



MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3390430 (13) T2

(51) Int. Cl.:C07K 14/16 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2018 1009 (22) Data de depozit: 2016.12.15 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 16822410.3, 2016.12.15 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3390430, 2019.08.28 (31) Numărul cererii prioritare: 15200138; 16194124 (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2015.12.15; 2016.10.17 (33) Țara cererii prioritare: EP; EP	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 12/2019, 2019.12.31 (80) Data publicării mențiunii eliberării de către OEB: EPB nr. 35/2019, 2019.08.28 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 11/2018, 2018.11.30
(71) Solicitant: Janssen Vaccines & Prevention B.V., NL (72) Inventatori: LANGEDIJK Johannes Petrus Maria, NL; CALLENDRET Benoit Christophe Stephan, NL; VAN MANEN Danielle, NL; KRARUP Anders, NL; STITZ Jorn, NL; WEGMANN Frank, NL; VELLINGA Jort, NL (73) Titular: Janssen Vaccines & Prevention B.V., NL (74) Mandatar autorizat: MARGINE Ion	

(54) Antigenele virusului imunodeficienței umane, vectori, compoziții și metode de utilizare ale acestora

(57) Rezumat:

1

Sunt descrise proteine a anvelopei HIV sintetice, vectori și compoziții ale acestora și metode pentru inducerea imunității protectoare împotriva infecției cu virusul imunodeficienței umane (HIV). Vectorii de expresie virală care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice pot fi folosiți în vaccinuri pentru a oferi o

2

imunitate de protecție îmbunătățită împotriva HIV.

Secvențe: 37

Revendicări: 15

Figuri: 7

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

(54) Human immunodeficiency virus antigens, vectors, compositions, and methods of use thereof

(57) Abstract:

1
Synthetic HIV envelope proteins, vectors and compositions thereof, and methods for inducing protective immunity against human immunodeficiency virus (HIV) infection are described. Viral expression vectors encoding the synthetic HIV envelope

2
proteins can be used in vaccines to provide improved protective immunity against HIV.

Sequences: 37

Claims: 15

Fig.: 7

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)****STADIUL TEHNICII DIN DOMENIUL INVENȚIEI**

5 Virusul imunodeficienței umane (HIV) afectează milioane de oameni în întreaga lume, iar prevenirea HIV printr-un vaccin eficient rămâne o prioritate majoră, chiar și într-o eră a tratamentului antiretroviral. HIV-1 este cea mai frecventă și patogenă tulpină a virusului, cu peste 90% din cazurile de HIV/SIDA derivând din infecția cu grupul HIV-1 M. Grupul M este împărțit în continuare în grupuri monofiletice – clade - sau subtipuri. În mod ideal, un vaccin eficient ar fi capabil să provoace atât răspunsuri celulare potențiale, cât și anticorpi neutralizanți, capabili să neutralizeze tulpinile HIV-1 de la diferite grupuri monofiletice.

10 Variabilitatea genetică ridicată a HIV-1 face ca dezvoltarea unui vaccin anti-HIV să fie o provocare fără precedent. Pentru a îmbunătăți acoperirea potențialilor epitopi de celule T și pentru a îmbunătăți răspunsurile celulare, antigene HIV-1 Gag, Pol și Env, "mozaic" derivate din proteinele grupului de antigene HIV (Gig), Polimerază (Pol) și Envelope-Anvelopă (Env), au fost descrise de alții și dezvoltate în încercarea de a oferi o acoperire maximă a epitopilor potențiali ai celulelor T (de exemplu Barouch și colab., Nat Med 2010, 16: 319-323). Antigenele mozaic sunt similare ca lungime și structură de domeniu cu cele de tip sălbatic, care apar în mod natural cu HIV-1.

20 De exemplu, antigenele HIV mozaic descrise și utilizate în vaccinuri includ cele descrise în Barouch și colab., *supra*, și publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2010/059732 cum sunt:

- (a) Antigene Gag mozaic, incluzând:
 - 25 (a)(i) o primă secvență de Gag mozaic ("mos1Gag") având secvența de aminoacizi așa cum este prezentată în conținut în SECV ID NR: 1 și
 - (a)(ii) o a doua secvență de Gag mozaic ("mos2Gag") având secvența de aminoacizi așa cum este prezentată în conținut în SECV ID NR: 2;
- (b) Antigene Pol mozaic, incluzând:
 - 30 (b)(i) o primă secvență de Pol mozaic ("mos1Pol") având secvența de aminoacizi așa cum este prezentată în conținut în SECV ID NR: 3 și
 - (b)(ii) o a doua secvență Pol mozaic ("mos2Pol") având secvența de aminoacizi așa cum este prezentată în conținut în SECV ID NR: 4; și
- (c) Antigene Env mozaic, incluzând:
 - 35 (c)(i) o primă secvență de Env mozaic ("mos1Env") având secvența de aminoacizi așa cum este prezentată în conținut în SECV ID NR: 5 și
 - (c)(ii) o a doua secvență de Env mozaic ("mos2Env") având secvența de aminoacizi așa cum este prezentată în conținut în SECV ID NR: 6.

40 Secvențele care codifică aceste antigene au fost clonate în vectori, de exemplu, cum ar fi vectori adenovirali recombinanți, de exemplu, serotipul adenovirus recombinant 26 (rAd26), iar acești vectori recombinanți au fost utilizați anterior ca vaccinuri pentru a genera răspunsuri imune la antigene (vezi, de exemplu, Barouch și colab., *supra*; și publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2010/059732). De exemplu, secvențele de antigen mozaic mos1Gag și mos1Pol sunt de obicei combinate într-o proteină de fuziune a Gag și Pol ("mos1GagPol"), a cărei secvență de codare este clonată într-un prim vector Ad26 ("rAd26.mos1GagPol"); și secvențele de antigen mos2Gag și mos2Pol sunt combinate într-o altă proteină de fuziune a Gag și Pol ("mos2GagPol"), a cărei secvență de codare este clonată într-un al doilea vector Ad26 ("rAd26.mos2GagPol"). Constructele care codifică mos1Env și mos2Env sunt în mod obișnuit clonate în vectorii Ad26 separați ("rAd26.mos1Env" și, respectiv, "rAd26.mos2Env").

50 Un set de astfel de antigene mozaic descrise mai sus oferă o acoperire globală bună a izolatelor de grup M HIV-1, în care vectori rAd26 care codifică secvențe de antigen mozaic 1 (de exemplu, rAd26.mos1GagPol și rAd26.mos1Env) favorizează subtipurile grupului B și CRF01 HIV-1, și vectori rAd26 care codifică secvențele de antigen mozaic 2 (de exemplu, rAd26.mos2GagPol și rAd26.mos2Env) favorizează tulpinile grupului C. Antigene mozaic HIV-1 Gag, Pol și Env, exprimate în vectori rAd26, pot fi utilizate pentru a îmbunătăți atât lățimea cât și profunzimea răspunsurilor limfocitelor T specifice antigenului în maimuțele rhesus, fără a compromite mărimea răspunsurilor atât celulare cât și umoare în comparație cu consens sau secvență naturală de antigene HIV-1 (Barouch și colab., *supra*; și publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2010/059732).

60 Cu toate acestea, în urma eforturilor de dezvoltare ulterioară pe componentele vaccinului descrise mai sus, s-a constatat că rAd26.mos2Env a arătat o expresie non-optimală a suprafeței

celulare și un răspuns imun la primarele non-umane, dar, de asemenea, a afișat o genetică non-raportată, neașteptată și imprezvizibilă, stabilitate non-optimală în timpul procesului de fabricație în comparație cu ceilalți vectori rAd26, cum ar fi rAd26.mos1Env. Astfel, vaccinurile care conțin rAd26.mos2Env pot avea ca rezultat răspunsuri imunitare non-optime împotriva subtipurilor grupului C HIV-1, deoarece antigenul mozaic mos2Env favorizează tulpinile grupului C HIV-1. În consecință, este nevoie de o alternativă la antigenul mos2Env la vaccinurile împotriva HIV, care poate fi utilizată pentru a induce răspunsuri imunitare îmbunătățite împotriva grupului C HIV-1.

EXPUNEREA PE SCURT A INVENȚIEI

Invenția se referă la proteinele anvelopei virusului imunodeficienței umane (HIV) sintetic care au îmbunătățit exprimarea suprafeței celulare și stabilitatea genetică în comparație cu antigenul mos2Env descris anterior. Invenția se referă, de asemenea, la compoziții și metode de utilizare a unor astfel de noi proteine ale anvelopei HIV sintetice și/sau secvențe de codificare ale acestora pentru a induce răspunsuri imune crescute împotriva HIV-1, în special grupul C HIV-1, de preferință atunci când sunt utilizate în combinație cu alte antigene HIV.

Intr-un aspect general, invenția se referă la un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul format din (i) I529P (adică o înlocuire a lui Ile cu Pro la poziția 529 din SECV ID NR: 8), (ii) K480E (adică, o substituție a lui Lys cu Glu la poziția 480 din SECV ID NR: 8) și (iii) a combinație de EK479-480RRRR (adică o înlocuire a Glu-Lys la pozițiile 479-480 din SECV ID NR: 8 cu patru reziduuri Arg consecutive), I529P, A471C (adică, o substituție de Ala cu Cys la poziția 471 din SECV ID NR: 8) și T575C (adică, o substituție a lui Thr la Cys la poziția 575 din SECV ID NR: 8). Într-o realizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde suplimentar o secvență de semnal, de exemplu o secvență de semnal având secvența de aminoacizi aleasă din grupul constând din SECV ID NR: 9-12. Într-o realizare, secvența de semnal are secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 9.

În anumite realizări, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un domeniu transmembranar, de preferință un domeniu transmembranar având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 13.

În anumite realizări, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un fragment dintr-un domeniu citoplasmatic, de preferință un fragment al unui domeniu citoplasmatic cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 14 sau aminoacizii 1-4 ai acestora (adică NRVR). În realizări în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un domeniu transmembranar și un fragment dintr-un domeniu citoplasmatic, este de preferat ca proteina să cuprindă și secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 37, care este fuzionată la capătul carboxil terminal (C-terminal) din SECV ID NR: 8 și capătul amino terminal (N-terminal) al regiunii transmembranare.

Intr-o altă realizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde un domeniu de trimerizare, de exemplu, un domeniu de trimerizare cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 15 (GCN4) sau SECV ID NR: 16 (domeniu foldon). Într-o realizare preferată, domeniul de trimerizare cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 15. Astfel de realizări cu domenii de trimerizare sunt utile pentru proteine ale anvelopei HIV sintetice solubile (care nu sunt legate de membrană) bazate pe secvențele de ectodomeniu furnizate în conținut aceea care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8, în care domeniul de trimerizare este situat la capătul C terminal al proteinei sintetice de tip HIV.

În alte realizări, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde SECV ID NR: 8 cu următoarele mutații: EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C. Introducerea a 6 reziduuri consecutive de arginină (pozițiile 478 și 481 în secvența nativă a SECV ID NR: 8 sunt deja reziduuri Arg) duce la un loc de clivaj al furinei, optimizat, astfel încât să se obțină un ectodomeniu prelucrat (adică clivat). Cele trei mutații ale I529P, A471C și T575C sunt cunoscute sub numele de mutații SOSIP, din care ultimele două mutații au ca rezultat introducerea unei posibile punți de disulfură între reziduurile de cisteină recent create. În general, aceste mutații au ca rezultat o proteină a anvelopei HIV sintetică solubilă, trimerizată, sintetică, fără a fi necesară un domeniu de trimerizare.

Intr-o realizare preferată, invenția se referă la un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 17, SECV ID NR: 18 sau aa 1-686 din SECV ID NR: 19. Cel mai preferabil proteina anvelopei HIV sintetică codificată de acidul nucleic cuprinde sau constă din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.

Intr-un alt aspect general, invenția se referă la un vector care cuprinde un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică conform unei realizări a invenției. Într-o realizare, vectorul este un vector viral. Într-o realizare preferată, vectorul viral este un vector adenoviral. Într-o realizare preferată, vectorul adenoviral este un vector adenovirus 26.

Un alt aspect general al invenției se referă la o compoziție, de preferință o compoziție de vaccin, care cuprinde o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector conform unei variante de realizare a invenției, și un purtător, în care acidul nucleic care codifică proteina anvelopei HIV sintetică este conectată operabil la o secvență promotor. Într-o realizare, compoziția cuprinde un

5 vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.

Intr-un alt aspect general, invenția se referă la o combinație de vaccin pentru inducerea unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect care are nevoie de acesta. Combinația de vaccin cuprinde o primă compoziție cuprinzând o cantitate

10 eficientă imunogen dintr-un vector, de preferință un vector adenovirus, mai preferabil un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică având secvența de aminoacizi a SECV ID NR: 18, o a doua compoziție cuprinzând o cantitate eficientă imunogenic dintr-un al doilea vector, de preferință un al doilea vector adenovirus, mai preferabil un al doilea vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din

15 SECV ID NR: 5 și, opțional, cel puțin o compoziție suplimentară care cuprinde o cantitate efectivă imunogen din cel puțin una selectată din grupul constând dintr-un vector care codifică o polipeptidă antigenică având secvența de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 1-4, 28 și 29 și o polipeptidă cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-o polipeptidă antigenică izolată HIV, incluzând, dar fără a se limita la, o polipeptidă având reziduuri 30-708 din

20 secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7, sau o polipeptidă având reziduuri 30-724 din SECV ID NR: 36, în care prima compoziție, a doua compoziție și compoziția suplimentară opțională sunt prezente în aceeași compoziție sau în una sau mai multe compoziții diferite.

Cu toate acestea, un alt aspect general al invenției se referă la metode de inducere a unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect care are nevoie de acesta, cuprinzând administrarea către subiect a unei compoziții sau a unei combinații de vaccin

25 în conformitate cu o realizare a invenției. Invenția se referă, de asemenea, la metode de inducere a unui răspuns imun împotriva unui HIV care cuprinde inițierea și stimularea răspunsului imun folosind o compoziție sau o combinație de vaccin în conformitate cu o realizare a invenției.

Cu toate acestea, un alt aspect al invenției se referă la o proteină a anvelopei HIV sintetică care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul format din (i) I529P, (ii) K480E, (iii) o combinație de

30 EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C. Într-o realizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde SECV ID NR: 8 cu mutații ale EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C. Într-o altă realizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde reziduurile 30-704 sau 30-711 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18. În încă o altă realizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde reziduurile 30-686 ale secvenței de aminoacizi a SECV ID NR: 19.

35

Un alt aspect al invenției se referă la o celulă, de preferință o celulă izolată, cuprinzând un vector conform unei realizări a invenției.

40 **DESCRIEREA PE SCURT A UNOR VEDERI ALE FIGURILOR**

Expunerea pe scurt de mai sus, precum și următoarea descriere detaliată a invenției, vor fi mai bine înțelese atunci când sunt citite împreună cu figurile anexate. Trebuie înțeles că invenția nu se limitează la realizările precise prezentate în desene.

In figuri:

45 Fig. 1A-1C sunt reprezentări schematice ale structurii proteinelor anvelopei HIV; FIG. 1A prezintă o proteină a anvelopei HIV de lungime întreagă; FIG. 1B arată structura unei proteine a anvelopei solubile cu un singur lanț HIV conform unei variante de realizare a invenției în care domeniul transmembranar (TM) este înlocuit cu un domeniu de trimerizare GCN4, iar locul de clivaj al furinei este mutat (sC4); FIG. 1C prezintă structura unei proteine a anvelopei HIV legate de o

50 membrană conform unei variante de realizare a invenției care cuprinde un domeniu transmembranar și un fragment dintr-un domeniu citoplasmatic (C4D7); FIG. 2 prezintă nivelurile de expresie ale proteinei anvelopei solubile sC1, care se bazează pe secvența de antigen mozaic mos2Env cu un domeniu suplimentar de trimerizare la capătul C-terminal și o proteină a anvelopei HIV sintetică (sC4) solubilă, conform unei realizări a invenției;

55 expresia a fost măsurată prin Western blot cantitativ folosind un anticorp policlonal împotriva gp120; plasmidele care codifică sC1 sau sC4 au fost exprimate tranzitoriu de două ori și fiecare transfecție a fost cuantificată de două ori prin densitometrie; proteina sC1 a arătat niveluri de expresie foarte scăzute în comparație cu proteina anvelopei HIV sintetică sC4, care a prezentat niveluri de exprimare relativ ridicate;

Fig. 3A și 3B arată legarea proteinelor anvelopei HIV sintetic cu anticorpii monoclonali 17b (mAb17b) în prezență (gri deschis) și absență (gri închis) a CD4 solubil, determinată prin test ELISA; FIG. 3A prezintă legarea sC1; FIG. 3B arată legarea sC4;

FIG. 4 este o imagine a unui test Western blot dintr-o electroforeză naturală cu gel de poliacrilamidă a proteinei sC1 și a proteinei anvelopei HIV sintetic sC4;

FIG. 5 prezintă nivelurile de expresie relativă a suprafeței celulare a proteinelor anvelopei HIV sintetice C1, C1D7, C4 și C4D7 prin analiza FACS a celulelor care exprimă aceste proteine folosind un anticorp policlonal anti-gp120 (GP120) și prin legarea la anticorpi neutralizanți în general PG9 (PG9) și PG16 (PG16) care sunt dependenți de structura cuaternară și se leagă preferențial la trimerul Env pliat corect;

FIG. 6 este o reprezentare grafică a stabilității vectorilor de adenovirus care conțin secvențe care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice conform invenției, inclusiv C4 (FLC4), C4D7 și sC4 de lungime completă după mai multe pasaje virale; adenovirus recombinant 26 de vectori au fost generați în celulele PER.C6; după cele 3 pasaje inițiale pentru transfecție și purificare a plăcii, 5 plăci au fost selectate și amplificate pentru 10 pasaje în format T25, rezultând un număr total de pasaje virale (vpn) de 13; este prezentată stabilitatea după vpn 3, 5, 10 și 13, așa cum este determinată de reacția în lanț a polimerazei casetelor transgenice E1 (PCR); de exemplu, 3/5 înseamnă 3 plăci au fost stabile din cele 5 plăci testate, iar 5/5 înseamnă 5 plăci au fost stabile din cele 5 plăci testate; și

Fig. 7A și 7B prezintă titruri de neutralizare a virusului împotriva particulelor de virus pseudotipate ale anvelopei HIV-1 (EVP) într-un test de neutralizare bazat pe celule TZM-bl la iepuri; valorile IC_{50} log10-transformat ale grupurilor dozate cu vector înalt adenoviral au fost măsurate față de EVP VSV-G (control negativ) și MW965,26 (Grupul C de nivel 1A) la săptămânile 1, 8, 14 și 20; fiecare punct reprezintă valoarea IC_{50} log10-transformat pentru ieupure individual, cu media de grup indicată printr-o linie orizontală; HD: cea mai înaltă testare a diluării (linia plină superioară); LD: cea mai mică testare a diluării (linia plină inferioară); LOB: limită de fundal, valoare de 95% a probelor negative compilate (linie punctată); valorile IC_{50} log10 care depășesc pragul LD sau HD au fost stabilite la linia corespunzătoare; s-a făcut o comparație non-parametrică unidirecțională cu controlul utilizând metoda Dunn pentru clasarea în comun pentru fiecare punct; diferențe semnificative statistice sunt indicate în graficele: * = $P < 0,05$, ** = $P < 0,01$, și *** = $P < 0,001$; FIG. 7A arată rezultatele cu VSV-G (control negativ); și FIG. 7B arată rezultatele cu MW965,26 (Nivelul 1A grupul C).

DESCRIEREA DETALIATĂ A INVENȚIEI

Cu excepția cazului în care se definește altfel, toți termenii tehnici și științifici folosiți în conținut au aceeași semnificație așa cum este înțeleasă pentru persoana de specialitate în domeniul la care se referă această invenție. În caz contrar, anumiți termeni folosiți în conținut au semnificațiile definite în specificație. Trebuie menționat că, așa cum este utilizat în conținut și în revendicările anexate, formele singulare "o", "un" și "cea/cel" se referă la plural, cu excepția cazului în care contextul dictează altfel.

Așa cum s-a utilizat în conținut, "subiect" înseamnă orice animal, de preferință un mamifer, cel mai preferabil un om, căruia urmează să sau i s-a administrat un vector, compoziție de vaccin sau combinație de vaccin conform exemplurilor de realizare ale invenției. Termenul "mamifer", utilizat în acest document, cuprinde orice mamifer. Exemple de mamifere includ, dar nu se limitează la, vaci, cai, oi, porci, pisici, câini, șoareci, șobolani, iepuri, cobai, maimuțe, oameni, etc., mai preferabil un om.

Invenția se referă, în general, la proteine ale anvelopei HIV sintetice, acid nucleic și vectori care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice și metode de inducere a unui răspuns imun împotriva HIV, cu vectori care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice sau proteinele anvelopei HIV sintetice, singure sau în combinație cu unul sau mai mulți vectori care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV și/sau în combinație cu una sau mai multe polipeptide antigenice izolate HIV.

Virusul imunodeficienței umane (HIV) este un membru al genului Lentivirinae, care face parte din familia Retroviridae. Două specii de HIV infectează oamenii: HIV-1 și HIV-2. HIV-1 este cea mai frecventă tulpină a virusului HIV și este cunoscut a fi mai patogen decât HIV-2. Așa cum s-a utilizat în conținut, termenii "virusul imunodeficienței umane" și "HIV" se referă, dar nu se limitează la, HIV-1 și HIV-2.

HIV este clasificat în mai multe grupuri cu un grad ridicat de divergență genetică. Așa cum este utilizat în conținut, termenul "grupul HIV" sau "subtip HIV" se referă la virusurile imunodeficienței umane asociate, clasificate în funcție de gradul lor de similaritate genetică. În prezent, există trei grupuri de izolate HIV-1: M, N și O. Grupul M (tulpini majore) este format din

cel puțin zece grupuri, A până la J. Grupul O (tulpini exterioare) poate consta dintr-un număr similar de grupuri. Grupul N este un nou izolat HIV-1 care nu a fost clasificat nici în grupul M și nici în O.

