засобу для стимуляції
- 25 імунної відповіді у свині.
9. Застосування за п. 8, яке **відрізняється** тим, що лікарський засіб призначений для парентерального введення.
10. Застосування за п. 8 або 9, яке **відрізняється** тим, що лікарський засіб призначений для введення 2-4 рази.
- 30 11. Застосування за будь-яким із пп. 8-10, яке **відрізняється** тим, що лікарський засіб додатково містить синтетичні Т-клітинні антигени з білків вірусу африканської чуми свиней.
12. Застосування вакцини за будь-яким з пп. 1-7 у виробництві лікарського засобу для профілактики або послаблення інфекції і/або поширення у свиней вірусу африканської чуми свиней, яке включає введення вакцини щонайменше одній свині.
- 35 13. Набір вірусних частинок, який містить вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу за будь-яким із пп. 1-7, та одну або декілька вірусних частинок, які містять рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, що експресує В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней за п. 1, для застосування у виробництві лікарського засобу для захисту свині від подальшого зараження вірусом африканської чуми свиней.
- 40 14. Набір компонентів, який містить вірусну частинку, яка містить рекомбінантну молекулу за будь-яким із пп. 1-7, та одну або декілька вірусних частинок, які містять рекомбінантну молекулу нуклеїнової кислоти, що експресує В-клітинні антигени вірусу африканської чуми свиней за п. 1.
15. Набір компонентів за п. 14 для застосування у виробництві лікарського засобу для захисту свині від подальшого інфікування вірусом африканської чуми свиней.

45



Фіг. 1

1B

GCTAGCGCCGCCACCATGCAGATTTTCGTGAAGACACTGACCGGGAAGACCATTACCCTGGAAGTCGAGCCATCAGATACCATTGAGAACGTGAAGGC
 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
 AAAGATTTCAGGACAAGGAAGGAATCCCCCAGATCAGCAGAGACTGATTTTCGAGGAAAACAGCTGGAAGACGGGAGAACACTGTGAGATTACAATA
 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
 TCCAGAAGGAGTCAACCTGCACCTGGTGTGAGACTGAGAGGGGCAAAATTCGTGCGAGCCTGGACACTGAAGGCAGCCGAGCCAGATATAAAACC
 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
 CTGAATCTGCTGTGTATACGACGACGAGATGGAAGACATTCTGCAAAAACCTGCCTTATGCAAGATACATGTCAGTGTCAACCTTCTGGCCCTA
 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
 TGCCGACGCCAGATGGAGAATCAACAGAACTACTACCCATACGCAGATAACCAAGTTTATTACATACCTGAACACATGGGATATGCAAGATACAGAA
 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
 CCGCATCATCAGCCGAAGTGTACGACAGACAGATTTGGGCAACACAGCAGCTGGCACTGAAGTATGAGATGCCAGATACTCAATCATTACAAGACAC
 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
 CTGGAGTATGCAAGATACAAGACCTTCTCAGACCTGTCAAATATAATCAGTTCTACAGATTCTGCTGGTACCAGCCCTTCGACAGACAGAGATTCTC
 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
 AATGTCACTGAAGTACTATTTCTACGACGACGCCAGTGGTTCATCAATCAACAGATTTCCTGTACAGAAGATGGGCAATTAACACCTTCATGTACT
 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
 AGATGGTCAATGGAGATATCTCAGCCTATGCAAGATACTGTATTGACCTGGGGCCGATGCATTGCCCAGTGGTACACCCTGAATCAGCATT
 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
 CACACTGGCAGATAGAAGATATTTCTCATTGGAAGAACCCTGGTGTATTGATAATCGTCGTTTGTGCTTTGTGCTTGGTGCATCGATGCAGGCGGC
 T L A D R R Y F S F G R T L V Y * CpG
 CGC

1C

ATTTAAATatggacgcatgataagaataatTTTTgaagcattggaagcaactaaactatgtgatgtcttggaaatcaattacagaTAAAAATAGAAACT
 ATAATCATATAATAGTGTAGGTTGGTAGTATTGCTCTTGTGACTAGAGACTTTAGTTAAGGTACTGTAAAAATAGAAACTATAATCATATAATAGTG
 TAGGTTGGTAGTAGGTTACTCGTGATTAATTTTATTGTTAACTTGTCTTAAAGTCTTGCCACCATGGATTTTATTTTAAATATATCCATGAAAAATG
 GAGGTCACTTTCAAACGGATTTAAGATCATCTTCAAGTTGTGTTTCATGCGGGTAGCTTGATAATTGGTTTTCTGTTGAGATTATCAATAGCG
 GTAGAATTGTTACGACCGCTATAAAAAACATTGCTCAGTACTGTTAAGTATGATATTGTGAAATCTGCTCATATATATGCAGGGCAAGGGTATACTGA
 ACATCAGGCTCAAGAAGAAATGGAATATGATTCTGCATGTGCTGTTTGAAGAGGAGACAGAAATCCTCAGCATCATCGGAAAGCATTTCATGAAAAAAT
 GATAATGAAACCAATGAATGCACATCCTCCTTTGAAACATTGTTTGAGCAAGAGCCCTCATCAGAGGAACCTAAAGACTCCAAGCTGTATATGCTTG
 CACAAAAGACTGTGCAACATATTGAACAATATGGAAGGCACCTGATTTTAAACAGGTTATTAGAGCACATAACTTTATTCAAACCATTCATGGAAC
 CCCTCTAAAGGAAGAAGAAAAAGAGGTGGTAAGACTCATGGTCATTAACTTTTAAAAAAGGATTACAAGGACGATGACGATAAGTAGTAGGTT
 TTTATATAAAAAAGGCGCGCCATAAAAAATTTTATACTAGTGTACCGCGGTGCAATCGATTTAATTAACGATGCTAGCATTGTGACGGTGGTGGCGC
 GGCCGCctcgagaaaaattgaaaaataatacaagggttcttgagggttggttaaatgaaagcgagaaataatcataaataagccaccaccgtttg
 ccaccATGGCAGAATTTAATATTGATGAGCTTCTCAAAAACGATTGGAGGATCCCTCTACTGAAATATCCGAAGAAACGCTTAAACAGCTTTATCA
 AAGGACGAACCCCTTACAACAGTTCAAAAATGATAGCAGGGTGGCCTTTTGCTCTTTTACAAATTTGCGGGAGCAGTATATTGACGCTTTATAATG
 ACTAGCTTTATTGGATATGTCTTCAAAGCTCTGCAGGAATGGATGCCTTCCATTCAAACCTACCCACACGACCAAACTCTTCTCAGTGAGCTAA
 TAACGTTAGTTGATACTTTGAAACAGGAACTAATGATGTTCCCTCTGAATCGGTAGTAAATACAATTTTATCTATAGCGGATAGCTGCAAAACCCA
 GACGCAGAAAAGCAAGGAAGCTAAAACAACGATCGATAGCTTTTACGAGAACATTTTGTGTTTGATCCTAATCTTCATGCTCAAAGTGCCTATACT
 TGTGCAAGCACTTGTGCAGATACCAATGTAGACACCTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCACTTGTGCAAGCAG
 GTGCAAGCACTTGTGCAGATACCAATGTAGACACCTGTGCAAGCACTTGTGCAGATACCAATGTAGACACCTGTGCAAGCACTTGTGCAGATACCA
 TGTAGACACCTGTGCAAGCACTTGTGCAGATACCAATGTAAACACTTGTGCAAGCATGTGTGCAGATACCAATGTAGACACCTGTGCAAGCACTGT
 GCAAACACCTGTGCAAGCAGAAATACACCGATTAGCAGATCCTGAGCGCATCCCTTTACACATCATGCAAAAAACATTAAATGTGCCTAATGAGC
 TTCAGGCCGATATTGATGCAATTACCCAAACCCACAGGGCTATAGGGCAGCAGCCACATATTACAAAATATAGAAGTTTCATCAAGCATTAACA
 TATGCTTGAAAAATCCGAGGGCGTTTAAACCATTTCTTTAAACACAAAAATTAAGTATATCTTTCGAGCATATTCCACCTCAGGATATTTCTAT
 AAGTGAATTATTACATTGAGGATAATTACGAAGAGTTGCGGGCCGCTACGGAAGCATCTACCCAGAAAGCCCGACCTAGAGTTTGCCTTCATTA

Фіг. 1 продовження

TTTATGATGTGGTGGATAGCAGCAACCAACAAAAGGTTGATGAATTTTATTATAAATATAAAGACCAGATTTTCTCAGAGGTTTCATCCAT
 TCAATTAGGCAACTGGACACTCCTGGGAAGCTTTAAGGCCAACAGAGAGCGCTACAATTTATTTAATCAAAATAATGAAATAATAAACGGATTTTGG
 ACCGTCATGAGGAAGACCTAAAGATAGGAAAAGAGATTCTACGAAATACCATTACACAAAAAGCAAAAAATATACAAGAAACCGCCGGATGCT
 CCGGGGCTCTCCATCTATAATTCAACCTTTCACACGGATAGCGGGATTAAGGGACTGCTTCTTTAAGGAGCTAAAAAACCTAGAAAAAGCATCTGG
 AAATATCAAAAAAGCTCGAGAGTATGATTTTATAGACGACTGCGAAGAAAAAATTAAGCAACTGCTTAGTAAAGAAAAATTAACCCCGATGAAGAAA
 GCGAGCTGATAAAAAACAAAAAACAGTTAAATAATGCGCTTGAAATGCTCAATGTGCCTGATGATACGATACGGGTAGATATGTGGGTCAACAATAAT
 AATAAACTCGAAAAAGAAATTTTATATACAAAAGCAGAATTGGACTACAAGGACCACGACGGTACTACAAGGACCACGACATCGACTACAAGGACGA
CGACGACAAGTGATTTTATAAATTTTATGAGTATTTTACAAAAATGTATAAGTGTATGCTTATGTATATTTATAAAATGCTAAATATGC
 GATGTATCTATGTTAAttctccgtgataggtatcgatgaaggacagttctttccagacattgttgaaattctgtgagcgatggcaaacgaATTTAAAT