5 Așa cum s-a utilizat în conținut, termenii "polipeptida antigenică HIV", "proteină antigenică HIV" și "imunogen HIV" se referă la o polipeptidă capabilă să inducă un răspuns imun, de exemplu, un răspuns mediat umoral și/sau celular, împotriva HIV la un subiect. Polipeptida antigenică poate fi o proteină a HIV, un fragment sau epitop al acesteia sau o combinație de multiple proteine HIV sau porțiuni ale acestora, care poate induce un răspuns imun sau produce o imunitate, de exemplu, o imunitate protectoare împotriva HIV la un subiect.

10 De preferință, o polipeptidă antigenică este capabilă să genereze la o gazdă un răspuns imun protector, de exemplu, să inducă un răspuns imun împotriva unei boli sau infecții virale și/sau să producă o imunitate la (adică, prin vaccinare) un subiect împotriva unei boli virale sau infecții, care protejează subiectul împotriva bolii virale sau a infecției. De exemplu, polipeptida antigenică poate cuprinde o proteină sau fragmente ale acesteia din Virusul Imunodeficienței Simian (SIV) sau un HIV, cum ar fi proteina anvelopei gp160 HIV sau SIV, proteina matricei/capsidei HIV sau produse de gene *gag*, *pol* și *env* HIV sau SIV.

O polipeptidă antigenică HIV poate fi orice antigen HIV-1 sau HIV-2 sau fragment din acesta. Exemple de antigene HIV includ, dar nu se limitează la acestea produse genice *gag*, *pol*, și *env*, care codifică proteine structurale și enzime esențiale. Produsele genice *gag*, *pol*, și *env* sunt sintetizate sub formă de poliproteine, care sunt prelucrate în continuare în alte produse proteice multiple. Produsul proteic primar al genei *gag* este poliproteina proteinei structurale virală *gag*, care este prelucrată în continuare în produsele proteice MA, CA, SP1, NC, SP2 și P6. Gena *pol* codifică enzimele virale (Pol, polimeraza), iar produsul proteic primar este prelucrat suplimentar în produse proteice RT, RNase H, IN și PR. Gena *env* codifică proteine structurale, în special glicoproteine din anvelopa virionului. Produsul proteic primar al genei *env* este gp160, care este prelucrată în continuare în gp120 și gp41. Alte exemple de antigene HIV includ proteine de reglare a genelor Tat și Rev; proteine accesorii Nef, Vpr, Vif și Vpu; proteine capsidice, proteine nucleocapsidice și proteine virale p24.

In anumite realizări, polipeptida antigenică HIV cuprinde un antigen HIV Gag, Env sau Pol, sau orice porțiune sau epitop antigenic sau o combinație a acestora, de preferință un antigen HIV-1 Gag, Env sau Pol sau orice porțiune antigenică sau epitop sau combinație a acestora.

Polipeptidele antigenice HIV pot fi de asemenea antigene mozaic. Așa cum este utilizat în conținut, "antigenul mozaic" se referă la o proteină recombinantă asamblată din fragmente de secvențe naturale. Antigenele mozaic seamănă cu antigene naturale, dar sunt optimizate pentru a maximiza acoperirea potențialilor epitopi de celule T găsite în secvențele naturale, ceea ce îmbunătățește întinderea și acoperirea răspunsului imun. Antigene mozaic HIV utilizate pentru invenție sunt de preferință antigene mozaice Gag, Pol și/sau Env și mai preferabil antigene mozaic HIV-1 Gag, Pol și/sau Env. Așa cum s-a utilizat în conținut, "un antigen mozaic HIV Gag, Pol și/sau Env" se referă în mod specific la un antigen mozaic cuprinzând mai mulți epitopi derivați din una sau mai multe secvențe de poliproteină Gag, Pol și/sau Env.

40 Intr-o realizare, un antigen HIV mozaic pentru utilizare conform cu invenția este un antigen mozaic HIV Gag cu epitopi derivați din secvențele de produse de gene *gag* (exemple sunt prezentate în SECV. ID-uri NR: 1, 2); un mozaic antigen HIV Pol cu epitopi derivați din secvențele din produse de gene *pol* (exemple sunt prezentate în SECV. ID NR: 3, 4); sau un mozaic antigen HIV Env cu epitopi derivați din secvențele din produse de gene *env* (exemple sunt furnizate în SECV ID NR: 5, 6; de asemenea, noile antigene ale invenției, de exemplu în SECV ID NR: 8, 17, 18, 19, pot fi considerate antigene mozaic HIV). În anumite realizări, un antigen HIV mozaic pentru utilizare conform cu invenția poate cuprinde o combinație de epitopi derivați din secvențe de produse de gene *gag*, *pol*, și/sau *env*. Exemple ilustrative și nelimitative includ antigene Env-Pol mozaic cu epitopi derivați din secvențele din produse de gene *env* și *pol*; antigene mozaic Gag-Pol cu epitopi derivați din secvențele din produse de gene *gag* și *pol*; și antigene mozaic Gag-Env cu epitopi derivați din secvențele din produse de gene *gag* și *env*. Secvențele de produsele genice *gag*, *pol*, și *env* pot fi derivate de la unul sau mai multe grupuri.

55 Exemple de antigene mozaic HIV Gag, Pol și/sau Env care pot fi utilizate în invenție includ cele descrise în, de exemplu publicația US20120076812; Barouch și colab., Nat Med 2010, 16: 319-323; și Barouch și colab., Cell 155: 1-9, 2013, toate acestea fiind încorporate în conținut prin referire în întregime. De preferință, antigenele HIV Gag, Pol și/sau Env mozaic pentru utilizare conform cu prezenta invenție includ, dar nu sunt limitate la, mos1Gag (SECV ID NR: 1), mos2Gag (SECV ID NR: 2), mos1Pol (SECV ID NR: 3), mos2Pol (SECV ID NR: 4), mos1Env (SECV ID NR: 5), mos2Env (SECV ID NR: 6), mos1GagPol (SECV ID NR: 28), mos2GagPol (SECV ID NR: 29) și combinații ale acestora.

Așa cum s-a utilizat în conținut, fiecare dintre termenii "proteină a anvelopei HIV sintetică", "proteină env" și "Env" se referă la o proteină care este exprimată pe anvelopa unui virion HIV și permite unui HIV să țintească și să se atașeze de membrana plasmatică a celulelor infectate cu HIV, sau un fragment sau derivat al acestora care poate induce un răspuns imun sau produce o imunitate împotriva HIV la un subiect care are nevoie de acesta. Gena HIV *env* codifică proteina precursoră gp160, care este scindată proteolitic în cele două glicoproteine pline mature, gp120 și gp41. Reacția de clivaj este mediată de o protează a celulelor gazdă, furină, într-o secvență extrem de conservată în precursorii glicoproteinei anvelopei retrovirale. Mai precis, gp160 trimerizează la $(gp\ 160)_3$ și apoi suferă clivaj în cele două gp120 și gp41 asociate necovalent. Intrarea virală este apoi mediată de un trimer de heterodimeri gp120/gp41. Gp120 este fragmentul de legare a receptorului și se leagă la receptorul CD4 pe o celulă țintă care are un astfel de receptor, cum ar fi, de exemplu, o celulă T-helper. Gp41, care este legată necovalent la gp120, este fragmentul de fuziune și oferă a doua etapă prin care HIV intră în celulă. Gp41 este inițial îngropat în anvelopa virală, dar când gp120 se leagă de un receptor CD4, gp120 își modifică conformația, determinând expunerea gp41, unde poate ajuta la fuziunea cu celula gazdă. Gp140 este ectodomeniul neclivat al gp160 trimeric, adică $(gp160)_3$, care a fost utilizat ca surogat pentru starea natală a țintei clivate, virală.

Conform realizărilor invenției, o "proteină a anvelopei HIV sintetică" poate fi o proteină gp160, gp140, gp120, gp41, combinații, fuziuni, trunchieri sau derivați ai acestora. De exemplu, o "proteină a anvelopei HIV sintetică" poate include o proteină gp120 asociată necovalent cu o proteină gp41. De asemenea, poate include o proteină trimerică stabilizată gp140 care poate avea sau poate fi modificată pentru a include un domeniu de trimerizare care stabilizează trimerile de gp140. Exemple de domenii de trimerizare includ, dar nu sunt limitate la, domeniul de trimerizare "foldon" cu fibrină T4; domeniul de trimerizare a spirei-spiralată derivat din GCN4; și subunitatea catalitică din *E. coli* aspartat transcarbamoylaza ca etichetă tag. O "proteină a anvelopei HIV sintetică" poate fi, de asemenea, o proteină a anvelopei trunchiată HIV incluzând, dar fără a se limita la, proteine ale anvelopei care cuprinde o trunchiere la capătul C-terminal în ectodomeniu (adică domeniul care se extinde în spațiul extracelular), o trunchiere în gp41, cum ar fi o trunchiere în domeniul transmembranar al gp41 sau o trunchiere în domeniul citoplasmatic al gp41. O "proteină a anvelopei HIV sintetică" poate fi în continuare un derivat al unei proteine a anvelopei HIV care are în mod natural mutații de secvență, de exemplu, în locurile de clivaj ale furinei și/sau așa-numitele mutații SOSIP.

De preferință, o "proteină a anvelopei HIV" este o "proteină a anvelopei HIV sintetică". Așa cum s-a utilizat în conținut, termenul "proteină a anvelopei HIV sintetică" se referă la o proteină a anvelopei HIV care nu este naturală, care este optimizată pentru a induce un răspuns imun sau pentru a produce o imunitate împotriva uneia sau mai multor tulpini de HIV la un subiect care are nevoie de aceasta. Proteine Mozaic HIV Env sunt exemple de proteine sintetice HIV Env, iar invenția oferă noi antigene sintetice HIV Env, de exemplu cele care conțin SECV ID NR: 8, 17, 18 sau 19.

40

Proteinele anvelopei HIV sintetice și secvențe de codificare ale acestora

Realizările invenției se referă la noi proteine ale anvelopei HIV sintetice și molecule de acid nucleic care codifică acestea.

Într-o variantă de realizare, invenția se referă la o proteină a anvelopei HIV sintetică care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul format din (i) I529P, (ii) K480E și (iii) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C. SECV ID NR: 8 cuprinde un gp120 matur sintetic și un gp41 trunchiat sintetic fără regiunea transmembrană și nici domeniul citoplasmatic. SECV ID NR: 8 este o secvență naturală, formată dintr-o himeră de secvențe din antigenul mozaic mos2Env (SECV ID NR: 6) și alte secvențe de proteine ale anvelopei HIV. Secvența noului antigen Env sintetice cuprinzând SECV ID NR: 8 este optimizată pentru a oferi o acoperire largă și un răspuns îmbunătățit al celulelor T împotriva grupului C HIV (în comparație cu antigenul mos2Env (SECV ID NR: 6)). În anumite realizări, alți aminoacizi pot fi adăugați la SECV ID NR: 8 sau la una din variantele sale definite în conținut.

În anumite realizări, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde suplimentar o secvență de semnal. Proteina anvelopei HIV sintetică este sintetizată cu o secvență semnal care este scindată din lanțul polipeptidic în curs de transport în timpul transportului său în lumenul reticulului endoplasmatic (ER). În principiu, orice secvență semnal cunoscută ar putea fi utilizată. De preferință, este utilizată o secvență de semnal HIV Env sau o variantă a acesteia. Secvențe semnal diferite au fost utilizate în domeniu pentru proteinele HIV Env (vezi de exemplu publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2014/107744). În anumite variante de realizare,

60

secvența semnal cuprinde SECV ID NR: 9, SECV ID NR: 10, SECV ID NR: 11 sau SECV ID NR: 12. Într-o realizare preferată, secvența de semnal cuprinde SECV ID NR: 9.

În anumite realizări, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un domeniu transmembranar. Domeniul transmembranar ancorează proteina anvelopei HIV sintetică la membrana ER și contribuie la asamblarea membranei și funcția anvelopei HIV. De preferință, domeniul transmembranar cuprinde SECV ID NR: 13.

Intr-o altă realizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde un gp41 având un domeniu citoplasmatic trunchiat. Gp41 are un domeniu citoplasmatic neobișnuit de lung la capătul carboxilic, de obicei aproximativ 150 de aminoacizi (Edwards și colab., J. Virology, 2002, 76: 2683-2691). S-a raportat că trunchierea domeniului citoplasmatic a indus expunerea regiunilor conservate în ectodomeniul proteinei Env-1 HIV (*id.*). Domeniul citoplasmatic trunchiat într-o proteină a anvelopei HIV sintetică a invenției poate varia de la unu la aproximativ 140 de aminoacizi, cum ar fi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130 sau 140 aminoacizi cu un domeniu citoplasmatic de lungime completă. În anumite realizări, domeniul citoplasmatic trunchiat este derivat din aminoacizii 704-862 din SECV ID NR: 17 (adică din domeniul citoplasmatic al moleculei C4 din invenție), prin trunchiere după un aminoacid dat până la capătul C. Într-o realizare preferată, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde un domeniu citoplasmatic trunchiat având 1 până la 10 reziduuri de aminoacizi, mai preferabil 4 până la 8 reziduuri de aminoacizi, și cel mai preferabil 7 reziduuri de aminoacizi ale unui domeniu citoplasmatic cu HIV gp41. Domeniul citoplasmatic sau fragmentul acestuia dintr-o proteină a anvelopei HIV sintetică este localizat la capătul C-terminal la domeniului extracelular (ectodomeniu), iar atunci când proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde, de asemenea, un domeniu transmembranar, domeniul citoplasmatic sau fragmentul acestuia este situat la capătul C-terminal al domeniului transmembranar. Vezi, de exemplu, FIG. 1A și 1C. Într-o realizare particulară, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde un gp41 cu un domeniu citoplasmatic trunchiat având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 14 sau un fragment al acestuia, cum ar fi reziduurile 1-4 ale acestora (adică NRVR). Alte domenii citoplasmatic trunchiate au fost descrise și ar putea fi utilizate (de exemplu Schiernle și colab., PNAS 1997; Abrahamyan și colab., J Virol 2005).

În realizări în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un domeniu transmembranar și un fragment dintr-un domeniu citoplasmatic, este de preferat ca proteina să conțină și secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 37, care conține reziduuri 655-682 din SECV ID NR: 18, în care secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 37 este fuzionată la capătul C al SECV ID NR: 8 și capătul N terminal al domeniului transmembranar.

Intr-o realizare preferată în special a invenției, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un domeniu transmembranar, cum ar fi acela care are secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 13 și un domeniu citoplasmatic trunchiat sau un fragment de domeniu citoplasmatic, cum ar fi acela având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 14 sau reziduurile 1-4 din SECV ID NR: 14 (adică NRVR). Cel mai de preferat, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde sau constă din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18, cu sau fără secvența semnal (adică, aminoacidul se află pe 1-29 din SECV ID NR: 18).

Intr-o altă realizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde un domeniu de trimerizare care înlocuiește o regiune transmembrană Env. Domeniul de trimerizare crește stabilitatea unei structuri trimerice. De preferință, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde o polipeptidă gp140 care este modificată pentru a include un domeniu de trimerizare care stabilizează trimerile de gp140. Exemple de domenii de trimerizare includ, dar nu sunt limitate la, domeniul de trimerizare "foldon" cu fibritină T4, cum ar fi cea care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID: 16; domeniul de trimerizare spira-spiralat derivat din GCN4, cum ar fi cel care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID: 15; subunitatea catalitică a *E coli* aspartat transcarbamoylaza ca etichetă tag; sau motive de trimerizare pe bază de matrilină. Dacă este prezent, domeniul de trimerizare este de obicei localizat în capătul C-terminal al domeniului extracelular (a se vedea figura 1B). În anumite realizări preferate, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde un domeniu de trimerizare, proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 19, cu sau fără secvența semnal (adică reziduuri de aminoacizi 1-29 din SECV ID NR: 19). Aceste variante de realizare cu domenii de trimerizare sunt utile în principal pentru variantele solubile de ectodomeniu ale proteinei anvelopei HIV sintetice. În anumite variante de realizare a unor astfel de variante solubile ale invenției, este posibil să mute situsul de clivaj al furinei (de exemplu, mutația Lys la Glu la poziția 480 din SECV. ID NR: 8) pentru a inactiva acest loc de clivaj, astfel încât proteina va fi cu un singur lanț; acest lucru se combină bine cu un domeniu de trimerizare, în special cu domeniul de trimerizare GCN4 din SECV ID NR: 19.

Versiuni alternative de astfel de variante de ectodomeniu solubile ale proteinei anvelopei HIV sintetice fără utilizarea domeniilor de trimerizare sunt, de asemenea, exemple de realizare ale invenției și pot fi preparate din SECV. NR. 8: combinând mutații care optimizează situsul de clivaj al furinei (înlocuind Gly-Lys dipeptidă la pozițiile 479-480 cu patru reziduuri Arg), precum și așa-numitele mutații SOSIP (mutația I> P la poziția 529 și introducerea unei punți disulfură între pozițiile 471 și 575 prin înlocuirea respectivelor Ala și Thr pe acele poziții în SECV ID NR: 8 fiecare cu un reziduu Cys). Aceasta produce o proteină având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 cu următoarea combinație de mutații: EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C.

O posibilă modificare pentru a crește în continuare conținutul de trimer al unei proteine ale anvelopei HIV sintetice conform invenției (care cuprinde SECV ID NR: 8), este modificarea Ile la Pro la poziția 529. Aceasta poate fi eficientă atât pentru variante solubile, cât și pentru membrană.

Vectori

Un alt aspect general al invenției se referă la vectori cuprinzând acidul nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice. Conform exemplelor de realizare a invenției, vectorii pot cuprinde oricare dintre proteinele anvelopei HIV sintetice descrise în conținut. Într-o realizare preferată a invenției, vectorul cuprinde acidul nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8, SECV ID NR: 17, SECV ID NR: 18 sau SECV ID NR: 19, și mai preferabil SECV ID NR: 18.

Conform exemplelor de realizare ale invenției, acidul nucleic care codifică proteina anvelopei HIV sintetice este legat operațional cu un promotor, ceea ce înseamnă că acidul nucleic este sub controlul unui promotor. Promotorul poate fi un promotor omolog (adică, derivat din aceeași sursă genetică ca vectorul) sau un promotor heterolog (adică, derivat dintr-un vector sau sursă genetică diferită). Exemple de promotori adecvați includ promotorul citomegalovirusului (CMV) și promotorul virusului Rous Sarcoma (RSV). De preferință, promotorul este situat în amonte de acidul nucleic într-o casetă de expresie. O secvență exemplară de promotor CMV care poate fi legată în mod operațional cu acidul nucleic care codifică proteina anvelopei HIV sintetice este prezentată în SECV ID NR: 24.

Conform realizărilor invenției, un vector poate fi un vector de expresie. Vectorii de expresie includ, dar nu se limitează la, vectori pentru expresia proteinei recombinante și vector pentru administrarea acidului nucleic la un subiect pentru expresie într-un țesut al subiectului, cum ar fi un vector viral. Exemple de vectori virali adecvați pentru utilizarea cu invenția includ, dar nu se limitează la vectori adenovirali, vectori cu virus adeno-asociați, vectori cu virus de variolă, vectori MVA, vectori cu virus enteric, vectori cu virusul encefalitei ecvine venezuelene, vectori cu virus Semliki Forest, vectori cu virus Tobacco Mozaic Virus, vectori lentivirali, etc. Vectorul poate fi, de asemenea, un vector non-viral. Exemple de vectori non-virali includ, dar nu se limitează la plasmide, cromozomi artificiali bacterieni, cromozomi artificiali cu drojdie, bacteriofagi etc.

În anumite realizări ale invenției, vectorul este un vector adenovirus. Un adenovirus conform invenției aparține familiei Adenoviridae și, de preferință, este unul care aparține genului Mastadenovirus. Poate fi un adenovirus uman, dar și un adenovirus care infectează alte specii, inclusiv, dar fără a se limita la un adenovirus bovin (de exemplu, adenovirus bovin 3, BAdV3), un adenovirus canin (de exemplu, CADV2), un adenovirus de porcine (de exemplu, PAdV3 sau 5) sau un adenovirus simian (care include un adenovirus de maimuță și un adenovirus de antropoidă, cum ar fi un adenovirus de cimpanzeu sau un adenovirus de gorilă). De preferință, adenovirusul este un adenovirus uman (HAdV, sau AdHu), sau un adenovirus simian, cum ar fi adenovirusul de cimpanzeu sau de gorilă (ChAd, AdCh sau SAdV). În invenție, un adenovirus uman este menționat dacă este denumit Ad fără o indicație de specie, de exemplu notarea sumară "Ad26" înseamnă aceeași cu HAdV26, care este un serotip de adenovirus uman 26. De asemenea, așa cum este utilizat în conținut, notația "rAd" înseamnă adenovirus recombinant, de exemplu, "rAd26" se referă la adenovirus 26 uman recombinant.

Cele mai avansate studii au fost efectuate folosind adenovirusuri umane, iar adenovirusurile umane sunt preferate în funcție de anumite aspecte ale invenției. În anumite realizări preferate, un adenovirus recombinant conform invenției se bazează pe un adenovirus uman. În realizări preferate, adenovirusul recombinant se bazează pe un serotip de adenovirus uman 5, 11, 26, 34, 35, 48, 49, 50, 52, etc. În conformitate cu o realizare preferată în special a invenției, un adenovirus este un adenovirus uman a serotipului 26. Un avantaj al acestei serotipuri este o seroprevalență scăzută și/sau titruri de anticorpi neutralizanți preexistenți scăzute la populația umană și experiență cu utilizarea la subiecți umani în studiile clinice.