1D

ATTTAAATatggacgcatgataagaataatTTTgaagcattggaagcaactaaactatgtgatgtcttggaaatcaattacagaTAAAAATAGAACTA
 TAATCATATAATAGTGTAGGTTGGTAGTATTGCTCTTGCTGACTAGAGACTTTAGTTAAGGTACTGTAAAAATAGAACTATAATCATATAATAGTGT
 GGTGGTAGTAGGTTACTCGTGATTAATTTTATTGTTAACTTGCTCTTAAGTCTTGCCACCATGGATTCTGAATTTTTTCAACCGGTTATCCGCGG
 CATTATGGTGAGTGTGTCACCAAGTCACCCACCAAGCTTCTTCCACACATATGTATATCTCATTGCTATCGTGGTCTTAGTCATTATTAT
 CATCGTTCTAATCTATCTATCTCTTCAAGAAAGAAAAAGCTGCTGCCGCTATTGAGGAGGAAGATATACAGTTTATAAATCCTTATCAAGATCAGC
 AATGGGCAGAAGTCACTCCACAACCAAGTACCTCTAAACCGCTGGAGCGACTACAGCAAGTGCAGGCAACCAAGTCACGGGCAGACCGGCAACAAAC
 AGACCAGCAACAAACCAACAGTACCGGCAACCAAGTACGGACAGACTAGTCATGGCAACTGGCGGGCCAGCGGCCGACCTGCGGCCGCGAGTGC
 TCATCCGACTGAGCCTTACACGACAGTCACTACTCAGAACACTGCTTACAAACAAATGTGCGCTATTGAAAATTTACGACAAAGAAACACCTATACGC
 ATAAGACCTAGAACTCCTTGACTACAAGGACGATGACGACAAGTAGTAGGTTTTTATATAAAAGGCGCGCCATAAAATTTTTTATACTAGTGT
 ACCGCGGTCGAATCGATTAAATTAACGATGCTAGCATTGTGCGCGTGGTGGCGCGGCCGCTCGAGAAAAATTGAAAATAAATCAAGGTTCTTGA
 GGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATAAGCCACCACCGTTTGCCACCATGTGTTTAAAAATAGTTTAAACAATATTATAATATGG

Фіг. 1 продовження

AGTACTTTAAATCAAACTGTATTTTAAATAATATTTTACAATTAATGATACATATGGTGGTCTATTTTGAATACATATTATGATAATAATCGTAG
 TAATTTTACTTATTGTGGAATAGCAGGAAATATTGTTTCATGTTGTGGTCATAACATATCATTTGTATAATACAACAAATAATTGTAGTTTAATTTATTT
 TTCTTAACAATACAGAAATATTTAATAGAACATATGAATTAGTATATTTGGACAAAAAATTAATTATACAGTAAACTATTAAATCTGTTGATTCC
 CCAACTATTACATATAATTTGACTAATCTTTAATAACATGTAAAAATAATAATGGGACAAATGTTAATATATATTAAATTATTAACAATACAATTGT
 TAATGATACTAATGGAGATATCCTTAATTATTATTGGAATGGTAATAATAATTTTACAGCTACATGTATGATTAAATAACAATTAGTTTCATTGAATG
 AAACAGAAAAATATAAATTGTACTAATCCAATATTAAAAATCAAAATTTATCCACATTATTTTATATCATAATaTTTATTGTGAGTGGATTAATA
 ATAGGTATaTTTATTCAATCATATCTGTATTATCTATACGAAGAAAAAGAAAAAACATGTTGAAGAAATAGAAAGTCCACCACCTCTGAATCTAA
 TGAAGAAGATATTTCTCAGGATGACACCACTTCCATACATGAACCATCTCCAGAGAACCATTACTTCTAAGCCTTACAGTCTGTATCAGTATAATA
 CACCTATTTACTACATGCGTCCCTCAACACAACCACTCAACCCATTTCCTTACCTAAACCATGCCCCCACCTAAACCATGTCTCCACCCCAAGCCA
 TGCCCCGCCACCCAAACCATGTCTCCACCTAAACCGTGTCTCCACCCAAACCGTGTCTCCACCTAAACCATGTCTCCACCTAAACCATGTCTCC
 ACCTAAACCATGTCTCCACCTAAACCATGTCTCCATCCAAACCATGTCTCCACCTGAATCCTATTCTCCACCCAAACCACTACCTAGTATCCCGT
 TACTACCCAATATCCCGCCATTATCTACACAAAATATTTGCTTATTCTAGTAGATAGAATTATTGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGAT
 CATGACATCGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAGTTTTTATAAATTTTTTTTATGAGTATTTTACAAAAATGTATAAAGTGTATGCTTATGTAT
 ATTTATAAAATGCTAAATATGCGATGTATCTATGTTATTTTATTTTGTGGAATATAAATATCCGGTAAAAATTGAAAAAATATACACTAATT
 AGCGTCTCGTTTCAGACGCTAGCTCGAGGCCACCATGGTTGAGCCACGCGAACAGTTTTTCAAGACCTGCTTTCAGCAGTGATCAACAAATGGACA
 CTGTAAAAATGACATAAAAGACATCATGAAAGAAAAACATCTTTATGGTGTCTTCGAAAACCTTTATAGAAGCTTACGATACCATGGAAAAAAT
 ATTCAAGACCTTCAGAATAAGTACGAAGAAATGGCGGCAACCTTATGACCGTCATGACGGATACAAAAATTCAGCTTGGAGCCATTATCGCCCACT
 TGAGATTCTGATGATAAATGGCACTCCACTTCCGGCAAAAAAACACGATTAAGGAGGCTATGCCCTACCTTCATCAAACACGAACAAATGATCAAA
 CGAGTCTCCCGCTCAGGCAAAACAGTGAACACCTAAAAAAATCCACGAATGCAATGTTCTTCACGCGTAGCGAATGGGCATCTCTGAAAACCT
 TTTCGAGAAAAGTTTTTAACACCAGAAATTCAGGCCATATTGGATGAGCAGTTTGCAACAAGACCGGGATCGAAAGATTGCATGCCGAGGGTCTTTA
 CATGTGGAGAACCCTAATTTCTCTGACGAACAGAGAAATGGTCAAGAGATGATGAAGAAGGATTACAAGGACGATGACGATAAGTAGATTGTTGCAA
 ATATACAGAAATAGAAATATTAATTTTATACTACAATGGACAACATTATGTCGGCCGAGTATTATCTATCTTTATGCCAAATATAATtttctccg
 tgataggtatcgatgaaggacagttctttccagacattgttgaaattctgtgagcgatggcaaacgaATTTAAAT