Adenovirusurile simiene au, de regulă, o seroprevalență scăzută și/sau titruri de anticorpi neutralizanți preexistenți scăzute la populația umană și o cantitate semnificativă de experiență a fost raportată folosind vectori adenovirus de cimpanzeu (de exemplu US6083716; publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2005/071093; publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2010/086189; publicația de cerere internațională de brevet de invenție WO 2010085984; Farina și colab., 2001, J Virol 75: 11603-13 [13]; Cohen și colab., 2002, J Gen Virol 83: 151-55 [69]; Kobinger și colab., 2006, Virologie 346: 394-401 [70]; Tatsis și colab., 2007, Molecular Therapy 15: 608-17 [71]; vezi și recenzia de Bangari și Mittal, 2006, Vaccin 24: 849-62 [72]; și treceți în revistă de Lasaro și Ertl, 2009, Mol Ther 17: 1333-39 [73]). Prin urmare, în alte realizări, adenovirusul recombinant conform invenției se bazează pe un adenovirus simian, de exemplu un adenovirus de cimpanzeu. În anumite realizări, adenovirusul recombinant se bazează pe adenovirus simian tip 1, 7, 8, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27.1, 28.1, 29, 30, 31.1, 32, 33, 34, 35.1, 36, 37.2, 39, 40.1, 41.1, 42.1, 43, 44, 45, 46, 48, 49, 50 sau SA7P.

De preferință, vectorul adenovirus este un vector viral recombinant deficitar de replicare, cum ar fi rAd26, rAd35, rAd48, rAd5HVR48 etc.

Intr-o realizare preferată a invenției, vectorii adenovirali cuprind proteine capsidice din serotipuri rare, inclusiv Ad26. În realizarea tipică, vectorul este un virus rAd26. O "proteină adenovirus capsidă" se referă la o proteină din capsidă a unui adenovirus (de exemplu, vectori Ad26, Ad35, rAd48, rAd5HVR48) care este implicată în determinarea serotipului și/sau tropismului unui anumit adenovirus. Proteinele adenovirale ale capsidei includ în mod obișnuit proteinele fibrei, pentonului și/sau hexonului. Așa cum se utilizează în conținut o "proteină capsidică" pentru un anumit adenovirus, cum ar fi o "proteină Adsid capsidică" poate fi, de exemplu, o proteină chimică de capsidă care include cel puțin o parte dintr-o proteină Ad26 capsidică. În anumite realizări, proteina capsidică este o proteină întreagă a capsidei din Ad26. În anumite realizări, hexonul, pentonul și fibra sunt de Ad26.

Un specialist în domeniu va recunoaște că elementele derivate din serotipuri multiple pot fi combinate într-un singur vector adenovirus recombinant. Astfel, poate fi produs un adenovirus himeric care combină proprietăți dezirabile din diferite serotipuri. Astfel, în unele realizări, un adenovirus himeric conform invenției ar putea combina absența imunității preexistente a unui prim serotip cu caracteristici precum stabilitatea temperaturii, asamblarea, ancorarea, randamentul producției, infecția redirecționată sau îmbunătățită, stabilitatea ADN-ului în celula țintă și altele asemenea.

În anumite realizări, vectorul adenovirus recombinant util în invenție este derivat în principal sau în întregime din Ad26 (*adică.*, vectorul este rAd26). În unele realizări, adenovirusul este deficitar de replicare, de exemplu, deoarece conține o ștergere în regiunea E1 a genomului. Pentru adenovirusurile care provin din adenovirusul din grupa C, cum ar fi Ad26 sau Ad35, este tipic să se schimbe secvența de codificare E4-orf6 a adenovirusului cu E4-orf6 a unui adenovirus din subgrupa C umană, cum ar fi Ad5. Aceasta permite propagarea unor astfel de adenovirusuri în linii celulare bine-cunoscute care exprimă genele E1 ale Ad5, cum ar fi de exemplu celule 293, celule PER.C6 și altele asemenea (*vezi*, de exemplu Havenga și colab., 2006, J Gen Virol 87: 2135-43; publicația de cerere internațională de brevet de invenție 03/104467). Cu toate acestea, astfel de adenovirusuri nu vor fi capabile să se reproducă în celule non-complementare, care nu exprimă genele E1 ale Ad5.

Prepararea vectorilor adenovirali recombinanți este bine cunoscută în domeniu. Prepararea vectorilor rAd26 este descrisă, de exemplu, în publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2007/104792 și în Abbink și colab., (2007) Virol 81 (9): 4654-63. Secvențe exemplare ale genomului Ad26 se găsesc în GenBank Accession EF 153474 și în SECV ID NR: 1 din publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2007/104792. Exemple de vectori utili pentru invenție, de exemplu, sunt cei descriși în WO2012/082918.

De obicei, un vector util în invenție este produs folosind un acid nucleic care cuprinde întregul genom adenoviral recombinant (*de exemplu.*, un vector plasmidă, cosmidă sau baculovirus). Astfel, invenția furnizează de asemenea molecule izolate de acid nucleic care codifică vectorii adenovirali ai invenției. Moleculele de acid nucleic din invenție pot fi sub formă de ARN sau sub formă de ADN obținut prin clonare sau produs sintetic. ADN-ul poate fi dublu-catener sau monocatenar.

Vectorii adenovirus utili în invenție sunt de obicei deficienți de replicare. În aceste realizări, virusul este redus ca replicare prin ștergerea sau inactivarea regiunilor critice pentru replicarea virusului, cum ar fi regiunea E1. Regiunile pot fi substanțial șterse sau inactivate, de exemplu, prin introducerea unei gene de interes, cum ar fi o genă care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică (de obicei legată cu un promotor) sau o genă care codifică o polipeptidă antigenică HIV (de obicei legată cu o promotor) în cadrul regiunii. În unele variante de realizare,

vectorii invenției pot conține ștergeri în alte regiuni, cum ar fi regiunile E2, E3 sau E4, sau inserții de gene heterologe legate cu un promotor în una sau mai multe dintre aceste regiuni. Pentru adenovirusurile mutate cu E2 și/sau E4, în general, se generează linii celulare complementare cu E2 și/sau E4 pentru a genera adenovirusuri recombinante. Mutațiile din regiunea E3 a adenovirusului nu trebuie completate de linia celulară, deoarece E3 nu este necesară pentru replicare.

O linie celulară de ambalare este utilizată de obicei pentru a produce cantități suficiente de vectori adenovirus pentru utilizare în invenție. O celulă de ambalare este o celulă care cuprinde acele gene care au fost șterse sau inactivate într-un vector deficitar de replicare, permițând astfel replicării virusului în celulă. Liniile de celule de ambalare adecvate pentru adenovirusuri cu o ștergere în regiunea E1 includ, de exemplu, PER.C6, 911, 293 și E1 A549.

Conform realizărilor invenției, și așa cum s-a menționat mai sus, oricare dintre proteinele anvelopei HIV sintetice descrise în conținut pot fi exprimate în vectorii invenției. Având în vedere degenerarea codului genetic, persoana de specialitate este conștientă de faptul că pot fi proiectate mai multe secvențe de acid nucleic care codifică aceeași proteină, în conformitate cu metodele complet de rutină din domeniu. Acidul nucleic care codifică proteina anvelopei HIV sintetică poate fi opțional optimizat la codon pentru a asigura expresia corectă în gazda tratată (de exemplu, umană). Optimizarea codonului este o tehnologie aplicată pe scară largă în domeniu. Unele exemple nelimitate de secvențe care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice conform invenției sunt furnizate în SECV ID NR: 25, 26 și 27. În mod obișnuit, acidul nucleic care codifică proteina anvelopei HIV sintetice este clonat în regiunea genomului adenoviral E1 și/sau E3.

Intr-o realizare preferată a invenției, vectorul este un vector adenovirus, și mai preferabil un vector rAd26, cel mai preferabil un vector rAd26 cu cel puțin o ștergere în regiunea E1 a genomului adenoviral, de exemplu cum este cea descrisă în Abbink, J Virol, 2007. 81 (9): p. 4654-63, care este incorporat în conținut prin referință.

Invenția furnizează, de asemenea, celule, de preferință celule izolate, cuprinzând oricare dintre vectorii descriși în conținut. Celulele pot fi utilizate pentru producerea de proteine recombinante sau pentru producerea de particule virale.

Realizările invenției se referă astfel și la o metodă de fabricare a unei polipeptide antigenice HIV sintetice. Metoda cuprinde transfecția unei celule gazdă cu un vector de expresie cuprinzând acidul nucleic care codifică polipeptida antigenică HIV sintetică legată operațional de un promotor, crescând celula transfectată în condiții adecvate pentru exprimarea polipeptidei antigenice sintetice HIV și izolând polipeptida antigenică HIV din celulă. Polipeptida antigenică sintetică HIV poate fi izolată sau colectată din celulă prin orice metodă cunoscută în domeniu, incluzând cromatografia de afinitate, etc. Tehnicile utilizate pentru exprimarea proteinei recombinante vor fi bine cunoscute de către o persoană de specialitate obișnuită în domeniu, având în vedere prezenta descriere.

Invenția include, de asemenea, o metodă pentru fabricarea unui vector care codifică o polipeptidă antigenică HIV sintetică conform invenției, metoda cuprinzând cultivarea unei celule care cuprinde vectorul, pentru a propaga și multiplica vectorul în timpul cultivării și izolarea vectorului care codifică virusul polipeptidei antigenice sintetice HIV din invenție din cultura celulară, de ex din celule, din mediul de cultură sau din ambele. Vectorul poate fi purificat suplimentar conform metodelor cunoscute în domeniu.

În anumite realizări, invenția furnizează un vector conform unei variante de realizare a invenției cuprinzând un acid nucleic care codifică o polipeptidă antigenică sintetică HIV, iar în anumite exemple de realizare, acidul nucleic are o secvență de nucleotide selectată din grupul constând din SECV ID NR: 25, 26 și 27.

Compoziții

Intr-un alt aspect general, invenția se referă la o compoziție care cuprinde un vector care cuprinde un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice și un purtător. Conform realizărilor invenției, oricare dintre vectori descriși în conținut poate fi inclus în compoziție. De preferință, vectorul este un vector viral, mai preferabil un vector adenovirus și chiar mai preferabil un vector adenovirus 26. Intr-o realizare preferată, o compoziție cuprinde un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8, SECV ID NR: 18 sau SECV ID NR: 19 și altele de preferință secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.

Intr-un aspect, invenția furnizează un vaccin combinat cuprinzând unul sau mai mulți vectori care conțin secvențe de acid nucleic care codifică (i) o proteină a anvelopei HIV sintetice cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 (de exemplu, SECV ID NR: 18 sau 19) și (ii) o a doua proteină a anvelopei HIV sintetice cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID

NR: 5. Vectorii pot fi fiecare intr-o compoziție separată sau pot fi combinați într-o singură compoziție. Ambii acizi nucleici din vector (i) sunt intenționați să fie administrați unui subiect, ceea ce va avea ca rezultat un răspuns imun la HIV care este mai larg decât răspunsul imun care ar fi obținut la administrarea oricărui vector. Ambele secvențe de acid nucleic ar putea fi, de asemenea, prezente pe un singur vector.

Conform realizărilor invenției, o compoziție cuprinde o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector, cum ar fi un vector viral. Așa cum este utilizat în conținut, "o cantitate eficientă imunogen" sau "o cantitate eficientă imunologic" înseamnă o cantitate dintr-o compoziție suficientă pentru a induce un efect imun dorit sau un răspuns imun la un subiect care are nevoie de acesta. Într-o realizare, o cantitate eficientă imunogen înseamnă o cantitate suficientă pentru a induce un răspuns imun la un subiect care are nevoie de acesta. Într-o altă realizare, o cantitate eficientă imunogen înseamnă o cantitate suficientă pentru a produce imunitate la un subiect care are nevoie de ea, de exemplu, oferă un efect protector împotriva unei boli precum o infecție virală. O cantitate eficientă imunogen poate varia în funcție de o varietate de factori, cum ar fi starea fizică a subiectului, vârsta, greutatea, sănătatea, etc.; aplicația particulară, indiferent dacă induce răspuns imun sau furnizează imunitate protectoare; vectorul recombinant specific administrat; imunogenul sau polipeptida antigenică codificată de vectorul recombinant administrat; polipeptida antigenică specifică administrată; și boala particulară, de exemplu, infecția virală, pentru care se dorește imunitatea. O cantitate eficientă imunogenic poate fi ușor determinată de către o persoană de specialitate obișnuită în domeniu, având în vedere prezenta descriere.

Drept ghid general, o cantitate eficientă imunogen atunci când este utilizată cu referire la un vector viral recombinant, cum ar fi un vector adenoviral, poate varia de la aproximativ 10^8 particule virale la aproximativ 10^{12} particule virale, de exemplu 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , sau 10^{12} particule virale. O cantitate eficientă imunogenic poate fi administrată într-o singură compoziție sau în mai multe compoziții, cum ar fi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 sau 10 compoziții (de exemplu, tablete, capsule sau injectabile), în care administrarea mai multor capsule sau injecții asigură colectiv unui subiect cantitatea eficientă imunogen. În general, atunci când este utilizat cu referire la o polipeptidă, cum ar fi o polipeptidă antigenică izolat, o cantitate eficientă imunogen poate varia, de exemplu aproximativ 0,3 până la aproximativ 3000 micrograme (μ g), de exemplu 1-1000 μ g, de exemplu 10-500 μ g, de exemplu aproximativ 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 sau 500 μ g. Ca un exemplu nelimitativ, este posibilă combinarea administrării vectorului care codifică antigenul sintetic HIV Env al invenției (având SECV. NR. 8) cu administrarea unei polipeptide Env, de exemplu 250 μ g de proteină trimer HIV Grup C Env cu aminoacizi 30-708 din SECV ID NR: 7. Este de asemenea posibil să se administreze la un subiect o cantitate eficientă imunogen și apoi să se administreze o altă doză de cantitate eficientă imunogen la același subiect, într-un așa-numit regim de stimulare primară. Acest concept general al unui regim de impuls primar este bine cunoscut persoanelor abilitate din domeniul vaccinului. Administrări suplimentare de rapel pot fi adăugate opțional la regim, după caz.

Compozițiile conform invenției cuprind în plus un purtător. Un purtător poate include unul sau mai mulți excipienți acceptabili din punct de vedere farmaceutic, precum lianți, dezintegranți, agenți de umflare, agenți de suspendare, agenți de emulsionare, agenți de umectare, lubrifianti, substanțe aromatizante, îndulcitori, conservanți, coloranți, solubilizatori și acoperiri. Natura precisă a purtătorului sau a altui material poate depinde de calea de administrare, de exemplu, rutele intramusculare, subcutanate, orale, intravenoase, cutanate, intramucosale (de exemplu, intestinul), intranasal sau intraperitoneal. Pentru preparate injectabile lichide, de exemplu, suspensii și soluții, purtători și aditivi adecvați includ apă, glicoli, uleiuri, alcooli, conservanți, agenți de colorare și altele asemenea. Pentru preparate orale solide, de exemplu, pulberi, capsule, comprimate, capsule gelatinoase și tablete, purtători și aditivi adecvați includ amidonuri, zaharuri, diluanți, agenți de granulare, lubrifianti, lianți, agenți de dezintegrare și altele asemenea. Pentru spray-uri nazale/amestecuri inhalante, soluția/suspensia apoasă poate cuprinde apă, glicoli, uleiuri, emolienți, stabilizatori, agenți de umectare, conservanți, aromatici, arome și altele asemenea ca purtători și aditivi adecvați.

Compozițiile invenției pot fi formulate în orice materie potrivită pentru administrarea la un subiect pentru a facilita administrarea și a îmbunătăți eficacitatea, incluzând, dar fără a se limita la, administrarea orală (enterală) și injecțiile parenterale. Injecțiile parenterale includ injecție intravenoasă sau perfuzie, injecție intra-arterială, injecție subcutanată, injecție intramusculară și injecție intra-articulară. Compozițiile invenției pot fi, de asemenea, formulate pentru alte căi de administrare, inclusiv implanturi transmucozale, oculare, rectale, cu acțiune lungă, administrare sublinguală, sub limbă, de la mucoasa bucală, ocolind circulația portală, inhalare sau intranasală.

Conform anumitor exemple de realizare ale invenției, o compoziție cuprinde o cantitate eficientă imunogen de vector adenovirus purificat sau parțial purificat, cum ar fi un adenovirus 26,

care cuprinde un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică conform invenției. Compozițiile menționate pot fi formulate ca un vaccin (denumit și "compoziție imunogenă") în conformitate cu metodele bine cunoscute în domeniu.

Compozițiile invenției pot cuprinde în mod opțional un adjuvant pentru a intensifica răspunsurile imune. Termenii "adjuvant" și "stimulent imunitar" sunt utilizați în acest sens în mod interschimbabil și sunt definiți ca una sau mai multe substanțe care provoacă stimularea sistemului imunitar. În acest context, un adjuvant este utilizat pentru a îmbunătăți un răspuns imun la vectorii care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice conform invenției și/sau polipeptide antigenice HIV utilizate în combinație cu vectori care codifică proteinele învelitoare sintetice ale invenției.

Adjuvanții adecvați pentru utilizare conform cu invenția ar trebui să fie cei care sunt potențial siguri, bine tolerați și eficienți la oameni, cum ar fi QS-21, Detox-PC, MPL-SE, MoGM-CSF, TiterMax-G, CRL-1005, GERBU, TERamide, PSC97B, Adjuvant, PG-026, GSK-I, GeMAF, B-aletină, MPC-026, Adjuvant, CpG ODN, Betafectin, săruri de aluminiu (de exemplu, AdjuPhos), Adjuvant și MF59. Rapoartele optime ale fiecărui component din formulare pot fi determinate prin tehnici bine cunoscute specialiștilor în domeniu, având în vedere prezenta descriere.

Intr-o realizare preferată, adjuvantul este o sare de aluminiu, cum ar fi AdjuPhos.

Pregătirea și utilizarea compozițiilor imunogene sunt bine cunoscute de specialiștii în domeniu. Compozițiile farmaceutice lichide includ în general un purtător de lichide cum ar fi apă, petrol, uleiuri animale sau vegetale, ulei mineral sau ulei sintetic. De asemenea, pot fi incluse soluția salină fiziologică, dextroza sau altă soluție de zaharide sau glicoli precum etilen glicol, propilenglicol sau polietilenglicol.

De exemplu, vectorul adenovirus recombinant poate fi stocat în memoria tampon care este de asemenea utilizat pentru Adenovirus World Standard (Hoganson și colab., 2002, Bioprocessing J 1: 43-8): 20 mM Tris pH 8, 25 mM NaCl, glicerol 2,5%. Un alt tampon de formulare adenovirus util, adecvat pentru administrare la om este Tris 20 mM, 2 mM MgCl₂, 25 mM NaCl, zaharoză 10% greutate/volum, polisorbit-80 0,02% greutate/volum. Un alt tampon de formulare care este potrivit pentru adenovirus recombinant cuprinde 10-25 mM citrat tampon pH 5,9-6,2, 4-6% (greutate/greutate) hidroxipropil-beta-ciclodextrină (HBCD), 70-100 mM NaCl, 0,018-0,035% (greutate/greutate) polisorbit-80 și, opțional, 0,3-0,45% (greutate/greutate) etanol. Evident, multe alte tampoane pot fi utilizate și sunt cunoscute mai multe exemple de formulări adecvate pentru depozitare și pentru administrarea farmaceutică a vectorilor purificați.

Conform realizărilor invenției, o compoziție a invenției poate fi utilizată împreună cu unul sau mai mulți vectori suplimentari care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV și/sau una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate. Vectorii suplimentari și/sau polipeptidele antigenice HIV pot fi prezenți în aceeași compoziție cuprinzând o proteină sintetică HIV Env din invenție. De asemenea, pot fi prezenți într-una sau mai multe compoziții diferite care pot fi utilizate împreună cu o compoziție care cuprinde o proteină sintetică HIV Env din invenție într-o combinație de vaccin. De preferință, unul sau mai mulți vectori suplimentari sunt vectori virali, cum ar fi vectori adenovirus și sunt, de preferință, 26 de vectori adenovirus. Unul sau mai mulți vectori suplimentari pot codifica orice polipeptidă antigenică HIV cunoscută specialiștilor în domeniu, având în vedere prezenta descriere.

Intr-o realizare, o compoziție sau o combinație de vaccin cuprinde în plus un al doilea vector adenovirus, de preferință un adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5. Un avantaj al unor astfel de realizări este lărgimea crescută a răspuns imun (care acoperă tulpinile din Grupurile B și C).

Intr-o altă realizare, o compoziție sau o combinație de vaccin conform invenției cuprinde suplimentar un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28 (mos1GagPol).

Intr-o altă realizare, o compoziție sau o combinație de vaccin conform invenției cuprinde suplimentar un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 29 (mos2GagPol).

Intr-o realizare particulară, o compoziție sau o combinație de vaccin conform invenției cuprinde suplimentar un al doilea vector adenovirus, de preferință un adenovirus 26 vector, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5 și unul sau mai mulți vectori adenovirus suplimentari, de preferință vectori adenovirus 26, care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV cuprinzând secvența de aminoacizi selectată din grupul format din SECV ID NR: 28 sau SECV ID NR: 29. De exemplu, o compoziție sau o combinație de vaccin conform unei aplicații conform invenției, poate cuprinde patru vectori adenovirus, de preferință vectori adenovirus 26, cu un prim vector care codifică o proteină a

anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 (de exemplu, SECV ID NR: 18); un al doilea vector care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; un al treilea vector care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28; și un al patrulea vector care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 29.

În unele realizări, compoziția sau o combinație de vaccin cuprinde în plus una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate. Orice polipeptidă antigenică HIV cunoscută specialiștilor în domeniu în vederea prezentei dezvăluiri poate fi inclusă suplimentar într-o compoziție sau o combinație de vaccin a invenției, incluzând, dar fără a se limita la o proteină a anvelopei HIV sintetică (de exemplu, gp160, gp140, gp120, sau gp41), de preferință o proteină gp140 trimerică stabilizată, cum ar fi o proteină C sau gp140 grupul A stabilizat. Într-o realizare preferată, polipeptida antigenică HIV izolată este o proteină gp140 grupul C HIV stabilizat, cum ar fi aceea care cuprinde reziduurile 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 (reziduurile 1-29 din SECV ID NR: 7 se află în secvența semnal). O polipeptidă alternativă sau suplimentară HIV Env, care ar putea fi utilizată în plus față de proteina gp140 grup C sau singură, este o proteină trimerică din mozaic, de exemplu, având o secvență de aminoacizi descrisă în aminoacizi 30-724 din SECV ID NR: 36 (corespunzător SECV ID NR. 2 din publicația de cerere internațională de brevet de invenție WO 2014/107744, reziduurile 1-29 din SECV ID NR: 36 sunt în secvența semnal).