Фіг. 1 продовження

1E

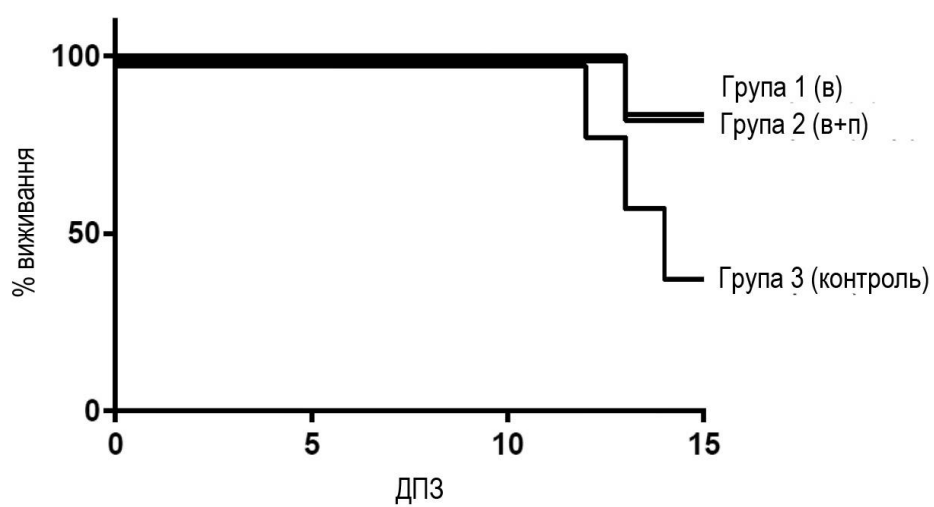
ATTTAAATatggacgcatgataagaataatTTTgaagcattggaagcaactaaactatgtgatgtcttggaaatcaattacagaTAAAAATAGAACTA
TAATCATATAATAGTGTAGGTTGGTAGTATTGCTCTTGTGACTAGAGACTTTAGTTAAGGTACTGTAAAAATAGAACTATAATCATATAATAGTGT
GGTTGGTAGTAGGGTACTCGTGATTAATTTTATTGTTAAACTTGTCTTAAGTCTTGCCACCATGGCATCAGGAGGAGCTTTcTGTCTTATTGCTAAC
GATGGGAAGGCCGACAAGATTATATGGCCCAAGACTTGCTTAATAGCAGGATTTCTAACATTAAAAATGTGAACAAAAGTTATGGGAACCCGACCC
CGAACCCACTTTGAGTCAAATCGAAGAAACACATTTGGTTCATTTTAAATGCGCATTTTAAAGCCTTATGTTCCAGTAGGGTTTGAATACAATAAAGTAC
GCCCCATACGGGTACCCACCTTGGGAAACAAGCTTACCTTTGGTATTCCCCAGTACGGAGACTTTTCCATGATATGGTGGGCCACCATATATTG
GGTGCATGTCTTCGTCTTGGCAGGATGCTCCGATTAGGGGACGGCCAGATGGGGGCCCATGGTCAGCTTCAAACGTTTCTCGCAACGGATATGA
CTGGGACAACCAAACCTTTAGAGGGCGCCGTTTACACGCTTGTAGATCCCTTTGGAAGACCTATTGTACCCGGCACAAAGAATGCGTACCGAACT
TGGTTTACTACTGCGAATACCCCGGAGAACGACTTTATGAAAACTGAAGATTCGATGTAATGGAAATTCCTTGGACGAATATAGTTCGGATGTCACA
ACGCTTGTGCGCAAAATTTTGCATCCCGAGGGGATAAAATGACTGGATATAAGCACTTGGTCGGCCAGGAGGTATCGGTGGAGGGAACTAGTGGCCCTCT
CCTATGCAACATTTCATGATTGTCACAAGCCGACCAAGCAAAACCTATTCTTACCGATGAAATGATACGCAAGCAAGCTGCAGCCATACCAACCCGA
AATTCCTTTTACAACATTTTCCCGAGAACTCTCAATATCCAAACAGCAGGTAAACAAGATATTACTCCTATTACGGACGCAACGTATCTGGACATA
AGACGTAATGTTTCATTACAGCTGTAATGACCTCAAACCCCTAAATACTATCAGCCCCCTCTTGGCTCTGGATTAAGCTGCGCTTTTGGTTTAACTGA
GAACGTGAACCTTGCTATTCCCTCGGTATCCATTCCCTTGGCGAGCGCTTTATACCATAAAGCTTGCATCGCAAAGGATTTGGTGAATGAATTTT
CTGGACTcTTTATACGCCAGTCGCGTTTTATACCTGGACGCCCCAGTAGACGCAATATACGCTTTAAACCATGGTTTATCCAGGAGTCATTAATGAA
ATCTCGCTCAGGAATAATGAACTTTACATCAATAACCTGTTTGTAAACCCCTGAAATACACAACCTgTTTGTAAAACGCGTTTCGATTTTCCCTGATACG
TGTCATAAAACGCAAGGTGACCCACCAACAATAACCAACAGCATGAAAACTAATGTCTGCTCTTAAATGGCCCATGGAATATATGTTTATAGGAT
TAAACCTACCTGGAACATCTCGATCAAAATCCTCATCAACACCGAGATTGGCACAAGTTTCGACATGTTGTTAAACGCCATTATGCAGCCTACTCAC
CACGCAGAGATAAGCTTTCAGGATAGAGATACAGCTCTTCCAGACGCATGTTCTATATATCGATATAGCCCCGTTACGTATCCGATCACATTACC
TATTATTAAAAACATTTCCGTAACCTGCTCATGGTATCAATCTTATCGATAAGTTTCCATCAAAGTTCTGCAGCTCTTACATACCCCTTCCACTACGGAG
GCAATGCAATTAAACCCCCGATGATCCGGGTGCGATGATGATTACCTTTGCTTTGAAGCCACGGGAGGAATACCAACCCAGTGGTCATATTAACGTA
TCCAGAGCAAGAGAATTTTATATTAGTTGGGACACGGATTACGTGGGGTCTATCACTACGGCTGATCTTGTGGTATCGGCATCTGCTATTAACCTTCT