Conform unui exemplu de realizare particular al invenției, o proteină antigenică HIV poate fi o proteină a anvelopei HIV sintetică conform invenției. Astfel, o proteină a anvelopei sintetică conform invenției poate fi utilizată în formă izolată și/sau purificată pentru a induce un răspuns imun sau pentru a oferi o imunitate protectoare, etc. împotriva HIV la un subiect care are nevoie de acesta. Oricare dintre proteinele sintetice ale anvelopei descrise în conținut cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 poate fi utilizată ca o proteină antigenică HIV în formă izolată și/sau purificată. Într-o realizare preferată, atunci când este utilizată în formă izolată ca o proteină antigenică HIV, proteina anvelopei sintetică cuprinde reziduurile 30-711 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18 sau reziduurile 30-686 ale secvenței de aminoacizi din SECV ID NR: 19, și mai preferabil reziduurile 30-704 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18. Polipeptida antigenică HIV izolată poate cuprinde, de asemenea, SECV ID NR: 8 cu următoarele mutații: EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C.

Realizările invenției se referă, de asemenea, la compoziții sau combinații de vaccinuri care conțin o proteină a anvelopei HIV sintetică izolată care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8. Poate fi utilizată oricare dintre proteinele anvelopei HIV sintetice descrise în conținut. În realizări particulare ale invenției, proteina anvelopei izolată HIV conținând reziduurile 30-704 sau 30-711 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18, reziduurile 30-686 ale secvenței de aminoacizi din SECV ID NR: 19, sau secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 cu următoarele mutații: EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C. Astfel de compoziții sau combinații de vaccinuri pot cuprinde în continuare unul sau mai mulți vectori de expresie, de exemplu, vectori adenovirali cum ar fi vectori adenovirus 26, care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV, cum ar fi proteinele anvelopei HIV sintetice conform invenției, sau alte proteine antigenice HIV cum ar fi ca cele prevăzute în SECV ID NR: 4, 5, 7, 28 sau 29, sau fragmente ale acestora.

Invenția se referă, de asemenea, la o metodă de producere a unei compoziții sau a unei combinații de vaccinuri conform invenției. Conform exemplelor de realizare ale invenției, o metodă de producere a unei compoziții sau a unei combinații cuprinde combinarea unui vector care cuprinde acidul nucleic care codifică proteina anvelopei HIV sintetică a invenției cu un purtător și, opțional, unul sau mai mulți vectori care codifică unul sau mai mulți antigenici HIV suplimentari polipeptide și/sau una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate. Unui specialist în domeniu va fi familiar cu tehnicile convenționale utilizate pentru prepararea unor astfel de compoziții.

Vaccin și combinații de vaccin

Conform realizărilor invenției, o compoziție poate fi un vaccin. Așa cum s-a utilizat în conținut, termenul "vaccin" se referă la o compoziție care cuprinde un vector de expresie, de preferință un vector viral, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice conform invenției, care poate oferi imunitate protectoare sau un răspuns imun protector la un subiect sau pentru a vaccina un subiect. Conform exemplelor de realizare a invenției, la administrarea compoziției la un subiect, vectorul de expresie exprimă proteina anvelopei HIV sintetică codificată, iar proteina

anvelopei HIV sintetică exprimată este prezentată sistemului imunitar al subiectului, inducând astfel răspunsul necesar pentru a produce imunitate sau induce un răspuns imun.

Astfel, într-un alt aspect general, invenția furnizează un vaccin pentru inducerea unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect. Conform
5
exemplurilor de realizare a invenției, vaccinul cuprinde o compoziție care cuprinde o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector de expresie care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 și, de preferință, secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18. De preferință, vectorul de expresie este un vector viral, mai preferabil un vector adenovirus și cel mai preferabil un vector adenovirus 26.

Conform exemplurilor de realizare a invenției, "inducerea unui răspuns imun" atunci când
10
este utilizată cu referire la metodele și compozițiile descrise în conținut cuprinde furnizarea imunității protectoare și/sau vaccinarea unui subiect împotriva unei infecții, cum ar fi o infecție cu HIV, în scopuri profilactice ca provocând un răspuns imun dorit sau un efect la un subiect care are nevoie de acesta împotriva unei infecții, cum ar fi o infecție cu HIV, în scop terapeutic. De
15
preferință, metodele invenției sunt destinate unor scopuri profilactice, cum ar fi asigurarea imunității protectoare. Răspunsul imun poate fi un răspuns imun celular și/sau un răspuns imun umoral.

Așa cum este utilizat în conținut, termenul "imunitate protectoare" sau "răspuns imun protector" înseamnă că subiectul vaccinat este capabil să controleze o infecție cu agentul patogen
20
împotriva căreia s-a făcut vaccinarea. De obicei, subiectul care a dezvoltat un "răspuns imun protector" dezvoltă doar simptome clinice ușoare până la moderate sau deloc simptome. De obicei, un subiect care are un "răspuns imun protector" sau "imunitate protectoare" împotriva unui anumit agent nu va muri ca urmare a infecției cu respectivul agent.

Conform exemplurilor de realizare ale invenției, compozițiile de vaccin pot cuprinde în
25
continuare unul sau mai mulți vectori suplimentari, de exemplu, vectori virali, cum ar fi vectori adenovirus, de preferință vectori adenovirus 26 care codifică unul sau mai mulți polipeptide antigenice HIV și/sau unul sau mai mulți antigenici HIV izolați polipeptide. Proteina anvelopei HIV sintetică, vectori suplimentari și/sau una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate pot fi formulate în aceeași compoziție sau una sau mai multe compoziții diferite în vaccin.

Invenția se referă, de asemenea, la combinații de vaccinuri pentru inițierea și stimularea
30
unui răspuns imun la unul sau mai mulți HIV la un subiect care are nevoie de acesta, folosind unul sau mai mulți vectori în combinație cu o polipeptidă antigenică izolată. Astfel, într-un alt aspect general, invenția oferă o combinație de vaccinuri pentru inducerea unui răspuns imun împotriva unui HIV la un subiect. Conform exemplurilor de realizare ale invenției, combinația de vaccin
35
cuprinde:

(i) o primă compoziție care cuprinde o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector de expresie care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul format din (a) I529P, (b) K480E și (c) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C și un
40
purător; și

(ii) o a doua compoziție cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-o polipeptidă antigenică HIV și un purător izolat,
in care una din prima și a doua compoziție este destinată imunizării și cealaltă compoziție este pentru stimularea imunizării.

Conform realizărilor invenției, combinația de vaccin cuprinde în mod opțional o cantitate eficientă imunogen de unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari care codifică unul sau mai mulți polipeptide antigenice HIV. Unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari pot fi incluși în prima compoziție sau a doua compoziție, sau unul sau mai mulți vectori de expresie
50
suplimentari pot fi incluși într-una sau mai multe compoziții suplimentare pentru a fi administrate împreună cu prima și/sau a doua compoziție.

Așa cum s-a utilizat în conținut, termenii "co-livrare", "administrare concomitentă" sau "administrat împreună cu" se referă la administrarea simultană a două sau mai multe componente, cum ar fi un vector de expresie virală și o polipeptidă antigenică izolată sau mai mulți vectori de expresie virală. "Administrarea simultană" poate fi administrarea a două sau mai multe
55
componente cel puțin în aceeași zi. Când două componente sunt "administrate împreună cu", ele pot fi administrate în compoziții separate, secvențial, într-o perioadă scurtă de timp, cum ar fi 24, 20, 16, 12, 8 sau 4 ore, sau în interval de 1 oră sau mai puțin, sau pot fi administrat într-o singură compoziție în același timp.

În realizări particulare ale unei combinații de vaccinuri conform invenției, prima
60
compoziție cuprinde un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18; și

polipeptida antigenică izolată HIV cuprinde reziduurile 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduurile 30-724 din SECV ID NR: 36. Într-o realizare particulară, prima compoziție cuprinde suplimentar un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5.

5 Într-o altă realizare particulară, prima compoziție cuprinde în plus unul sau mai mulți vectori adenovirus, de preferință vectori adenovirus 26, care codifică unul sau mai multe polipeptide antigenice HIV suplimentare cuprinzând secvențele de aminoacizi selectate din grupul constând din SECV ID NR: 28 și 29.

10 Un alt aspect general al invenției se referă la un kit care cuprinde o combinație de vaccin conform unei variante de realizare a invenției.

Alte exemple de realizare ale proteinei anvelopei HIV sintetice, vectori de expresie, vectori de expresie suplimentari, polipeptide antigenice HIV codificate de către vectorii de expresie și polipeptide antigenice izolate etc., care pot fi utilizate în combinațiile de vaccin ale invenției sunt discutate în detaliu mai sus și în exemplele ilustrative de mai jos.

15

Metoda pentru inducerea imunității de protecție împotriva infecției cu HIV

20 Invenția se referă, de asemenea, la o metodă de a induce un răspuns imun împotriva unui sau mai multor grupuri HIV la un subiect care are nevoie de acesta. Metodele descrise în conținut includ metode de inițiere și stimulare a unui răspuns imun folosind unul sau mai mulți vectori de expresie în combinație cu unul sau mai multe polipeptide antigenice izolate.

25 Într-un aspect general, o metodă de inducere a unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect cuprinde administrarea către subiect a unei compoziții cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector de expresie cuprinzând un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8. Oricare dintre compozițiile descrise în conținut poate fi utilizată într-o metodă de inducere a unui răspuns imun împotriva HIV la un subiect. De preferință, compoziția cuprinde un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, cuprinzând un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18. Compoziția poate cuprinde în continuare unul sau mai mulți vectori suplimentari care codifică

30 unul sau mai mulți vectori mai multe polipeptide antigenice HIV și/sau una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate suplimentare.

Într-un alt aspect general, o metodă de inducere a unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect cuprinde:

35 (i) administrarea către subiect a unei prime compoziții cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector de expresie care codifică o proteină a anvelopei HIV mozaic având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate dintre grupul format din (a) I529P, (b) K480E și (c) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C și un purtător;

40 (ii) administrarea către subiect a unei doua compoziții cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-o polipeptidă antigenică HIV și un purtător izolat; și

(iii) opțional, administrarea către subiect a unei cantități eficiente imunogen de unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari care codifică unul sau mai multe polipeptide antigenice HIV, în care etapele (i) și (ii) sunt efectuate în oricare ordine, cu una dintre etapele pentru inițierea imunizării și cu cealaltă etapă pentru stimularea imunizării. Conform exemplelor de realizare ale invenției, cantitatea opțională, eficientă, a unui sau mai mulți vectori de expresie suplimentari este administrată împreună cu prima compoziție sau a doua compoziție. Într-o realizare preferată, cantitatea efectivă opțională a unui sau mai multor vectori de expresie suplimentari este administrată împreună cu prima compoziție.

45

50 Într-o realizare particulară a unei metode de inducere a unui răspuns imun, prima compoziție cuprinde un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetice cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 și un al doilea vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; a doua compoziție cuprinde o polipeptidă antigenică HIV izolată având reziduuri 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduurile 30-724 din SECV ID NR: 36; și unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari sunt vectori adenovirus, de preferință vectori adenovirus 26, care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV cuprinzând secvențe de aminoacizi selectate din grupul constând din SECV ID NR: 28 și 29; în care prima compoziție este administrată subiectului, împreună cu unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari, de una sau de mai

55

60 multe ori pentru inițierea imunizării, iar a doua compoziție este administrată subiectului de una sau de mai multe ori pentru stimularea imunizării.

Administrarea compozițiilor imunogene cuprinzând vectorii de expresie și/sau polipeptide antigenice este de obicei intramusculară, intradermică sau subcutanată. Cu toate acestea, pot fi avute în vedere și alte moduri de administrare, cum ar fi intravenoasă, rectală, cutanată, orală, nazală etc. Administrarea intramusculară a compozițiilor imunogene poate fi realizată prin utilizarea unui ac pentru a injecta o suspensie a vectorilor de expresie, de exemplu vectori adenovirus și/sau polipeptide antigenice. O alternativă este utilizarea unui dispozitiv de injecție fără ac pentru a administra compoziția (de exemplu, Biojector™) sau o pulbere uscată prin congelare care conține vaccinul.

Pentru injecții intramusculare, intravenoase, cutanate sau subcutanate sau injecții la locul afectării, vectorul va fi sub forma unei soluții apoase acceptabile din punct de vedere parenteral, care nu conține pirogen și are un pH, izotonicitate și stabilitate adecvate. De asemenea, polipeptida antigenică izolată va fi sub forma unei soluții acceptabile din punct de vedere parental, având un pH, izotonicitate și stabilitate adecvate. Specialiștii în domeniu sunt capabili să pregătească soluții adecvate folosind, de exemplu, vehicule izotonice, cum ar fi Injecția clorurii de sodiu, Injecția soluției Ringer, Injecția soluției Ringer lactat. Pot fi incluși conservanți, stabilizanți, tampoane, antioxidanți și/sau alți aditivi, după cum este necesar. O formulare cu eliberare lentă poate fi de asemenea folosită.

De obicei, administrarea compozițiilor de vaccin conform exemplelor de realizare a invenției va avea un scop profilactic de a genera un răspuns imun împotriva unui antigen HIV înainte de infecția sau dezvoltarea simptomelor. În alte exemple de realizare, vectorii de expresie, de exemplu, vectori adenovirus și/sau polipeptide antigenice HIV pot fi administrați pentru profilaxie post-expunere.

Compozițiile imunogene care conțin vectori de expresie, de exemplu, vectori adenovirus și/sau polipeptide antigenice sunt administrate la un subiect, dând naștere la un răspuns imun anti-HIV la subiect. O cantitate dintr-o compoziție suficientă pentru a induce un răspuns imun detectabil este definită a fi o "doză eficientă imunogen" sau "o cantitate eficientă imunogen". Într-o realizare tipică a invenției, răspunsul imunitar este un răspuns imun protector.

Cantitatea administrată și rata și timpul de administrare vor depinde de natura și gravitatea tratamentului. Prescripția tratamentului, de exemplu, deciziile privind dozajul etc., este în responsabilitatea medicilor generaliști și a altor medici sau, în context veterinar, a unui medic veterinar și, în mod obișnuit, ține cont de tulburarea de tratat, de starea pacientului individual, locul de livrare, metoda de administrare și alți factori cunoscuți practicienilor. Exemple de tehnici și protocoale menționate mai sus pot fi găsite în Remington's Pharmaceutical Sciences, ediția a 16-a, Osol, A. ed., 1980.

După producerea de vectori adenovirus și formularea opțională a acestor particule în compoziții, vectorii pot fi administrați la un individ, în special la un om sau alt primat. Livrarea către un mamifer non-uman nu trebuie să aibă un scop terapeutic, ci poate fi utilizată într-un context experimental, de exemplu în investigarea mecanismelor răspunsurilor imune la proteina anvelopei HIV sintetică exprimată de vectorii adenovirus ai invenției.

Intr-o realizare a metodelor dezvăluite, unul sau mai mulți vectori adenovirus care codifică unul sau mai mulți polipeptide antigenice HIV sunt utilizați pentru a primi răspunsul imun. Unul sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate pot fi utilizate împreună cu unul sau mai mulți vectori adenovirus pentru imunizarea primară. Imunizarea amorsă poate fi administrată o singură dată, dar poate fi opțional, de asemenea, administrată de mai multe ori, de exemplu, administrarea inițială de inițiere la ora 0, urmată de o altă administrare de inițiere aproximativ 4-14 săptămâni, de exemplu 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 sau 14 săptămâni, sau în orice moment între timp, după administrarea inițială. Pentru a stimula răspunsul imun, pot fi utilizate una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate, împreună cu unul sau mai mulți adenovirus suplimentari sau alți vectori care codifică unul sau mai mulți polipeptide antigenice HIV. O imunizare stimulantă poate fi de asemenea administrată o dată sau de mai multe ori, de exemplu, mai întâi la aproximativ 18-36, de exemplu 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 sau 36 de săptămâni, sau în orice moment între timp, după administrarea inițială de inițiere, urmată de o altă administrare stimulantă la aproximativ 36-52, de ex 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 sau 60 săptămâni sau în orice moment între timp, după administrarea inițială de inițiere. Răspunsul imun indus de imunizare este monitorizat.

Realizările metodelor dezvăluite au în vedere, de asemenea, regimuri de impulsuri mai scurte, ceea ce înseamnă că imunizarea cu impuls final este administrată la aproximativ 22-26 săptămâni după administrarea inițială. Imunizarea de inițiere poate fi administrată în săptămâna 0. Imunizarea de stimulare poate fi administrată de mai multe ori, de exemplu, mai întâi la aproximativ 7-9 săptămâni sau 11-13 săptămâni sau la aproximativ 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 sau 14 săptămâni sau orice moment între timp, după administrarea de inițiere, urmată de o altă

administrare stimulantă la aproximativ 22-26 săptămâni sau la aproximativ 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 sau 28 de săptămâni, sau în orice moment între timp, după administrarea de inițiere. În anumite realizări, una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate sunt administrate împreună cu unul sau mai mulți vectori adenovirus pentru inițierea și/sau stimularea

5

imunizării. Specialiștii în domeniu apreciază cu ușurință că regimul de administrare primară și de stimulare poate fi ajustat pe baza răspunsurilor imune măsurate după administrări. De exemplu, compozițiile stimulante sunt, în general, administrate săptămâni sau luni după administrarea compoziției de inițiere, de exemplu, aproximativ 2-3 săptămâni sau 4 săptămâni, sau 8 săptămâni sau 16 săptămâni, sau 20 săptămâni sau 24 săptămâni sau 28 săptămâni sau 30 de săptămâni sau 32 de săptămâni sau la unu-doi ani după administrarea compoziției de inițiere.

10

Conform realizărilor invenției, un adjuvant poate fi administrat împreună cu polipeptida antigenică HIV izolată ca parte a inițierii și/sau stimularea imunizării. Orice adjuvant poate fi utilizat având în vedere prezenta descriere, și în anumite variante de realizare, adjuvantul este o sare de aluminiu, cum ar fi AdjuPhos.

15

Intr-o realizare preferată a invenției, vectorii adenovirus utilizați în metodele dezvăluite în conținut includ un vector rAd26. De preferință, un vector rAd26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18 sau SECV ID NR: 19, cel mai preferabil SECV ID NR: 18, este utilizat pentru a primi răspunsul imun, singur sau în combinație cu unul sau mai mulți vectori rAd26 suplimentari care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV, cum ar fi mos1Env având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5 și o polipeptidă antigenică izolată cu HIV, cum ar fi cea care cuprinde reziduurile 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduuri 30-724 din SECV ID NR: 36, este utilizat pentru a stimula răspunsul imun, sau invers.

20

25

Intr-o realizare exemplificativă, un vector rAd26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18 este utilizată pentru a primi răspunsul imun în combinație cu un vector rAd26 care codifică o polipeptidă antigenică HIV având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5. Unul sau mai mulți vectori suplimentari rAd26 care codifică unul sau mai multe polipeptide antigenice HIV cu secvențe de aminoacizi selectate din grupul format din SECV ID NR: 1-4, 28 și 29 pot fi de asemenea administrate împreună cu ceilalți vectori rAd26 pentru a primi răspunsul imun. Administrarea de inițiere în anumite realizări este administrată de două ori înainte de administrarea oricărei imunizări stimulante. O polipeptidă antigenică izolată HIV, cum ar fi cea care cuprinde reziduurile 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 (de preferință) sau care cuprinde reziduurile 30-724 ale secvenței de aminoacizi din SECV ID NR: 36 sau o combinație de cel puțin două dintre astfel de polipeptide antigenice HIV izolate, este apoi administrată pentru a stimula răspunsul imun și este de preferat administrată mai mult de o dată. De preferință, un adjuvant este administrat suplimentar cu polipeptida antigenică HIV izolată în imunizarea de stimulare.

30

35

40

Intr-o realizare particulară, răspunsul imun este determinat de administrarea a patru antigene HIV codificate pe vectori adenovirali, de preferință vectori rAd26, cei patru antigeni care sunt codificați: (i) o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi a SECV ID NR: 18, (ii) polipeptidă care are secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5, (iii) polipeptidă având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28 și (iv) polipeptidă care are secvența de aminoacizi a SECV ID NR: 29. Fiecare dintre aceste patru antigene pot fi codificate pe un vector adenoviral separat, de preferință un vector rAd26, administrat într-o doză totală de aproximativ $1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$ sau 10×10^{10} particule virale (vp), de exemplu aproximativ 5×10^{10} vp (pentru toți vectorii împreună). Vectorii pot fi preamestecați, de exemplu într-un raport 1:1:1:1. Administrarea de inițiere poate fi repetată după administrarea de inițiere, de exemplu la 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 sau 16 săptămâni după administrarea de inițiere. În această realizare, un răspuns imun este stimulat prin administrarea aceluiași vaccin vector adenoviral utilizat pentru administrarea de inițiere împreună cu proteina izolată HIV Env gp140, de exemplu proteină grup C gp140 (care conține reziduuri 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7) sau proteină gp140 mozaic (care conține reziduuri 30-724 din secvența de aminoacizi a SECV ID NR: 36) sau proteină gp140 grup C și proteină mozaic gp140, la o doză totală de aproximativ 50-300 μ g proteină, de ex 50, 100, 150, 200, 250 sau 300 micrograme, sau orice cantitate între ele, a proteinei gp140 grup C, sau de exemplu 50, 100, 150, 200, 250, sau 300 micrograme, sau orice cantitate între proteine mozaic gp140 sau, de exemplu 50, 100, 150, 200, 250 sau 300 micrograme, sau orice cantitate între ele, dintr-o combinație de proteină gp140 grup C și proteină gp140 mozaic (de exemplu, într-un raport 1: 1, fie amestecate împreună, fie administrate separat). De preferință, proteina gp140 este administrată împreună cu adjuvant, de exemplu fosfat de aluminiu. Administrarea de adenovirus proteină plus gp140 pentru a stimula răspunsul imun poate fi

45

50

55

60

efectuată la aproximativ 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 sau 30 de săptămâni sau în orice moment între timp, după administrarea de inițiere. Administrarea de stimulare poate fi repetată, de exemplu la aproximativ 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 sau 54 de săptămâni sau în orice moment între timp, după administrarea de inițiere. Toate administrările conform acestei realizări sunt de preferință efectuate pe calea intramusculară.

REALIZĂRI

Realizarea 1 este un acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul constând din (i) I529P, (ii) K480E, și (iii) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C.

Realizarea 2 este un acid nucleic conform realizării 1, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde suplimentar o secvență semnal, de exemplu o secvență semnal cuprinzând secvența de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 9 până la 12, de preferință SECV ID NR: 9.

Realizarea 3 este un acid nucleic conform realizării 1 sau 2, în care proteina anvelopei HIV sintetică mai cuprinde un domeniu transmembranar, de exemplu un domeniu transmembranar având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 13, de preferință proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde suplimentar SECV ID NR: 37 care este fuzionat la capătul C terminal al SECV ID NR: 8 și capătul N-terminal al domeniului transmembranar.

Realizarea 4 este un acid nucleic conform realizării 3, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un fragment dintr-un domeniu citoplasmatic, de preferință un fragment al unui domeniu citoplasmatic cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 14 sau resturi de aminoacizi 1-4 din acestea (adică NRVR).

Realizarea 5 este un acid nucleic conform cu oricare dintre realizările anterioare 1-4, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.

Realizarea 6 este un acid nucleic conform realizării 1 sau 2, în care proteina anvelopei HIV sintetică fie (a) cuprinde în plus un domeniu de trimerizare selectat din grupul format din GCN4, fibrină (domeniu foldon), de exemplu un domeniu de trimerizare având amino secvența acidă a SECV ID NR: 15 sau SECV ID NR: 16, de preferință SECV ID NR: 15 sau (b) cuprinde SECV ID NR: 8 cu o combinație a următoarelor mutații: EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C.

Realizarea 7 este un acid nucleic conform realizării 6, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 19.

Realizarea 8 este un acid nucleic conform realizării 5, în care proteina anvelopei HIV sintetică este formată din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.

Realizarea 9 este un acid nucleic conform realizării 7, în care proteina anvelopei HIV sintetică constă din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 19.

Realizarea 10 este un vector care cuprinde acidul nucleic al oricăreia dintre realizările 1-9, în care acidul nucleic este conectat operabil la o secvență promotor.

Realizarea 11 este un vector conform realizării 10 fiind un vector viral, de preferință un vector adenovirus și mai preferabil un vector adenovirus 26.

Realizarea 12 este o celulă izolată care cuprinde vectorul din realizarea 10 sau din realizarea 11.

Realizarea 13 este o compoziție care cuprinde o cantitate eficientă imunogen din vectorul din realizarea 10 sau din realizarea 11, și un purtător.

Realizarea 14 este o combinație de vaccin, care cuprinde o primă compoziție care cuprinde o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector de adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18, o a doua compoziție cuprinzând un cantitate eficientă imunogenic dintr-un al doilea vector adenovirus, de preferință un al doilea vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5 și, opțional, cel puțin o compoziție suplimentară cuprinzând o cantitate eficientă imunogen de cel puțin una selectată din grupul constând dintr-un vector care codifică o polipeptidă antigenică având secvența de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 1-4, 28 și 29 și o polipeptidă antigenică izolată HIV având reziduuri 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduurile 30-724 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 36, în care prima compoziție, a doua compoziție și compoziția suplimentară sunt prezente în aceeași compoziție sau într-una sau mai multe compoziții diferite.

Realizarea 15 este o metodă de inducere a unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect care are nevoie de acesta, metoda cuprinzând

administrarea către subiect a compoziției conform realizării 13 sau a combinației de vaccin conform realizării 14.

Realizarea 16 este o compoziție conform realizării 13 sau o combinație de vaccin conform realizării 14, care cuprinde un vector adenovirus, de preferință un adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18, un al doilea vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5, unul sau mai mulți vectori adenovirus suplimentari care codifică unul sau mai mulți polipeptide antigenice suplimentare cuprinzând secvența de aminoacizi selectată din grupul format din SECV ID NR: 1-4, 28 și 29, și o polipeptidă antigenică HIV izolată cuprinzând reziduurile 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduurile 30-724 din SECV ID NR: 36, pentru utilizare în inducerea unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV).

Realizarea 17 este o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul format din (i) I529P, (ii) K480E și (iii) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C.

Realizarea 18 este o proteină a anvelopei HIV sintetică din realizarea 17, care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 cu o combinație de mutații EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C, sau reziduurile 30-704 ale secvenței de aminoacizi SECV ID NR: 18 sau reziduuri 30-686 din SECV ID NR: 19.

Realizarea 19 este o compoziție conform realizării 13, care mai cuprinde unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari care codifică unul sau mai multe polipeptide antigenice HIV și/sau una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate.

Realizarea 20 este o compoziție conform realizării 13 care cuprinde un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică constând din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.

Realizarea 21 este o compoziție conform realizării 20 care cuprinde suplimentar un al doilea vector adenovirus, de preferință un adenovirus 26 vector, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5 și, opțional, unul sau mai mulți vectori adenovirus suplimentari, de preferință adenovirus 26 de vectori, care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV cuprinzând secvențe de aminoacizi ale SECV ID NR: 1-4, 28 și 29.

Realizarea 22 este o metodă de a produce un răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect care are nevoie de acesta, metoda cuprinzând administrarea către subiect unei compoziții conform oricăreia dintre realizările 19, 20 sau 21.

Realizarea 23 este o metodă de producere a unei compoziții sau a unei combinații de vaccinuri, care cuprinde combinarea vectorului din realizarea 10 sau din realizarea 11 cu un purtător și, opțional, unul sau mai mulți vectori suplimentari care codifică unul sau mai multe polipeptide antigenice HIV și/sau una sau mai multe polipeptide antigenice HIV izolate într-una sau mai multe compoziții, împreună cu un purtător.

Realizarea 24 este o combinație de vaccin pentru inducerea unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect, cuprinzând:

(i) o primă compoziție care cuprinde o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector de expresie care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul format din (i) I529P, (ii) K480E, și (iii) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C și un purtător; și

(ii) o a doua compoziție cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-o polipeptidă antigenică HIV și un purtător izolați,

în care una din prima și a doua compoziție este destinată inițierii imunizării și cealaltă compoziție este pentru stimularea imunizării și

în care combinația de vaccin cuprinde în mod opțional o cantitate eficientă imunogen de unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari care codifică una sau mai multe polipeptide antigenice HIV și unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari sunt incluși în prima sau a doua compoziție sau una sau mai multe compoziții suplimentare pentru a fi utilizat împreună cu prima sau a doua compoziție.

Realizarea 25 este o combinație de vaccin conform realizării 24, în care prima compoziție cuprinde un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18; polipeptida antigenică HIV izolată cuprinde resturile 30-708 din secvența de aminoacizi a SECV ID NR: 7 sau resturile 30-724 ale SECV ID NR: 36; iar unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentară sunt vectori adenovirus, de preferință vectori adenovirus 26, care codifică una sau mai multe polipeptide

antigenice HIV cuprinzand secvențe de aminoacizi selectate din grupul constând din SECV ID NR: 1-5, 28 și 29.

Realizarea 26 este o metodă de inducere a unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând:

- 5 (i) administrarea către subiect a unei prime compoziții cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector de expresie care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate dintre grup format din (i) I529P, (ii) K480E și (iii) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C și un purtător;
 - 10 (ii) administrarea către subiect a unei doua compoziții cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-o polipeptidă antigenică HIV și un purtător izolați; și
 - (iii) opțional, administrarea către subiect a unei cantități eficiente imunogen de unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentari care codifică unul sau mai multe polipeptide antigenice HIV,
 - 15 în care etapele (i) și (ii) sunt efectuate în oricare ordine, cu una dintre etapele pentru inițierea imunizării și cu cealaltă etapă pentru stimularea imunizării, și de preferință, cantitatea opțională, efectivă, a unuia mai mulți vectori de expresie este administrată împreună cu prima compoziție.
- Realizarea 27 este o metodă conform realizării 26, în care prima compoziție cuprinde un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18 și un al doilea vector adenovirus, de preferință și vectorul adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând
- 20 secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; a doua compoziție cuprinde o polipeptidă antigenică HIV izolat având reziduuri 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduurile 30-724 din SECV ID NR: 36; iar unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentare sunt vectori adenovirus, de preferință vectori adenovirus 26, care codifică unul sau mai multe polipeptide
- 25 antigenice HIV cuprinzand secvențe de aminoacizi selectate din grupul constând din SECV ID NR: 28 și 29; în care prima compoziție este administrată subiectului, opțional împreună cu unul sau mai mulți vectori de expresie suplimentare, de una sau de mai multe ori pentru a iniția imunizarea, iar a doua compoziție este administrată subiectului de una sau de mai multe ori pentru stimularea imunizării.
- 30 Realizarea 28 este o proteină a anvelopei HIV sintetică care constă din secvența de aminoacizi a SECV ID NR: 18 sau SECV ID NR: 19, cu sau fără secvența semnal.
- Realizarea 29 este o combinație de vaccin cuprinzand unul sau mai mulți vectori care conțin secvențe de acid nucleic care codifică (i) o primă proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 și (ii) o a doua proteină a anvelopei HIV sintetică
- 35 cuprinzand aminoacidul secvența SECV ID NR: 5.
- Realizarea 30 este o combinație de vaccin conform realizării 29, în care prima proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.
- Varianta 31 este o combinație de vaccin care cuprinde următoarele componente:
- 40 (i) un vector Ad26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică constând din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18; și
- (ii) un vector Ad26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică constând din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5.
- Realizarea 32 este o combinație de vaccin conform realizării 31, care mai cuprinde următoarea componentă:
- 45 (iii) un vector Ad26 care codifică antigene HIV constând din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28.
- Realizarea 33 este o combinație de vaccin conform realizării 31 sau 32, care mai cuprinde următoarea componentă:
- 50 (iv) un vector Ad26 care codifică antigene HIV constând din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 29.
- Realizarea 34 este o combinație de vaccin conform oricăreia dintre variantele 31-33, care mai cuprinde următoarea componentă:
- 55 (v) polipeptidă antigenică HIV izolată având reziduurile 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduurile 30-724 ale secvenței de aminoacizi din SECV ID NR: 36, opțional cuprinzand suplimentar un adjuvant.
- Realizarea 35 este o metodă de inducere a unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect uman care are nevoie de acesta, metoda cuprinzând:
- 60 (a) administrarea către subiect: (i) a unui vector rAd26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18; (ii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; (iii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28; și (iv)

un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 29; de preferință, în care vectorii rAd26 sunt administrați într-un raport de aproximativ 1: 1: 1 la o doză totală de aproximativ $1-10 \times 10^{10}$ particule virale (vp), de exemplu 5×10^{10} vp;

(b) repetarea etapei (a) la aproximativ 10-14 săptămâni, de exemplu la 12 săptămâni după etapa (a);

(c) administrarea către subiect: (i) a unui vector rAd26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18; (ii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; (iii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28; (iv) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 29; (v) proteină HIV gp140 izolată având secvența de aminoacizi 30-708 din SECV ID NR: 7; și (vi) adjuvant cu fosfat de aluminiu; de preferință, în care vectorii rAd26 sunt administrați într-un raport de aproximativ 1: 1: 1 la o doză totală de aproximativ $1-10 \times 10^{10}$ particule virale (vp), de exemplu 5×10^{10} vp și în care proteina izolată HIV gp140 este administrată în doză de aproximativ 50-300 micrograme, de exemplu 250 micrograme; la aproximativ 20-28 de săptămâni, de exemplu la 24 de săptămâni după etapa (a); și

(d) etapa de repetare (c) la aproximativ 42-54 săptămâni, de exemplu la 48 de săptămâni după etapa (a).

Realizarea 36 este o metodă de a induce un răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect uman care are nevoie de acesta, metoda cuprinzând:

(a) administrarea către subiect: (i) a unui vector rAd26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18; (ii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; (iii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28; și (iv) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 29; de preferință, în care vectorii rAd26 sunt administrați într-un raport de aproximativ 1: 1: 1 la o doză totală de aproximativ $1-10 \times 10^{10}$ particule virale (vp), de exemplu 5×10^{10} vp;

(b) repetarea etapei (a) la aproximativ 10-14 săptămâni, de exemplu la 12 săptămâni după etapa (a);

(c) administrarea către subiect: (i) a unui vector rAd26 care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18; (ii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; (iii) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 28; (iv) un vector rAd26 care codifică un antigen care cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 29; (v) proteină HIV gp140 izolată având secvența de aminoacizi 30-708 din SECV ID NR: 7; (vi) proteină HIV gp140 izolată având secvența de aminoacizi 30-724 din SECV ID NR: 36; și (vii) adjuvant cu fosfat de aluminiu; de preferință, în care vectorii rAd26 sunt administrați într-un raport de aproximativ 1: 1: 1 la o doză totală de aproximativ $1-10 \times 10^{10}$ particule virale (vp), de exemplu 5×10^{10} vp și în care proteinele izolate HIV gp140 sunt administrate într-un raport de aproximativ 1: 1 la o doză totală de aproximativ 50-300 micrograme, de exemplu 250 micrograme; la aproximativ 20-28 de săptămâni, de exemplu la 24 de săptămâni după etapa (a); și

(d) etapa de repetare (c) la aproximativ 42-54 săptămâni, de exemplu la 48 de săptămâni după etapa (a).

45 **EXEMPLE**

Exemplul 1: Proiectarea secvențelor antigenului anvelopei HIV

Mai multe secvențe de antigen a anvelopei HIV au fost proiectate având similaritate cu secvența de antigen mozaic HIV mos2Env (SECV ID NR: 6; descris anterior și în publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2010/059732). Secvențele nou proiectate, legate de membrană, s-au bazat pe (o combinație de) secvențe complet naturale de tip sălbatic din proteinele anvelopei HIV sau pe o himeră de secvență de mos2Env și secvențe proteice de tip sălbatic HIV. În plus față de secvențele de proteine anvelopei cu lungime întreagă (a se vedea figura 1A), au fost proiectate și secvențe care au trunchiere la capătul C-terminal al domeniului citoplasmic (vezi, de exemplu, figura 1C). A se vedea, de exemplu, Schiernle și colab., PNAS 1997; Abrahamyan și colab., J Virol 2005); Edwards și colab., J. Virology, 2002, 76: 2683-2691. Variante solubile au fost de asemenea preparate prin trunchiere la capătul C-terminal înainte de regiunea transmembrană (TM), care a fost înlocuită cu un domeniu de trimerizare, cum ar fi un domeniu de trimerizare GCN4 (vezi, de exemplu, figura 1B). Aceste variante solubile au fost transformate în continuare într-o singură variantă de lanț prin mutația situsului de clivaj furin, inhibând astfel prelucrarea domeniului extracelular al proteinei anvelopei în subunități gp120 și gp41.

Dintre toate structurile generate și testate, structurile bazate pe C4 aveau cele mai optime proprietăți, de exemplu, o bună manevrabilitate, pliere, imunogenitate etc., iar acestea au fost selectate pentru studii ulterioare. Au fost, de asemenea, generate o variantă solubilă a constructului C4 având un domeniu de trimerizare GCN4 în locul domeniului transmembranar (sC4, fig. 1B) și o variantă cuprinzând un fragment de 7 aminoacizi din domeniul citoplasmic (C4D7, fig. 1C). și testat în studii ulterioare. Secvențele de aminoacizi ale C4, sC4 și C4D7 sunt prezentate în SECV ID NR: 17, 19 și, respectiv, 18. Secvențele care codifică acestea sunt arătate în SECV ID NR: 25, 27 și, respectiv, 26. Constructul C1 are o secvență de domeniu extracelular bazată pe secvența mos2Env (SECV ID NR: 6). O variantă solubilă a constructului C1 având un domeniu de trimerizare GCN4 în locul domeniului transmembranar (sC1) și o variantă care cuprinde un fragment de 7 aminoacizi din domeniul citoplasmic (C1D7), similar cu sC4 și C4D7, așa cum se arată în fig. 1B și 1C au fost, de asemenea, generate. Constructul C1 și variantele sale au fost utilizate în studii ulterioare în scopuri de comparație, deoarece acestea se bazează esențial pe secvența mos2Env din stadiul tehnicii. Secvențele de aminoacizi ale C1, sC1 și C1D7 sunt prezentate în SECV ID NR: 31, 30 și, respectiv, 32. Secvențele de acid nucleic care codifică acestea sunt arătate în SECV ID NR: 34, 33 și, respectiv, 35. Alte structuri care au fost testate au fost mai puțin optime decât cele bazate pe constructul C4 și nu au fost preluate în continuare.

20 **Exemplul 2: Expresia și plierea proteinelor anvelopei HIV sintetice**

Au fost măsurate nivelul de expresie, plierea și expresia de suprafață celulară a proteinelor anvelopei HIV sintetice.

Niveluri de expresie

25 Celulele HEK293F au fost transfectate tranzitoriu cu o plasmidă care codifică proteinele sintetice HIV solubile sC1 și sC4, așa cum este descris în Exemplul 1. Nivelurile de expresie ale proteinei solubile au fost măsurate în supernatant folosind Western blot cantitativ (QWB). Rezultatele sunt prezentate în fig. 2. Nivelurile scăzute de expresie pentru sC1 (care în esență corespunde mos2Env cu un domeniu transmembranar adăugat) sunt în conformitate cu
30 perspectivele noastre recente pentru mos2Env. După cum au demonstrat rezultatele, varianta sC4 a invenției a arătat niveluri de exprimare semnificativ mai mari decât varianta sC1 (control).

Plierea proteinelor

Plierea proteinei a fost testată prin măsurarea legării proteinelor anvelopei HIV sintetice solubile la un anticorp (MAb 17b) cunoscut pentru a lega locul de legare co-receptor al proteinei anvelopei HIV, care este expus numai după legarea CD4, prin testul imunosorbentului legat de enzimă (ELISA). În special, legarea sC4 purificată a fost testată pentru legarea la MAb 17b cu legarea prealabilă a sC4 la CD4 și fără legarea prealabilă a sC4 la CD4. SC1 purificat a fost utilizat ca un control. Legarea MAb 17b la sC4 fără legarea CD4 prealabilă la proteina anvelopei este o
40 indicație a proteinei anvelopei parțial desfășurate sau pre-declanșate (adică, un Env instabil care adoptă conformația "deschisă" în absența legării CD4). Rezultatele testului ELISA sunt prezentate în FIG. 3A și 3B.

Așa cum se arată în fig. 3B, sC4 prezintă o legare puternică la MAb 17b cu legare prealabilă la CD4, dar nici o legătură detectabilă la MAb 17b fără legarea prealabilă la CD4. În schimb, așa cum se arată în fig. 3A, sC1 au arătat o legătură mult mai mică la MAb 17 atât cu legare, cât și fără legare prealabilă la CD4. Rezultatele sugerează că sC4 are un model de pliere corect, fără expunerea site-ului de legare co-receptor înainte de legarea CD4.

Plierea proteinei a fost, de asemenea, analizată prin electroforeza pe gel de poliacrilamidă naturală (PAGE) a sC1 și sC4 pentru a evalua structura cuaternară a variantelor de
50 proteine solubile și posibila formare incorectă a punții de disulfură între protomeri. După electroforeza pe un gel nativ, proteina din gel a fost detectată prin analiza Western blot. După cum arată rezultatele din fig. 4, majoritatea sC4 este prezentă într-o stare trimerică, care este structura cuaternară corectă.

55 Luate împreună, rezultatele experimentelor de pliere a proteinei demonstrează că proteina anvelopei HIV sintetică solubilă sC4 are profilul de pliere dorit, care este îmbunătățit în comparație cu profilul de pliere al antigenului mos2Env existent (reprezentat de sC1).

Expresia suprafeței celulare

60 De asemenea, a fost studiată expresia de suprafață celulară a variantelor legate de membrană ale proteinelor anvelopei HIV C1 (lungime întreagă), C4 (lungime întreagă, a se vedea figura 1A), C1D7 și C4D7. Celulele HEK293T au fost transfectate tranzitoriu doar cu plasmidă

care codifică eGFP (control negativ, NC) sau cu plasmidă care codifică eGFP împreună cu un construct de expresie care codifică o variantă de proteină a anvelopei HIV sintetică. După două zile după transfecție, celulele au fost supuse unei sortări de celule activate prin fluorescență (FACS) - analiză la expunerea la mai mulți anticorpi poli- și monoclonali îndreptați împotriva gp120, și anticorpi secundari, și apoi examinați pentru nivelurile de expresie ale proteinei de suprafață. Calitatea variantelor anvelopei a fost evaluată prin determinarea nivelurilor de expresie generale utilizând un anticorp policlonal anti-gp120 și prin evaluarea legării relative a anticorpilor cu neutralizare largă PG9 și PG16, care sunt dependenți de structura cuaternară, și se leagă preferențial la trimerul de anvelopă corect pliat.