Фіг. 1 продовження

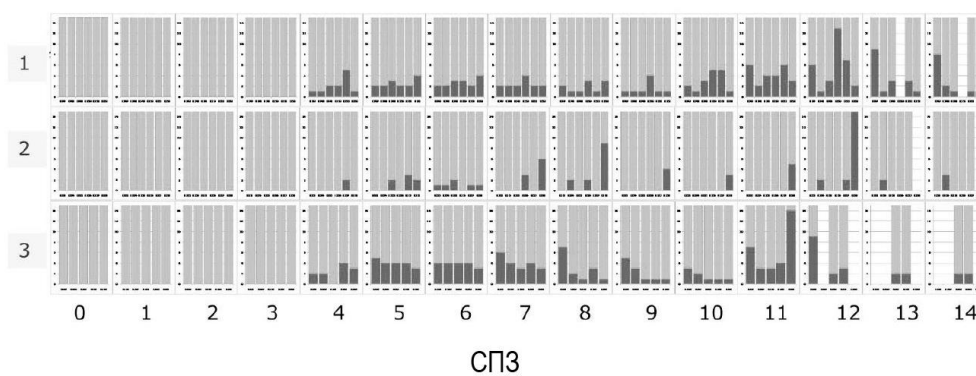
TCTTCTTCAGAACGGTTAGCTGTGCTGCGTTACAGTACCGACTACAAAGACCATGACGGTGATTATAAAGATCATGACATCGACTACAAGGATGACG
ATGACAAGTAGTAGGTTTTATATATAAAAGGCGCGCCATAAAAAATTTTATACTAGTGTACCGCGTCAATCGATTTAATTAACGATGCTAGCATTG
TCGACGGTGGTGGCGCGGCCGCCTCGAGAAAAATTGAAAAATAAATACAAAGGTTCTTGAGGGTTGTGTTAAATTGAAAGCGAGAAATAATCATAAATA
AGCCACCACCGTTTGCCACCATGTCGACAAAAAAAGCCCAATTACCAAGCAAGAGCTTTACTCCTTAGTAGCGGCAGATACCCAGTTAAATAAA
GCATTGATTGAAAGAATCTTTACAAGCCAGCAAAAAATAATCCAAATGCTTTAAAGCACAATCAAGAAGTTATTATACCACCCGGAATCAAGTTCAC
CGTCGTTACAGTGAAAGCTAAACCTGCTCGCCAGGGCCATAACCCCGCAACAGGAGAGCCTATTCAAATTAAGCCAAGCCTGAACATAAAGCCGTAA
AGATACGAGCATTTGAAACCTGTTTCATGATATGTTAAATGACTACAAGGATGACGATGACAAGTAGTTTTTATAAAATTTTTTTATGAGTATTTTTACA
AAAAATGTATAAAGTGTATGCTTATGTATATTTATAAAAAATGCTAAATATGCGATGTATCTATGTTATtctccgtgataggtatcgatgaaggacag
ttctttccagacattgttgtaattctgtgagcgtatggcaacgaATTTAAAT