Rezultatele experimentelor de exprimare a suprafeței celulare sunt prezentate în fig. 5. Nivelurile de expresie de suprafață ale variantelor trunchiate C1D7 și C4D7, măsurate folosind un anticorp anti-gp120, sunt mult mai mari decât nivelurile de expresie de suprafață ale omologilor lor de lungime întreagă, respectiv C1 și C4. Acest lucru confirmă că ștergerea a 144 de reziduuri din capătul carboxil terminal al Env crește nivelurile de exprimare a suprafeței anvelopei. Construcția C4 de lungime completă a invenției a arătat, de asemenea, o legătură îmbunătățită PG9 și PG16 în comparație cu C1 de lungime completă, ceea ce sugerează că secvența anvelopei C4 este pliată în mod corespunzător (adică un trimer) pe suprafața celulei.

Rezultatele demonstrează, de asemenea, că varianta C1D7, care este în esență Mos2Env cu un domeniu transmembranar adăugat și 7 aminoacizi ai domeniului citoplasmatic, pot fi exprimate la suprafață pe celulele HEK293T. Acest lucru este în contrast cu constructul solubil din Ad26.mos2Env, care nu poate fi exprimat la niveluri detectabile pe suprafață atunci când este transfectat în celule A549. Cu toate acestea, legarea relativă la PG9 și PG16 este abia detectabilă deasupra fundalului, ceea ce sugerează că secvența anvelopei C1D7 este slab pliată și probabil că nu este prezentă ca un trimer intact pe suprafața celulei.

În general, varianta anvelopei C4D7 are cel mai optim profil de legare a anticorpilor, cu expresie gp120 mai mare decât omologul său C4 cu lungime întreagă și cu o legătură mai mare de 15 ori a PG9 și PG16 în comparație cu C1 și C1D7 (fig. 5).

Exemplul 3: Stabilitatea vectorilor care codifică secvențele anvelopei HIV

Lucrările anterioare din laboratoarele noastre (nepublicate) au indicat faptul că vectorii adenovirus 26 (Ad26) care codifică secvența antigenului mos2Env au arătat raporturi VP/IU relativ ridicate (indicând o calitate mai mică a loturilor de produse adenovirus) și, în plus, că astfel de vectori prezintă probleme de stabilitate. În consecință, a fost important să se testeze stabilitatea constructelor proteice sintetice cu HIV ale invenției într-un fond de adenovirus.

Vectorii recombinanți Ad26 (rAd26) care codifică secvențele de antigen HIV conform invenției C4, C4D7 și sC4, așa cum s-a descris mai sus în Exemplul 1, au fost generate în celulele PER.C6 (denumite "rAd26.C4", "rAd26.C4D7" și, respectiv "rAd26.sC4"). Clone vectoriale (plăci) au fost selectate și extinse pentru generarea loturilor de cercetare. Un maxim de 5 clone virale (plăci) au fost reduse până la formatul T25 și pasate în serie pentru 10 pasaje în format T25 (pasajele 1-3 fiind etapele de transfecție și purificare a plăcilor, urmate de 10 pasaje în format T25, rezultând un total din 13 pasaje). Stabilitatea genetică a fost evaluată la numărul de pasaje virale (vpn) 3, 5, 10 și 13 printr-o analiză PCR a casetei transgenice E1, urmată de secvențarea la vpn 13. Rezultatele sunt prezentate în fig. 6.

Vectorii rAd26 care codifică C4 de lungime întreagă (rAd26.C4) au arătat caracteristici de creștere slabe, determinate de niciun efect citopatogenic complet (CPE) în 2-3 zile; instabilitate genetică, determinată de ștergerea regiunii casetei transgenice E1; sau o combinație a acestora (fig. 6). Datorită caracteristicilor slabe de creștere și instabilității genetice observate, acest vector care codifică C4 de lungime întreagă nu a fost urmărit în continuare.

În schimb, pentru vectorii rAd26 care codifică C4D7 (rAd26.C4D7) și sC4 (rAd26.sC4), toate plăcile propagate au rămas stabile genetic în timpul experimentului (fig. 6). Astfel, noile constructe sC4 și C4D7 depășesc constructul inițial mos2Env în ceea ce privește stabilitatea pe un fundal vectorial adenoviral. Testarea stabilității genetice față de vpn 13 reprezintă propagarea mai multor pasaje dincolo de cea utilizată la pregătirea pe scară industrială a vectorilor.

Exemplul 4: Expresie și antigenicitatea *in vivo* a secvențelor anvelopei HIV în vectori adenovirus

Expresia și antigenicitatea rAd26.C4D7 și rAd26.sC4 au fost evaluate separat sau în combinație cu un vector Ad26 recombinant care codifică mos1Env (SECV ID NR: 5) (denumit în continuare "rAd26.mos1Env") în celule vector A549 transducte (linie de celule umane) *in vitro* (datele nu sunt arătate) Analiza citometriei de flux a demonstrat că toate antigenele au fost exprimate în culturile celulare transducte cu 2×10^4 particule virale (vp) ale antigenelor cu o singură

anvelopă sub formă de controale sau cu 1×10^4 vp din cele 2 antigene Env combinate prin transducția adenovirusului. Toate transducțiile au conținut suplimentar doze unice (1×10^4 vp) de vectori adenovirus care codifică mos1GagPol ("rAd26.mos1GagPol") și mos2GagPol ("rAd26.mos2GagPol") (Barouch și colab., Nat Med 2010, 16: 319-323), astfel încât combinațiile de vectori evaluați au prezentat aceleași raporturi relative ale diferiților vectori adenovirali ca fiind destinate utilizării pre-clinice și clinice. De preferință, vectorii care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice conform invenției sunt combinați cu vectori care codifică antigenele mos1GagPol și mos2GagPol pentru utilizare clinică.

Combinația de rAd26.mos1Env și rAd26.C4D7 a dus la o acoperire maximă a epitopilor evaluați, determinată prin legarea anticorpului monoclonal. În special, expunerea epitopului PG16, care a fost contribuit prin transformarea cu Ad26.C4D7, este promițătoare pentru utilizarea vaccinului, deoarece PG16 reprezintă un anticorp monoclonal neutralizant în general, recunoscând regiunea buclelor V1/V2 a HIV-1 Env (Walker și colab., Science. 2009). Prin urmare, proteina anvelopei HIV sintetice conform invenției, derivată din secvența C4, crește lățimea răspunsului imun împotriva proteinei anvelopei HIV în comparație cu răspunsul imun generat doar de mos1Env. S-a dovedit că răspunsurile la anticorp induse de vaccin direcționate către regiunea proteinei anvelopei se corelează cu protecția împotriva infecției cu HIV-1 în studiul RV144 (Haynes și colab., N Engl J Med. 2012), și, astfel, proteina anvelopei HIV sintetice conform invenției este un candidat promițător pentru a include în regimurile de vaccin HIV.

Exemplul 5: Imunogenitatea vectorilor care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice

Secvențele de proteină a anvelopei HIV sintetice conform invenției într-un fundal vector Ad26 au fost testate la iepuri pentru a determina dacă aceste constructe au fost o alternativă imunogenă la constructul rAd26.mos2Env.

S-a testat imunogenitatea vectorului de adenovirus care codifică mos1Env (rAd26.mos1Env; SECV ID NR: 5) și în combinație cu vectori adenovirus care codifică proteinele anvelopei sintetice ale invenției (rAd26.C4D7 și rAd26.sC4; cuprinzând SECV ID NR: 8, în special SECV ID NR: 18 și respectiv 19). În toate cazurile, au fost administrați vectori adenovirus 26 care codifică antigene mos1GagPol și mos2GagPol (rAd26.mos1GagPol [SECV ID NR: 28] și rAd26.mos2GagPol [SECV ID NR: 29]). Mai precis, imunogenitatea rAd26.mos1Env singur (vaccin trivalent: rAd26.mos1GagPol, rAd26.mos2GagPol și rAd26.mos1Env) a fost comparată cu imunogenitatea rAd26.mos1Env în combinație cu unul dintre vaccinurile rAd26.C4D7 sau rAd26.sC4: administrarea fie a rAd26.mos1GagPol, rAd26.mos2GagPol, rAd26.mos1Env și rAd26.C4D7 sau administrarea rAd26.mos1GagPol, rAd26.mos2GagPol, rAd26.mos1Env și rAd26.sC4). Această comparație a vaccinului trivalent, care nu are vectori care codifică proteinele anvelopei HIV sintetice ale invenției, cu vaccinul tetravalent, care conține vectori care codifică proteinele anvelopei sintetice ale invenției, permite determinarea dacă proteinele anvelopei HIV din invenția contribuie la lărgirea protecției.

Administrarea s-a făcut în regimuri de vaccin, în care acești vectori Ad26 au fost administrați la săptămânile 0 și 6 ca o dublă inițiere și o proteină gp140 grup C (o proteină Env gp140 trivalentă având SECV ID NR: 7 fără secvența peptidică semnal a reziduurilor 1-29, vezi și publicația de cerere internațională de brevet de invenție 2010/042942) la săptămânile 12 și 18 ca stimulare dublă (vezi de exemplu Barouch și colab., 2015, Știința 349: 320-324). Tabelul 1 descrie regimurile de vaccin utilizate pentru studiul curent. rAd26. liberă se referă la un vector de control lipsit de orice genă care codifică o secvență pentru o proteină antigenică HIV. Fiecare grup conținea șase iepuri.

Tabelul 1: Regimurile de vaccin testate în studiul de imunogenitate la iepuri

Grup	Prima și a doua Imunizare			A treia și a patra imunizare			N =
	adeno vectori	Doza (vp)	Doza totală (vp)	stimulare proteine	Doza (ug)	Adjuvant	
1	rAd26.Mos1Env	$2,5 \times 10^{10}$	5×10^{10}	GP140 (grupul C)	10	AdjuPhos 250 ug	6
	rAd26.Mos1GagPol	$1,25 \times 10^{10}$					
	rAd26.Mos2Gagpol	$1,25 \times 10^{10}$					
2	rAd26.Mos1Env	$1,25 \times 10^{10}$	5×10^{10}	GP140 (grupul C)	10	AdjuPhos 250 ug	6
	rAd26.C4D7	$1,25 \times 10^{10}$					
	rAd26.Mos1GagPol	$1,25 \times 10^{10}$					

Grup	Prima și a doua Imunizare			A treia și a patra imunizare			N =
	adeno vectori	Doza (vp)	Doza totală (vp)	stimulare proteine	Doza (ug)	Adjuvant	
	rAd26.Mos2Gagpol	1,25x10 ¹⁰					
3	rAd26.Mos1Env	1,25x10 ¹⁰	5x10 ¹⁰	GP140 (grupul C)	10	AdjuPhos 250 ug	6
	rAd26.sC4	1,25x10 ¹⁰					
	rAd26.Mos1GagPol	1,25x10 ¹⁰					
	rAd26.Mos2Gagpol	1,25x10 ¹⁰					
Control	rAd26.liber	5x10 ¹⁰	5x10 ¹⁰	N/A	0	AdjuPhos 250 ug	6

Compararea vaccinului trivalent Ad26 (lipsit de noile antigene Env ale invenției) cu vaccinul tetravalent Ad26 (care cuprinde antigenele sC4 sau C4D7 Env) permite testarea dacă noile antigene contribuie la o largă protecție. Un test stabilit de neutralizare bazat pe celule TZM-bl [Montefiori DC. Mol Biol Methods 2009;485: 395-405; Sarzotti-Kelsoe M și colab., J Immunol Methods 2014;409: 131-146] a fost utilizat pentru a măsura activitatea de neutralizare a candidaților vaccin.

Rezultatele sunt prezentate în Fig. 7 și au fost analizate statistic folosind vaccinul trivalent (grupul 1 din tabelul 1) ca grup de control și comparând cu fiecare dintre noile vaccinuri cvadrivalente (grupele 2 și 3 din tabelul 1).

În general, noul derivat C4 (adică codificarea proteinelor Env cuprinzând SECV ID NR: 8, fiind o alternativă pentru mos2Env), constructele adeno au fost imunogene după două imunizări intramusculare omoloage la iepuri.

Capacitatea de neutralizare a serurilor imune de iepure împotriva pseudovirusurilor de nivel 1B a fost absentă (datele nu sunt prezentate), ceea ce nu este neașteptat, deoarece se știa că astfel de virusuri sunt mai dificil de neutralizat.

Capacitatea de neutralizare a pseudovirusului a serurilor imune de iepure împotriva virusului Tier 1A grup B nu a fost afectată de adăugarea de noi componente (datele nu sunt prezentate). Acest lucru demonstrează că noul antigen nu a afectat negativ imunogenitatea antigenului grupului B prezent în vaccin (deși noile componente au fost direcționate către grupul C, o astfel de interferență nedorită nu a putut fi exclusă a priori de a fi testat).

Capacitatea de neutralizare a pseudovirusului a serurilor imune de iepure împotriva unui virus Tier 1 A grup C a fost semnificativ îmbunătățită în noul cvadrivalent C4D7 care conține adeno (cvadrivalent, grup 2), comparativ cu imunizarea trivalentă (având doar mos1Env) (grupul 1) (Fig 7 panoul B). În plus, capacitatea de neutralizare a pseudovirusului a serurilor imune de iepure împotriva virusului Tier 1A grup C din săptămâna 8 a fost semnificativ îmbunătățită în romanul cvadrivalent sC4 care conține adeno (cvadrivalent, grupul 3), comparativ cu imunizarea trivalentă (având doar mos1Env) (grupul 1) (Fig. 7 panoul B).

În concluzie, constructele C4D7 și sC4 codificate în Ad26 au fost imunogene și adăugarea acestuia a extins capacitatea de legare și neutralizare a unui vaccin care are mos1Env (în principal grupul B) ca unică componentă codată Ad26, către tulpinile C al grupului (Fig 7B).

Exemplul 6: Imunogenitatea regimurilor de vaccin, incluzând vectori care codifică proteinele envelopei HIV sintetice din invenție

Un alt studiu pe iepure a evaluat combinația de vector tetravalent Ad26.Mos4.HIV (constând din patru vectori adenovirali: Ad26.Mos1GagPol [codare SECV ID NR: 28], Ad26.Mos2GagPol [codare SECV ID NR: 29], Ad26.Mos1Env [codare SECV ID NR: 5] și Ad26.Mos2SEnv [denumirea "C4D7", așa cum s-a utilizat mai sus, este de asemenea denumită "Mos2S"; acest vector codifică noua SECV ID NR: 18 conform invenției], într-un mod 1: 1: 1: 1 amestec în doză totală de 5x10⁹ vp,) aplicat intramuscular ca imunizări duble inițiere în săptămânile 0 și 6, în combinație cu proteina recombinantă HIV-1 Env îmbunătățește folosind gp140 Grup C [având secvența reziduurilor de aminoacizi 30-708 din SECV ID NR: 7], gp140 Mozaic [având secvența de resturi de aminoacizi 30-724 din SECV ID NR: 36], sau o combinație de gp140 Grup C și gp140 Mozaic, în săptămânile 13 și 19. Aceste impulsuri proteice au fost aplicate intramuscular la o doză totală de 10 sau 50 micrograme de proteine combinate cu adjuvant de fosfat de aluminiu de 250 mc, formulate în ziua imunizării.

Rezultatele indică faptul că toate regimurile testate au fost imunogene la toate animalele, inducând titruri ridicate de anticorpi și activitate de neutralizare moderată împotriva virusurilor pseudotipate de nivel 1. Dacă gp140 Mozaic a fost utilizat ca antigen pentru vaccin, fie singur, fie în combinație cu gp140, Grup C titlurile ELISA specifice gp140 Mozaic și recunoașterea pseudovirusului Grup B au fost semnificativ crescute la săptămâna 15, comparativ cu grupul de referință sporit doar cu gp140 Grup C. Mărimea efectului general al îmbunătățirii a fost moderată și mai mare pentru grup crescut cu combinația bivalentă gp140 Grup C - gp140 Mozaic în comparație numai cu gp140 Mozaic. În săptămâna 21 a studiului, aceste diferențe au fost pierdute și răspunsurile imune au fost măsurate pentru grupuri care primesc stimulări bivalente gp140 Grup C - gp140 Mozaic sau monovalente gp140 Grup C au fost statistic distincte.

Regimul de proteine bivalente a arătat o inducere comparabilă a titrurilor ELISA Grup C și recunoașterea pseudovirusului ca regim unic de stimulare gp140 Grup C, ceea ce indică faptul că includerea imunogenului gp140 Mozaic grup B nu a avut niciun efect negativ asupra acoperirii antigenului grup C, în timp ce îmbunătățește semnificativ acoperirea grupului B la săptămâna 15 a studiului.

Datele confirmă faptul că vectorul Ad26.Mos2SEnv care codifică un antigen Env sintetic conform invenției poate fi utilizat cu succes în regimurile de vaccin.

REFERINȚE

1. Barouch și colab., Nat Med 2010, 16: 319-323
2. WO 2010/059732
3. Schiernle și colab., PNAS 94: 8640-8645, 1997
4. Abrahamyan și colab., J Virol 79: 106-115, 2005
5. US20120076812
6. Barouch și colab., Cell 155:1-9, 2013
7. Havenga, și colab., 2006, J Gen Virol 87: 2135-43;
8. WO 03/104467
9. WO 2004/001032
10. WO 2007/104792
11. Abbink și colab., (2007) Virol 81(9): 4654-63
12. Brevet de invenție US Nr. 7,270,811
13. Vogels și colab., (2003) J Virol 77(15): 8263-71
14. WO 00/70071
15. WO2012/082918
16. Walker LM, Phogat SK, Chan-Hui PY, Wagner D, Phung P, Goss JL, și colab., Broad and potent neutralizing antibodies from an African donor reveal a new HIV-1 vaccine target. Science 2009,326:285-289.
17. Haynes BF, Gilbert PB, McElrath MJ, Zolla-Pazner S, Tomaras GD, Alam SM, și colab., Immune-correlates analysis of an HIV-1 vaccine efficacy trial. N Engl J Med 2012,366:1275-1286.
18. Barouch și colab., (2015) Science 349: 320-324
19. Montefiori DC. Measuring HIV neutralization in a luciferase reporter gene assay. Methods Mol Biol 2009,485:395-405.
20. Sarzotti-Kelsoe M, Bailer RT, Turk E, Lin CL, Bilska M, Greene KM, și colab., Optimization and validation of the TZM-bl assay for standardized assessments of neutralizing antibodies against HIV-1. J Immunol Methods 2014,409:131-146.
21. Edwards și colab., J. Virology, 2002, 76:2683-2691.

LISTA DE SECVENȚE

- <110> Janssen Vaccines & Prevention B.V.
 <120> Antigene, virusuri, compoziții și metode de utilizare a virusului imunodeficienței umane
 <130> 0265 EP P01 PRI
 <160> 37
 <170> PatentIn versiunea 3.5
 <210> 1
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>

<223> secvență de antigen mozaic moslGag

<400> 1

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
 1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
 20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
 35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
 50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
 65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
 85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
 100 105 110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val
 115 120 125

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
 130 135 140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
 145 150 155 160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
 165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
 180 185 190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
 195 200 205

Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
 210 215 220

Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
 225 230 235 240

Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile
 245 250 255

Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys
 260 265 270

Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
 275 280 285

Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 295 300

Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320

Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
 325 330 335

Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
 340 345 350

Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365

Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
 370 375 380

Asn Gln Arg Lys Thr Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400

Ile Ala Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415

Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430

Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Asn Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445

Leu Gln Asn Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
 450 455 460

Phe Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480

Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
 485 490 495

Pro Ser Ser Gln
 500

<210> 2

<211> 491

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de antigen mozaic mos2Gag

<400> 2

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp
 1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys
 20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
 35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu
 50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn
 65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
 85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln
 100 105 110

Gln	Lys	Thr	Gln	Gln	Ala	Lys	Glu	Ala	Asp	Gly	Lys	Val	Ser	Gln	Asn	
	115						120					125				
Tyr	Pro	Ile	Val	Gln	Asn	Leu	Gln	Gly	Gln	Met	Val	His	Gln	Pro	Ile	
	130					135					140					
Ser	Pro	Arg	Thr	Leu	Asn	Ala	Trp	Val	Lys	Val	Ile	Glu	Glu	Lys	Ala	
145					150					155					160	
Phe	Ser	Pro	Glu	Val	Ile	Pro	Met	Phe	Thr	Ala	Leu	Ser	Glu	Gly	Ala	
				165					170					175		
Thr	Pro	Gln	Asp	Leu	Asn	Thr	Met	Leu	Asn	Thr	Val	Gly	Gly	His	Gln	
			180					185					190			
Ala	Ala	Met	Gln	Met	Leu	Lys	Asp	Thr	Ile	Asn	Glu	Glu	Ala	Ala	Glu	
		195					200					205				
Trp	Asp	Arg	Leu	His	Pro	Val	His	Ala	Gly	Pro	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	
	210					215					220					
Met	Arg	Glu	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr	Ser	Asn	Leu	
225					230					235					240	
Gln	Glu	Gln	Ile	Ala	Trp	Met	Thr	Ser	Asn	Pro	Pro	Ile	Pro	Val	Gly	
				245					250					255		
Asp	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys	Ile	Val	Arg	
			260					265					270			
Met	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Lys	Gln	Gly	Pro	Lys	Glu	
		275					280					285				
Pro	Phe	Arg	Asp	Tyr	Val	Asp	Arg	Phe	Phe	Lys	Thr	Leu	Arg	Ala	Glu	
	290					295					300					
Gln	Ala	Thr	Gln	Asp	Val	Lys	Asn	Trp	Met	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Val	
305					310					315					320	
Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Arg	Ala	Leu	Gly	Pro	
				325					330					335		
Gly	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Met	Met	Thr	Ala	Cys	Gln	Gly	Val	Gly	Gly	
			340					345					350			
Pro	Ser	His	Lys	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Ser	Gln	Thr	Asn	
		355					360					365				

Ser Thr Ile Leu Met Gln Arg Ser Asn Phe Lys Gly Ser Lys Arg Ile
370 375 380

Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys
385 390 395 400

Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His
405 410 415

Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile
420 425 430

Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro
435 440 445

Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe Glu Glu Thr Thr
450 455 460

Pro Ala Pro Lys Gln Glu Pro Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser Leu
465 470 475 480

Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp Pro Leu Ser Gln
485 490

<210> 3

<211> 850

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de antigen mozaic mos1Pol

<400> 3

Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro
1 5 10 15

Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys
20 25 30

Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys
35 40 45

Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala
50 55 60

Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg
65 70 75 80

Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile
 85 90 95

Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala
 100 105 110

Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Gly Phe Arg Lys
 115 120 125

Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile
 130 135 140

Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala
 145 150 155 160

Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro Phe Arg Ala Lys
 165 170 175

Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly
 180 185 190

Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile Glu Glu Leu Arg
 195 200 205

Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln
 210 215 220

Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys
 225 230 235 240

Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val
 245 250 255

Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile
 260 265 270

Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Ala
 275 280 285

Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu
 290 295 300

Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr
 305 310 315 320

Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly His
 325 330 335

```

Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys
    340                      345                      350

Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr Asn Asp Val Lys
    355                      360                      365

Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met Glu Ser Ile Val Ile
    370                      375                      380

Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp
    385                      390                      395                      400

Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp
    405                      410                      415

Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu
    420                      425                      430

Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala
    435                      440                      445

Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly
    450                      455                      460

Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala
    465                      470                      475                      480

Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Ser Glu Val Asn
    485                      490                      495

Ile Val Thr Ala Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro
    500                      505                      510

Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile
    515                      520                      525

Lys Lys Glu Arg Val Tyr Leu Ser Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile
    530                      535                      540

Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ser Gly Ile Arg Lys
    545                      550                      555                      560

Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys
    565                      570                      575

Tyr His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro
    580                      585                      590

```

```

Val Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Gln Cys Gln Leu Lys
    595                                600                                605

Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln
    610                                615                                620

Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Ile Ile Leu Val Ala Val His
    625                                630                                635                                640

Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly
    645                                650                                655

Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Ile Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val
    660                                665                                670

Lys Val Ile His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Ala Val
    675                                680                                685

Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Gln Gln Glu Phe Gly Ile Pro
    690                                695                                700

Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Met Asn Lys Glu Leu
    705                                710                                715                                720

Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr
    725                                730                                735

Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly
    740                                745                                750

Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile Asp Ile Ile Ala Thr
    755                                760                                765

Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Ile Lys Ile Gln Asn
    770                                775                                780

Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Ile Trp Lys Gly Pro
    785                                790                                795                                800

Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn
    805                                810                                815

Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile Lys Asp
    820                                825                                830

Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Ala Asp Cys Val Ala Gly Arg Gln Asp
    835                                840                                845

```

Glu Asp
850

<210> 4

<211> 850

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de antigen mozaic mos2Pol

<400> 4

```

Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro
1          5          10          15

Gly Met Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys
          20          25          30

Ile Lys Ala Leu Val Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys
          35          40          45

Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala
          50          55          60

Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg
65          70          75          80

Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile
          85          90          95

Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala
          100          105          110

Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys
          115          120          125

Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile
          130          135          140

Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala
145          150          155          160

Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln
          165          170          175

Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly
          180          185          190

```

```

Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg
    195                                200                                205

Gln His Leu Leu Arg Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln
    210                                215                                220

Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys
    225                                230                                235                                240

Trp Thr Val Gln Pro Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val
                                245                                250                                255

Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile
                                260                                265                                270

Tyr Ala Gly Ile Lys Val Lys Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr
    275                                280                                285

Lys Ala Leu Thr Glu Val Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu
    290                                295                                300

Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr
    305                                310                                315                                320

Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln
                                325                                330                                335

Gly Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys
    340                                345                                350

Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys
    355                                360                                365

Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile
    370                                375                                380

Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp
    385                                390                                395                                400

Glu Ala Trp Trp Thr Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp
    405                                410                                415

Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu
    420                                425                                430

Lys Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala

```

435								440									445
Asn	Arg	Glu	Thr	Lys	Leu	Gly	Lys	Ala	Gly	Tyr	Val	Thr	Asp	Arg	Gly		
450						455					460						
Arg	Gln	Lys	Val	Val	Ser	Leu	Thr	Asp	Thr	Thr	Asn	Gln	Lys	Thr	Ala		
465					470					475					480		
Leu	Gln	Ala	Ile	His	Leu	Ala	Leu	Gln	Asp	Ser	Gly	Leu	Glu	Val	Asn		
				485					490					495			
Ile	Val	Thr	Ala	Ser	Gln	Tyr	Ala	Leu	Gly	Ile	Ile	Gln	Ala	Gln	Pro		
			500					505					510				
Asp	Lys	Ser	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Ser	Gln	Ile	Ile	Glu	Gln	Leu	Ile		
	515						520					525					
Lys	Lys	Glu	Lys	Val	Tyr	Leu	Ala	Trp	Val	Pro	Ala	His	Lys	Gly	Ile		
530						535					540						
Gly	Gly	Asn	Glu	Gln	Val	Asp	Lys	Leu	Val	Ser	Arg	Gly	Ile	Arg	Lys		
545					550					555					560		
Val	Leu	Phe	Leu	Asp	Gly	Ile	Asp	Lys	Ala	Gln	Glu	Glu	His	Glu	Lys		
				565					570					575			
Tyr	His	Ser	Asn	Trp	Arg	Ala	Met	Ala	Ser	Glu	Phe	Asn	Leu	Pro	Pro		
			580					585					590				
Ile	Val	Ala	Lys	Glu	Ile	Val	Ala	Ser	Cys	Asp	Lys	Cys	Gln	Leu	Lys		
		595					600					605					
Gly	Glu	Ala	Ile	His	Gly	Gln	Val	Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile	Trp	Gln		
610						615					620						
Leu	Ala	Cys	Thr	His	Leu	Glu	Gly	Lys	Val	Ile	Leu	Val	Ala	Val	His		
625					630					635					640		
Val	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro	Ala	Glu	Thr	Gly		
				645					650					655			
Gln	Glu	Thr	Ala	Tyr	Phe	Leu	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly	Arg	Trp	Pro	Val		
			660					665					670				
Lys	Thr	Ile	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Ser	Ala	Thr	Val		
		675					680					685					

Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro
690 695 700

Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Ile Asn Lys Glu Leu
705 710 715 720

Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr
725 730 735

Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly
740 745 750

Ile Gly Glu Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser
755 760 765

Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn
770 775 780

Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro
785 790 795 800

Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn
805 810 815

Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp
820 825 830

Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln Asp
835 840 845

Glu Asp
850

<210> 5

<211> 685

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> mos1Env secvență de antigen mozaic

<400> 5

Met Arg Val Thr Gly Ile Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp
1 5 10 15

Gly Thr Met Leu Leu Gly Ile Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Gly Lys
20 25 30

Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Thr

35	40	45
Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu Val 50 55 60		
His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro 65 70 75 80		
Gln Glu Val Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys 85 90 95		
Asn Asn Met Val Glu Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp 100 105 110		
Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu 115 120 125		
Asn Cys Thr Asp Asp Val Arg Asn Val Thr Asn Asn Ala Thr Asn Thr 130 135 140		
Asn Ser Ser Trp Gly Glu Pro Met Glu Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys 145 150 155 160		
Ser Phe Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asn Lys Val Gln Lys Gln Tyr 165 170 175		
Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asn Asp Ser Asn 180 185 190		
Asn Thr Asn Tyr Arg Leu Ile Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln 195 200 205		
Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala 210 215 220		
Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asp Lys Lys Phe Asn Gly 225 230 235 240		
Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile 245 250 255		
Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu 260 265 270		
Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Glu Asn Phe Thr Asn Asn Ala Lys Thr 275 280 285		

```

Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro
290                               295                               300

Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe
305                               310                               315                               320

Tyr Thr Ala Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn
                               325                               330                               335

Ile Ser Arg Ala Asn Trp Asn Asn Thr Leu Arg Gln Ile Val Glu Lys
                               340                               345                               350

Leu Gly Lys Gln Phe Gly Asn Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn His Ser
                               355                               360                               365

Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Gly Gly
370                               375                               380

Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Ser Thr Lys Leu Phe Asn Ser Thr Trp Thr
385                               390                               395                               400

Trp Asn Asn Ser Thr Trp Asn Asn Thr Lys Arg Ser Asn Asp Thr Glu
                               405                               410                               415

Glu His Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp
                               420                               425                               430

Gln Glu Val Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Arg Gly Gln Ile
                               435                               440                               445

Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly
450                               455                               460

Asn Asp Thr Ser Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met
465                               470                               475                               480

Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile
                               485                               490                               495

Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln
                               500                               505                               510

Ser Glu Lys Ser Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu
515                               520                               525

Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val
530                               535                               540

```

Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu
545 550 555 560

Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp
565 570 575

Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu
580 585 590

Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile
595 600 605

Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu
610 615 620

Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile
625 630 635 640

Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn
645 650 655

Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala
660 665 670

Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp
675 680 685

<210> 6

<211> 684

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de antigen mozaic mos2Env

<400> 6

Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp
1 5 10 15

Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val Met Gly Asn
20 25 30

Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys
35 40 45

Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val
50 55 60

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

44

His 65	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro	80
70																
Gln	Glu	Met	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys	95
85																
Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Arg	Leu	Trp	Asp	100
100																
Gln	Ser	Leu	Lys	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu	115
115																
Glu	Cys	Arg	Asn	Val	Arg	Asn	Val	Ser	Ser	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	Ile	130
130																
Ile	His	Asn	Glu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Ser	Phe	Asn	Ala	145
145																
Thr	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Arg	Lys	Gln	Lys	Val	His	Ala	Leu	Phe	Tyr	160
165																
Arg	Leu	Asp	Ile	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Ser	175
180																
Ser	Glu	Asn	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ile	Asn	Cys	Asn	Thr	Ser	185
195																
Ala	Ile	Thr	Gln	Ala	Cys	Pro	Lys	Val	Ser	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ile	200
210																
His	Tyr	Cys	Ala	Pro	Ala	Gly	Tyr	Ala	Ile	Leu	Lys	Cys	Asn	Asn	Lys	225
230																
Thr	Phe	Asn	Gly	Thr	Gly	Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys	240
245																
Thr	His	Gly	Ile	Lys	Pro	Val	Val	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Gly	250
260																
Ser	Leu	Ala	Glu	Glu	Glu	Ile	Ile	Ile	Arg	Ser	Glu	Asn	Leu	Thr	Asn	265
275																
Asn	Ala	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	His	Leu	Asn	Glu	Thr	Val	Asn	Ile	Thr	280
290																
Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Pro	305
310																

Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
 325 330 335
 Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly
 340 345 350
 Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Asn Phe
 355 360 365
 Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn
 370 375 380
 Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly
 385 390 395 400
 Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr
 405 410 415
 Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly
 420 425 430
 Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser
 435 440 445
 Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly
 450 455 460
 Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg
 465 470 475 480
 Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys
 485 490 495
 Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Ser
 500 505 510
 Glu Lys Ser Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly
 515 520 525
 Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln
 530 535 540
 Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu
 545 550 555 560
 Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly
 565 570 575

Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln
580 585 590

Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys
595 600 605

Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr
610 615 620

Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly
625 630 635 640

Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln
645 650 655

Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn
660 665 670

Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp
675 680

<210> 7

<211> 708

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> trimer gp140 stabilizat al grupului C: C97ZA012-gp140-foldon cu mutații de clivaj

<400> 7

Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Cys Gln His Leu Trp Arg Trp
1 5 10 15

Gly Thr Leu Ile Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Glu Asn
20 25 30

Leu Trp Val Gly Asn Met Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val
35 40 45

Trp Thr Asp Ala Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Thr Lys Ala
50 55 60

Tyr Asp Arg Glu Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro
65 70 75 80

Thr Asp Pro Asn Pro Gln Glu Ile Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn
85 90 95

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

47

Phe	Asn	Met	Trp	Lys	Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	100	105	110
Ile	Ser	Leu	Trp	Asp	Gln	Ser	Leu	Lys	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	115	120	125
Leu	Cys	Val	Thr	Leu	His	Cys	Thr	Asn	Ala	Thr	Phe	Lys	Asn	Asn	Val	130	135	140
Thr	Asn	Asp	Met	Asn	Lys	Glu	Ile	Arg	Asn	Cys	Ser	Phe	Asn	Thr	Thr	145	150	155
Thr	Glu	Ile	Arg	Asp	Lys	Lys	Gln	Gln	Gly	Tyr	Ala	Leu	Phe	Tyr	Arg	165	170	175
Pro	Asp	Ile	Val	Leu	Leu	Lys	Glu	Asn	Arg	Asn	Asn	Ser	Asn	Asn	Ser	180	185	190
Glu	Tyr	Ile	Leu	Ile	Asn	Cys	Asn	Ala	Ser	Thr	Ile	Thr	Gln	Ala	Cys	195	200	205
Pro	Lys	Val	Asn	Phe	Asp	Pro	Ile	Pro	Ile	His	Tyr	Cys	Ala	Pro	Ala	210	215	220
Gly	Tyr	Ala	Ile	Leu	Lys	Cys	Asn	Asn	Lys	Thr	Phe	Ser	Gly	Lys	Gly	225	230	235
Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys	Thr	His	Gly	Ile	Lys	Pro	245	250	255
Val	Val	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Gly	Ser	Leu	Ala	Glu	Lys	Glu	260	265	270
Ile	Ile	Ile	Arg	Ser	Glu	Asn	Leu	Thr	Asp	Asn	Val	Lys	Thr	Ile	Ile	275	280	285
Val	His	Leu	Asn	Lys	Ser	Val	Glu	Ile	Val	Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	290	295	300
Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Met	Arg	Ile	Gly	Pro	Gly	Gln	Thr	Phe	Tyr	Ala	305	310	315
Thr	Gly	Asp	Ile	Ile	Gly	Asp	Ile	Arg	Gln	Ala	Tyr	Cys	Asn	Ile	Ser	325	330	335
Gly	Ser	Lys	Trp	Asn	Glu	Thr	Leu	Lys	Arg	Val	Lys	Glu	Lys	Leu	Gln			

48

340					345					350					
Glu	Asn	Tyr	Asn	Asn	Asn	Lys	Thr	Ile	Lys	Phe	Ala	Pro	Ser	Ser	Gly
		355					360					365			
Gly	Asp	Leu	Glu	Ile	Thr	Thr	His	Ser	Phe	Asn	Cys	Arg	Gly	Glu	Phe
	370					375					380				
Phe	Tyr	Cys	Asn	Thr	Thr	Arg	Leu	Phe	Asn	Asn	Asn	Ala	Thr	Glu	Asp
385					390					395					400
Glu	Thr	Ile	Thr	Leu	Pro	Cys	Arg	Ile	Lys	Gln	Ile	Ile	Asn	Met	Trp
				405					410					415	
Gln	Gly	Val	Gly	Arg	Ala	Met	Tyr	Ala	Pro	Pro	Ile	Ala	Gly	Asn	Ile
			420					425					430		
Thr	Cys	Lys	Ser	Asn	Ile	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Val	Arg	Asp	Gly	Gly
		435					440					445			
Glu	Asp	Asn	Lys	Thr	Glu	Glu	Ile	Phe	Arg	Pro	Gly	Gly	Gly	Asn	Met
	450					455					460				
Lys	Asp	Asn	Trp	Arg	Ser	Glu	Leu	Tyr	Lys	Tyr	Lys	Val	Ile	Glu	Leu
465					470					475					480
Lys	Pro	Leu	Gly	Ile	Ala	Pro	Thr	Gly	Ala	Lys	Glu	Arg	Val	Val	Glu
				485					490					495	
Arg	Glu	Glu	Arg	Ala	Val	Gly	Ile	Gly	Ala	Val	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu
			500					505					510		
Gly	Ala	Ala	Gly	Ser	Thr	Met	Gly	Ala	Ala	Ser	Leu	Thr	Leu	Thr	Val
		515					520					525			
Gln	Ala	Arg	Gln	Leu	Leu	Ser	Ser	Ile	Val	Gln	Gln	Gln	Ser	Asn	Leu
	530					535					540				
Leu	Arg	Ala	Ile	Glu	Ala	Gln	Gln	His	Met	Leu	Gln	Leu	Thr	Val	Trp
545					550					555					560
Gly	Ile	Lys	Gln	Leu	Gln	Thr	Arg	Val	Leu	Ala	Ile	Glu	Arg	Tyr	Leu
				565					570					575	
Lys	Asp	Gln	Gln	Leu	Leu	Gly	Ile	Trp	Gly	Cys	Ser	Gly	Lys	Leu	Ile
			580					585					590		

Cys Thr Thr Asn Val Pro Trp Asn Ser Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln
595 600 605

Thr Asp Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile
610 615 620

Ser Asn Tyr Thr Asp Thr Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Asp Ser Gln Thr
625 630 635 640

Gln Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys
645 650 655

Asn Leu Trp Ser Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys
660 665 670

Ser Arg Ile Glu Gly Arg Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro
675 680 685

Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu
690 695 700

Ser Thr Phe Leu
705

<210> 8

<211> 625

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Fragment C4: gp120 trunchiat gp41 fără peptida semnal și domeniu transmembrantar

<400> 8

Met Gly Asn Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys
1 5 10 15

Asp Ala Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu
20 25 30

Lys Glu Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp
35 40 45

Pro Asn Pro Gln Glu Ile Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn
50 55 60

Met Trp Lys Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser
65 70 75 80

```

Leu Trp Asp Ala Ser Leu Glu Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys
      85                      90                      95

Val Thr Leu Asn Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr
      100                      105                      110

Tyr Asn Ile Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser
      115                      120                      125

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

Leu Phe Tyr Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser
      145                      150                      155                      160

Glu Lys Ser Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys
      165                      170                      175

Asn Thr Ser Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro
      180                      185                      190

Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys
      195                      200                      205

Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr
      210                      215                      220

Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu
      225                      230                      235                      240

Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn
      245                      250                      255

Leu Thr Asn Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val
      260                      265                      270

Asn Ile Thr Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg
      275                      280                      285

Ile Gly Pro Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp
      290                      295                      300

Ile Arg Gln Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr
      305                      310                      315                      320

Leu Gln Gly Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr
      325                      330                      335

```

```

Ile Lys Phe Ala Pro His Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His
    340                      345                      350

Thr Phe Asn Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Asn Leu
    355                      360                      365

Phe Asn Glu Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro
    370                      375                      380

Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala
    385                      390                      395                      400

Ile Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile
    405                      410                      415

Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro
    420                      425                      430

Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn
    435                      440                      445

Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu
    450                      455                      460

Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys
    465                      470                      475                      480

Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala
    485                      490                      495

Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg
    500                      505                      510

Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala
    515                      520                      525

Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys
    530                      535                      540

Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln
    545                      550                      555                      560

Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr
    565                      570                      575

Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile
    580                      585                      590
Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr
    595                      600                      605

Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu
    610                      615                      620

Lys
625
<210> 9
<211> 29
5 <212> PRT

```

<213> Secvență artificială
 <220>
 <223> secvență semnal
 <400> 9
 Met Arg Val Arg Gly Met Leu Arg Asn Trp Gln Gln Trp Trp Ile Trp
 1 5 10 15

5 Ser Ser Leu Gly Phe Trp Met Leu Met Ile Tyr Ser Val
 20 25
 <210> 10
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 10 <220>
 <223> secvență semnal
 <400> 10
 Met Arg Val Thr Gly Ile Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp
 1 5 10 15

Gly Thr Met Leu Leu Gly Ile Leu Met Ile Cys Ser Ala
 20 25
 <210> 11
 15 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> secvență semnal
 20 <400> 11
 Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp
 1 5 10 15
 Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val
 20 25
 <210> 12
 <211> 29
 25 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> secvență semnal
 <400> 12
 Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Cys Gln His Leu Trp Arg Trp
 1 5 10 15

Gly Thr Leu Ile Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala
 20 25
 30 <210> 13
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 35 <220>
 <223> domeniu transmembranar
 <400> 13
 Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe
 1 5 10 15

Ala Val Leu Ser Ile Val
 20
 40 <210> 14
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> regiune citoplasmică trunchiată

<400> 14
 Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr
 1 5
 <210> 15
 <211> 32
 5 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Domeniu de trimerizare GCN4
 <400> 15
 Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr
 1 5 10 15

 His Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Val
 10 20 25 30
 <210> 16
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 15 <220>
 <223> domeniul de trimerizare foldon
 <400> 16
 Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
 1 5 10 15

 Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
 20 25 30
 <210> 17
 20 <211> 862
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> secvență C4
 25 <400> 17
 Met Arg Val Arg Gly Met Leu Arg Asn Trp Gln Gln Trp Trp Ile Trp
 1 5 10 15

 Ser Ser Leu Gly Phe Trp Met Leu Met Ile Tyr Ser Val Met Gly Asn
 20 25 30

 Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Asp Ala Lys
 35 40 45

 Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val
 50 55 60

 His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
 65 70 75 80

 Gln Glu Ile Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
 85 90 95

 Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp

100	105	110
Ala Ser Leu Glu Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu		
115	120	125
Asn Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Ile		
130	135	140
Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala		
145	150	155
Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr		
165	170	175
Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser		
180	185	190
Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser		
195	200	205
Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile		
210	215	220
His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys		
225	230	235
Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys		
245	250	255
Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly		
260	265	270
Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr		
290	295	300
Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro		
305	310	315
Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln		
325	330	335
Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly		
340	345	350

```

Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe
    355                                360                                365

Ala Pro His Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Thr Phe Asn
    370                                375                                380

Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Asn Leu Phe Asn Glu
    385                                390                                395                                400

Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile
                                405                                410                                415

Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Ile Tyr Ala
                                420                                425                                430

Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile Thr Gly Leu
                                435                                440                                445

Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro Asn Asp Thr
    450                                455                                460

Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser
    465                                470                                475                                480

Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu Gly Val Ala
                                485                                490                                495

Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val
                                500                                505                                510

Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr
    515                                520                                525

Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu
    530                                535                                540

Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala
    545                                550                                555                                560

Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln
                                565                                570                                575

Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu
                                580                                585                                590

Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro
    595                                600                                605