Фіг. 1 продовження

2A

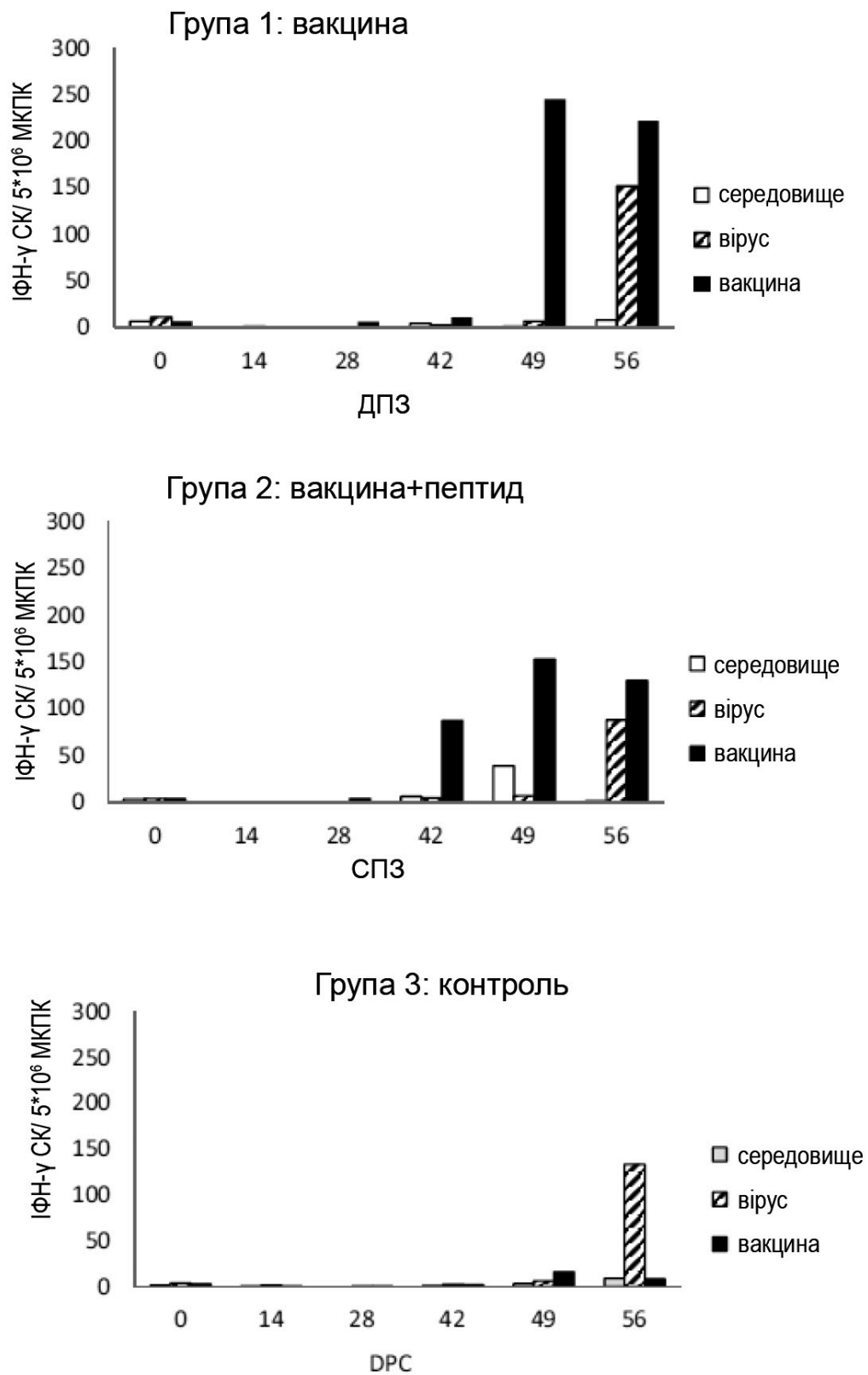


В



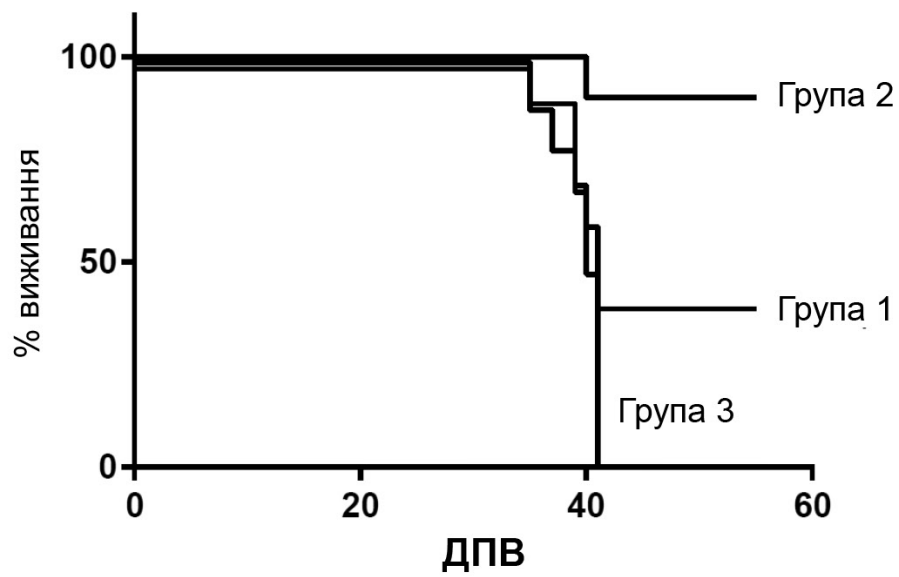
Фіг. 2

С



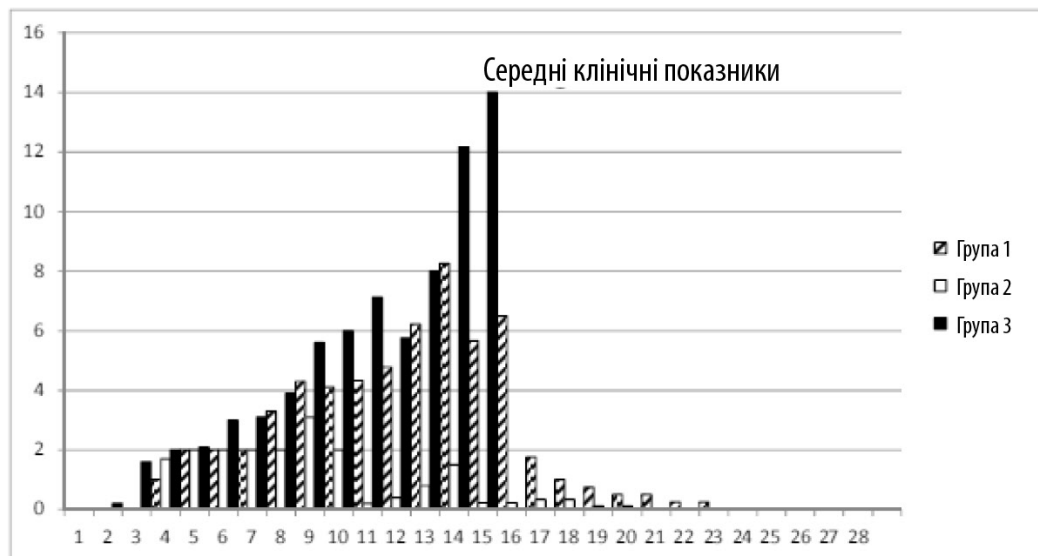
Фіг. 2 продовження

А



В

Тяжкість захворювання

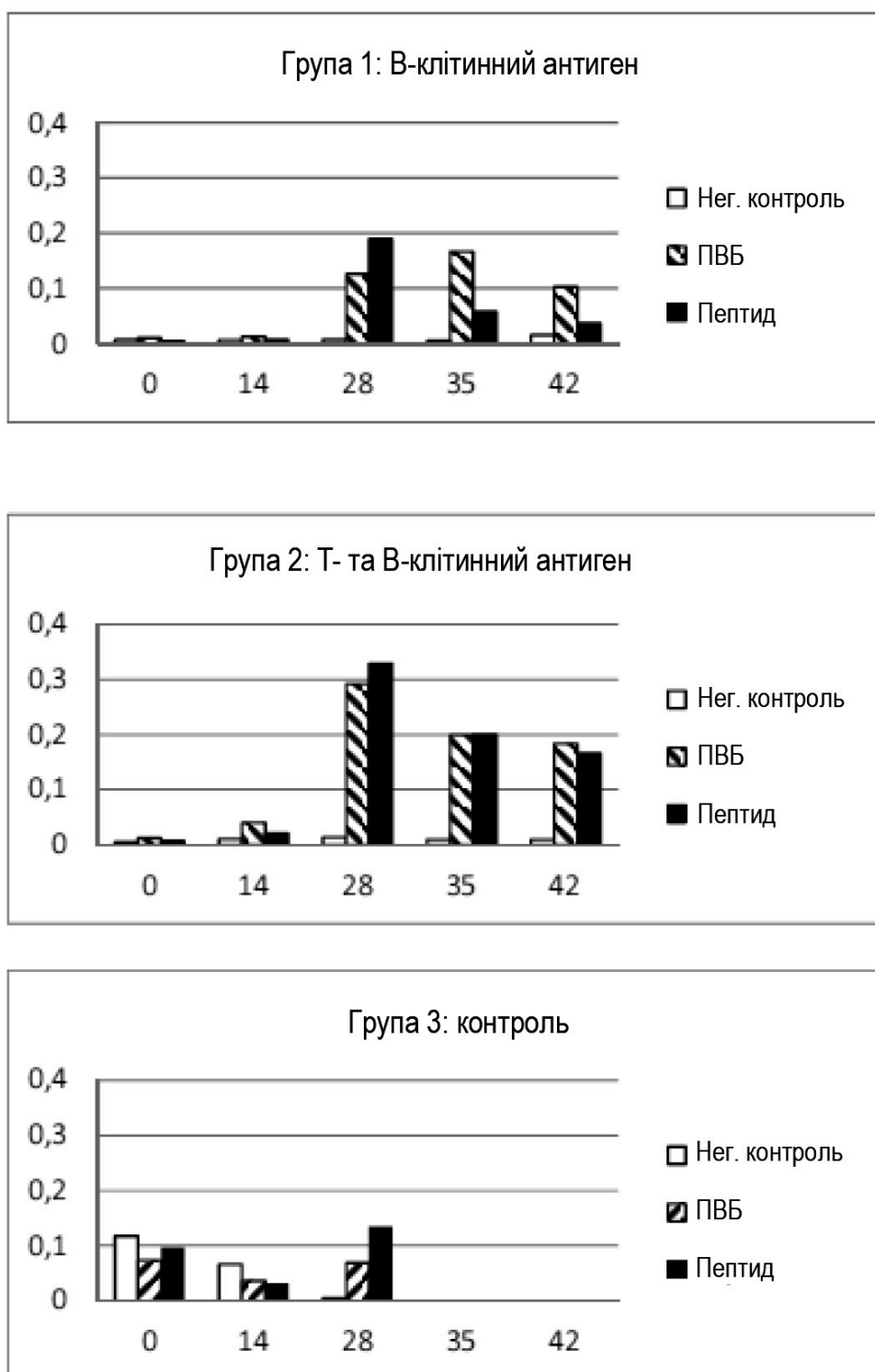


Середній показник тяжкості захворювання на групу ДПЗ

Фіг. 3

C

KOI-відповідь (ФФН-у за ELISPOT)



Фіг. 3 продовження