```

```

Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Asp Asn
610                               615                               620

Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr Thr Gly Glu
625                               630                               635                               640

Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu
645                               650                               655

Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Asn Asn Leu Trp Asn Trp Phe
660                               665                               670

Ser Ile Ser Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val
675                               680                               685

Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val
690                               695                               700

Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Leu Gln Thr Leu Thr
705                               710                               715                               720

Gln Asn Pro Gly Gly Leu Asp Arg Leu Gly Arg Ile Glu Glu Glu Gly
725                               730                               735

Gly Glu Gln Asp Lys Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Phe Phe
740                               745                               750

Ala Leu Phe Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr His
755                               760                               765

Arg Leu Arg Asp Phe Ile Leu Ile Val Ala Arg Ala Val Glu Leu Leu
770                               775                               780

Gly Arg Ser Ser Leu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Trp Glu Ile Leu Lys
785                               790                               795                               800

Tyr Leu Gly Ser Leu Leu Gln Tyr Trp Gly Leu Glu Leu Lys Lys Ser
805                               810                               815

Ala Ile Asn Leu Leu Asp Thr Ile Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr
820                               825                               830

Asp Arg Ile Ile Glu Leu Ile Gln Arg Ile Cys Arg Ala Ile Cys Asn
835                               840                               845

Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Phe Glu Ala Ala Leu Gln
850                               855                               860

```

<210> 18

<211> 711

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență C4D7

<400> 18

Met	Arg	Val	Arg	Gly	Met	Leu	Arg	Asn	Trp	Gln	Gln	Trp	Trp	Ile	Trp
1				5					10					15	
Ser	Ser	Leu	Gly	Phe	Trp	Met	Leu	Met	Ile	Tyr	Ser	Val	Met	Gly	Asn
			20					25					30		
Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Asp	Ala	Lys
		35					40					45			
Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Glu	Lys	Glu	Val
	50					55					60				
His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro
65					70					75					80
Gln	Glu	Ile	Val	Leu	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys
				85					90					95	
Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	Leu	Trp	Asp
			100					105					110		
Ala	Ser	Leu	Glu	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu
		115					120					125			
Asn	Cys	Arg	Asn	Val	Arg	Asn	Val	Ser	Ser	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	Ile
	130						135				140				
Ile	His	Asn	Glu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Ser	Phe	Asn	Ala
145					150					155					160
Thr	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Arg	Lys	Gln	Lys	Val	His	Ala	Leu	Phe	Tyr
				165					170					175	
Arg	Leu	Asp	Ile	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Ser
			180					185					190		
Ser	Glu	Asn	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ile	Asn	Cys	Asn	Thr	Ser
		195					200					205			

Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile
 210 215 220

His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
 225 230 235 240

Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
 245 250 255

Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
 260 265 270

Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr
 290 295 300

Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro
 305 310 315 320

Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
 325 330 335

Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly
 340 345 350

Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe
 355 360 365

Ala Pro His Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Thr Phe Asn
 370 375 380

Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Asn Leu Phe Asn Glu
 385 390 395 400

Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile
 405 410 415

Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Ile Tyr Ala
 420 425 430

Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile Thr Gly Leu
 435 440 445

Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro Asn Asp Thr
 450 455 460

Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser
465 470 475 480

Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu Gly Val Ala
485 490 495

Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val
500 505 510

Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr
515 520 525

Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu
530 535 540

Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala
545 550 555 560

Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln
565 570 575

Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu
580 585 590

Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro
595 600 605

Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Asp Asn
610 615 620

Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr Thr Gly Glu
625 630 635 640

Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu
645 650 655

Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Asn Asn Leu Trp Asn Trp Phe
660 665 670

Ser Ile Ser Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val
675 680 685

Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala Val Leu Ser Ile Val
690 695 700

Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr
705 710

<210> 19

<211> 704

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență sC4

<400> 19

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

60

Met	Arg	Val	Arg	Gly	Met	Leu	Arg	Asn	Trp	Gln	Gln	Trp	Trp	Ile	Trp	1	5	10	15
Ser	Ser	Leu	Gly	Phe	Trp	Met	Leu	Met	Ile	Tyr	Ser	Val	Met	Gly	Asn	20	25	30	
Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Asp	Ala	Lys	35	40	45	
Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Glu	Lys	Glu	Val	50	55	60	
His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro	65	70	75	80
Gln	Glu	Ile	Val	Leu	Gly	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys	85	90	95	
Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	Leu	Trp	Asp	100	105	110	
Ala	Ser	Leu	Glu	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu	115	120	125	
Asn	Cys	Arg	Asn	Val	Arg	Asn	Val	Ser	Ser	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	Ile	130	135	140	
Ile	His	Asn	Glu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Ser	Phe	Asn	Ala	145	150	155	160
Thr	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Arg	Lys	Gln	Lys	Val	His	Ala	Leu	Phe	Tyr	165	170	175	
Arg	Leu	Asp	Ile	Val	Pro	Leu	Asp	Glu	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Ser	180	185	190	
Ser	Glu	Asn	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Leu	Ile	Asn	Cys	Asn	Thr	Ser	195	200	205	

Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile
 210 215 220

His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
 225 230 235 240

Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
 245 250 255

Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
 260 265 270

Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr
 290 295 300

Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro
 305 310 315 320

Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
 325 330 335

Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly
 340 345 350

Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe
 355 360 365

Ala Pro His Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Thr Phe Asn
 370 375 380

Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Asn Leu Phe Asn Glu
 385 390 395 400

Ser Asn Ile Glu Arg Asn Asp Ser Ile Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile
 405 410 415

Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Arg Ala Ile Tyr Ala
 420 425 430

Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser Asn Ile Thr Gly Leu
 435 440 445

Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly Val Pro Asn Asp Thr

450		455		460
Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asn Asn Trp Arg Ser				
465		470	475	480
Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys Pro Leu Gly Val Ala				
	485	490		495
Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Glu Glu Arg Ala Val				
	500	505		510
Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr				
	515	520		525
Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu				
	530	535	540	
Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala				
	545	550	555	560
Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln				
	565	570		575
Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln Asp Gln Gln Leu Leu				
	580	585		590
Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro				
	595	600		605
Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr Asp Ile Trp Asp Asn				
	610	615	620	
Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly Asn Tyr Thr Gly Glu				
	625	630	635	640
Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Met Lys				
	645	650		655
Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile				
	660	665		670
Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Val Gly Ser				
	675	680		685
Gly Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln Arg Glu Lys Arg				
	690	695	700	

<210> 20

<211> 4050

<212> AND

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de nucleotide care codifică mos1GagPol

<400> 20

atgggagcca gagccagcgt gctgtccgga ggggagctgg accgctggga gaagatcagg	60
ctgaggcctg gagggaagaa gaagtacagg ctgaagcaca tcgtgtgggc cagcagagag	120
ctggaacggg ttgccgtgaa ccctggcctg ctggaaacca gcgagggctg taggcagatt	180
ctgggacagc tgcagcccag cctgcagaca ggcagcgagg aactgcggag cctgtacaac	240
accgtggcca ccctgtactg cgtgcaccag cggatcgaga tcaaggacac caaagaagcc	300
ctggaaaaga tcgaggaaga gcagaacaag agcaagaaga aagcccagca ggctgccgct	360
gacacaggca acagcagcca ggtgtcccag aactacccca tcgtgcagaa catccaggga	420
cagatggtgc accaggccat cagccctcgg accctgaacg cctgggtgaa ggtggtggag	480
gaaaaggcct tcagccctga ggtgatcccc atgttctctg ccctgagcga gggagccaca	540
ccccaggacc tgaacaccat gctgaacacc gtgggagggc accaggctgc catgcagatg	600
ctgaaagaga caatcaacga ggaagctgcc gagtgggaca gggccacccc agtgcacgct	660
ggacctatcg ctccctggcca gatgagagag cccagaggca gcgatattgc tggcaccacc	720
tccacactgc aggaacagat cggctggatg accaacaacc ctcccatccc tgtgggagag	780
atctacaagc ggtggatcat tctgggactg aacaagatcg tgggatgta cagccctgtg	840
agcatcctgg acatcaggca gggacccaaa gagcccttca gggactacgt ggaccgggtc	900
tacaagaccc tgagagccga gcaggccagc caggacgtga agaactggat gaccgagaca	960
ctgtcgggtgc agaacgccaa ccctgactgc aagaccatcc tgaaagccct gggacctgct	1020
gccaccctgg aagagatgat gacagcctgc cagggagtgaggaggacctgg ccacaaggcc	1080
aggggtgctgg ccgaggccat gagccagggtg accaactctg ccaccatcat gatgcagaga	1140
ggcaacttcc ggaaccagag aaagaccgtg aagtgccttca actgtggcaa agagggacac	1200
attgccaaga actgcagggc tcccaggaag aaaggctgct ggaagtgcgg aaaagaaggc	1260
caccagatga aggactgcac cgagaggcag gccaaacttcc tgggcaagat ctggcctagc	1320
aacaagggca ggcctggcaa ctctctgcag aacagaccgg agcccaccgc tcctcccgag	1380
gaaagcttcc ggtttggcga ggaaaccacc acccctagcc agaagcagga acccatcgac	1440
aaagagatgt accctctggc cagcctgaag agcctgttcg gcaacgaccc cagcagccag	1500
atggctocca tcagcccaat cgagacagtg cctgtgaagc tgaagcctgg catggacgga	1560
cccagggtga agcagtggcc tctgaccgag gaaaagatca aagccctgac agccatctgc	1620

gaggaaatgg	aaaaagaggg	caagatcacc	aagatcggac	ccgagaaccc	ctacaacacc	1680
cctgtgttcg	ccatcaagaa	gaaagacagc	accaagtgga	ggaaactggt	ggacttcaga	1740
gagctgaaca	agcggaccca	ggacttcttg	gaggtgcagc	tgggcatccc	tcaccctgct	1800
ggcctgaaga	aaaagaaaag	cgtgaccgtg	ctggctgtgg	gagatgccta	cttcagcgtg	1860
cctctggacg	agggcttccg	gaagtacaca	gccttcacca	tccccagcac	caacaacgag	1920
acacctggca	tcagatacca	gtacaacgtg	ctgcctcagg	gctggaaagg	cagccctgcc	1980
atcttccagt	gcagcatgac	cagaatcctg	gaacccttca	gagccaagaa	ccctgagatc	2040
gtgatctacc	agtatatggc	tgccctctac	gtgggcagcg	acctggaaat	cggacagcac	2100
agagccaaaa	tcgaagaact	ccgcgagcac	ctgctgaagt	ggggattcac	cacccctgac	2160
aagaagcacc	agaaagagcc	tcccttccctg	tggatgggct	acgagctgca	ccctgacaag	2220
tggaccgtgc	agcccatcca	gctgccagag	aaggactcct	ggaccgtgaa	cgacatccag	2280
aaactggtcg	gcaagctgaa	ctgggcccagc	cagatctacc	ctggcatcaa	agtcagacag	2340
ctgtgtaagc	tgctgagggg	agccaaagca	ctgaccgaca	tcgtgcctct	gacagaagaa	2400
gccgagctgg	aactggccga	gaacagagag	atcctgaaag	aacccctgca	cggagtgtac	2460
tacgacccct	ccaaggacct	gattgccgag	atccagaaac	agggacacga	ccagtggacc	2520
taccagatct	atcaggaacc	tttcaagaac	ctgaaaacag	gcaagtacgc	caagatgcgg	2580
acagcccaca	ccaacgacgt	gaagcagctg	accgaagccg	tcagaaaaat	cgccatggaa	2640
agcatcgtga	tctggggaaa	gacacccaag	ttcaggctgc	ccatccagaa	agagacatgg	2700
gaaacctggt	ggaccgacta	ctggcaggcc	acctggattc	ccgagtggga	gttcgtgaac	2760
accccacccc	tggtagaact	gtggtatcag	ctggaaaagg	acctatctgc	tggcgtggag	2820
acattctacg	tggctggagc	tgccaacaga	gagacaaagc	tgggcaaggc	tggctacgtg	2880
accgacagag	gcagacagaa	aatcgtgagc	ctgaccgaaa	ccaccaacca	gaaaacagcc	2940
ctgcaggcca	tctatctggc	actgcaggac	agcggaaagc	aggtgaacat	cgtgacagcc	3000
agccagtatg	ccctgggcat	catccaggcc	cagcctgaca	agagcgagag	cagactgggtg	3060
aaccagatca	tcgagcagct	gatcaagaaa	gaacgggtgt	acctgagctg	ggtgccagcc	3120
cacaagggca	tcggagggaa	cgagcaggtg	gacaagctgg	tgtccagcgg	aatccggaag	3180
gtgctgttcc	tggacggcat	cgataaagcc	caggaagagc	acgagaagta	ccacagcaat	3240
tggagagcca	tggccagcga	cttcaacctg	cctcccgtag	tggccaaaga	aatcgtggcc	3300
agctgcgacc	agtgccagct	gaaaggcgag	gccatgcacg	gacaggtgga	ctgctccctt	3360
ggcatctggc	agctggcatg	caccacacctg	gaaggcaaga	tcattctggt	ggcctgacac	3420
gtggccagcg	gatacatcga	agccgaagtg	atccctgccg	agacagggca	ggaaacagcc	3480
tacttcatcc	tgaagctggc	tggcagatgg	cctgtgaagg	tgatccacac	agccaacggc	3540

	agcaacttca cctctgctgc cgtgaaggct gcctgttggt gggctggcat tcagcaggaa	3600
	tttggcatcc cctacaatcc ccagtctcag ggagtgggtg ccagcatgaa caaagagctg	3660
	aagaagatca tcggacaggt cagggatcag gccgagcacc tgaaaactgc cgtccagatg	3720
	gccgtgttca tccacaactt caagcggaaag ggagggatcg gaggttactc tgctggcgag	3780
	cggtatcatcg acatcattgc caccgatatc cagaccaaag agctgcagaa acagatcatc	3840
	aagatccaga acttcagggt gtactacagg gacagcaggg accccatctg gaagggacct	3900
	gccaaagctgc tgtggaaagg cgaaggagcc gtcgtcatcc aggacaacag cgacatcaag	3960
	gtggtgccca gacggaaggt gaaaatcatc aaggactacg gcaaacagat ggctggagcc	4020
	gactgtgtcg ctggcaggca ggacgaggac	4050
	<210> 21	
	<211> 4023	
	<212> AND	
5	<213> Secvență artificială	
	<220>	
	<223> secvență de nucleotide care codifică mos2GagPol	
	<400> 21	
	atgggagcca gagccagcat cctgcgagga gggaaagctgg acaagtggga gaagatcagg	60
	ctgaggcctg gaggggaagaa acactacatg ctgaagcacc tggctctgggc cagcagagag	120
	ctggaacggt ttgccctcaa tcctggcctg ctggaaacca gcgagggtg caagcagatc	180
	atcaagcagc tgcagcctgc cctgcagaca ggcaccgagg aactgcggag cctgttcaac	240
	accgtggcca ccctgtactg cgtgcatgcc gagatcgaag tgaggggacac caaagaagcc	300
	ctggacaaga tcgaggaaga gcagaacaag agccagcaga aaaccagca ggccaaagaa	360
	gccgacggca aggtctccca gaactacccc atcgtgcaga acctgcaggg acagatgggtg	420
	caccagccca tcagccctcg gacactgaat gcctgggtga aggtgatcga ggaaaaggcc	480
	ttcagccctg aggtgatccc catgttcaca gccctgagcg agggagccac accccaggac	540
	ctgaacacca tgctgaacac cgtgggaggg caccaggctg ccatgcagat gctgaaggac	600
	accatcaacg aggaagctgc cgagtgggac aggtgcacc ctgtgcacgc tggacctgtg	660
	gctcctggcc agatgagaga gccagaggc agcgaatttg ctggcaccac ctccaatctg	720
	caggaacaga tcgcctggat gaccagcaac cctcccatcc ctgtgggaga catctacaag	780
	cggtggatca tcctgggact gaacaagatc gtgcggatgt acagccctac ctccatcctg	840
	gacatcaagc agggacccaa agagcctttc agggactacg tggaccggtt cttcaagacc	900
	ctgagagccg agcaggccac ccaggacgtg aagaactgga tgaccgacac cctgctgggtg	960
	cagaacgcca accctgactg caagaccatc ctgagagccc tgggacctgg agccaccctg	1020

gaagagatga	tgacagcctg	ccagggagtg	ggaggaccct	ctcacaaggc	tagggtgctg	1080
gccgaggcca	tgagccagac	caacagcacc	atcctgatgc	agcggagcaa	cttcaagggc	1140
agcaagcggg	tcgtagagt	cttcaactgt	ggcaaagagg	gacacattgc	cagaaactgt	1200
agggcaccga	ggaagaaagg	ctgctggaag	tgcggaaaag	aaggccacca	gatgaaggac	1260
tgcaccgaga	ggcaggccaa	cttcctgggc	aagatctggc	ctagccacaa	gggcagacct	1320
ggcaacttcc	tgcagagcag	acccgagccc	accgtccttc	cagccgagag	cttcgggttc	1380
gaggaaacca	cccctgctcc	caagcaggaa	cctaaggaca	gagagcctct	gaccagcctg	1440
agaagcctgt	tgggcagcga	ccctctgagc	cagatggctc	ccatctcccc	tatcgagaca	1500
gtgcctgtga	agctgaagcc	tggcatggac	ggaccaagg	tgaaacagt	gcctctgacc	1560
gaggaaga	tcaaagccct	ggtggagatc	tgtaccgaga	tggaaaaaga	gggcaagatc	1620
agcaagatcg	gacccgagaa	cccctacaac	acccctatct	tggccatcaa	gaagaaagac	1680
agcaccgaat	ggaggaaact	ggtggacttc	agagagctga	acaagcggac	ccaggacttc	1740
tgggaggtgc	agctgggcat	ccctcaccct	gctggcctga	agaaaaagaa	aagcgtgacc	1800
gtgctggccg	tgggagatgc	ctacttcagc	gtgcctctgg	acgaggactt	cagaaagtac	1860
acagccttca	ccatccccag	catcaacaac	gagacacctg	gcacagata	ccagtacaac	1920
gtgctgcctc	agggatggaa	gggctctcct	gcaatcttcc	agagcagcat	gaccaagatc	1980
ctggaaccct	tccggaagca	gaaccctgac	atcgtgatct	accagtacat	ggcagccctg	2040
tacgtcggca	gcgacctgga	aatcggacag	caccggacca	agatcgaaga	actcaggcag	2100
cacctgctgc	ggtggggatt	caccacccct	gacaagaagc	accagaaaga	gcctcccttc	2160
ctgtggatgg	gctacgagct	gcacccagac	aagtggaccg	tgcagcccat	ogtgcctgct	2220
gagaaggact	cctggaccgt	gaacgacatc	cagaaactgg	tgggcaagct	gaactgggcc	2280
agccagatct	acgtctggcat	caaagtgaag	cagctgtgta	agctcctgag	aggcacccaa	2340
gccctgaccg	aggtggtgcc	actgacagag	gaagccgagc	tggaaactgg	cgagaacaga	2400
gagatcctga	aagaacccgt	gcacggagtg	tactacgacc	ccagcaagga	cctgattgcc	2460
gagatccaga	agcagggaca	gggacagtgg	acctaccaga	tctaccagga	acccctcaag	2520
aacctgaaaa	caggcaagta	cgccaggatg	aggggagccc	acaccaacga	cgtcaaacag	2580
ctgaccgaag	ccgtgcagaa	gatcgccacc	gagagcatcg	tgatttgggg	aaagacaccc	2640
aagtccaagc	tgcctatcca	gaaagagaca	tgggaggcct	ggtggaccga	gtactggcag	2700
gccacctgga	ttcccgagt	ggagtctgtg	aacaccccac	ccctggtgaa	gctgtggtat	2760
cagctggaaa	aagaacccat	cgtgggagcc	gagacattct	acgtggctgg	agctgccaac	2820
agagagacaa	agctgggcaa	ggctggctac	gtgaccgaca	gaggcaggca	gaaagtgggtg	2880
tccctgaccg	ataccaccaa	ccagaaaaca	gccctgcagg	ccatccacct	ggctctgcag	2940

	gactctggcc tgggaagtgaa catcgtgaca gccagccagt atgccctggg catcattcag	3000
	gcacagcctg acaagagcga gagcgagctg gtgtotcaga tcattgagca gctgatcaag	3060
	aaagaaaagg tgtacctggc ctgggtgcca gccacaagg ggatcggagg gaacgagcag	3120
	gtggacaagc tgggtgtccag gggcatccgg aaggtgctgt ttctggacgg catcgacaaa	3180
	gcccaggaag agcacgagaa gtaccacagc aattggagag ccatggccag cgagttcaac	3240
	ctgcctccca tcgtggccaa agaaatcgtg gcctcttgcg acaagtgccg gctgaaaggg	3300
	gaggccattc acggacaggt ggactgcagc ccaggcatct ggcagctggc ctgcacccac	3360
	ctggaaggca aggtgatcct ggtggccgtg cacgtggcct ctggatacat cgaagccgaa	3420
	gtgatccctg ccgagacagg ccaggaaca gcctacttcc tgctgaagct ggctggcagg	3480
	tggcctgtga aaaccatcca cacagccaac ggcagcaact tcacctctgc caccgtgaag	3540
	gctgcctgtt ggtgggctgg cattaagcag gaatttggca tccctacaa ccctcagtct	3600
	cagggagtgg tggcctccat caacaaagag ctgaagaaga tcacggaca ggtcagggat	3660
	caggccgagc atctgaaaac agccgtccag atggccgtgt tcacccaca cttcaagcgg	3720
	aagggaggga tcggagagta ctctgctggc gagaggatcg tggacattat cggcagcgat	3780
	atccagacca aagaactgca gaagcagatc acaaagatcc agaacttcag ggtgtactac	3840
	agggacagca gagatcccct gtggaaggga cctgccaaagc tgctgtggaa aggcgaagga	3900
	gccgtcgtca tccaggacaa cagcgacatc aaggtggtgc ccagacgga ggccaagatc	3960
	atcagagact acggcaaca gatggctggc gacgactgcg tcgcctctag gcaggacgag	4020
	gac	4023
	<210> 22	
	<211> 2055	
	<212> AND	
5	<213> Secvență artificială	
	<220>	
	<223> secvență de nucleotide care codifică mos1Env	
	<400> 22	
	atgcgggtga ccggcatccg gaagaactac cagcacctgt ggcgggtggg caccatgctg	60
	ctgggcatcc tgatgatttg ctctgccgcc ggaagctgt gggtgaccgt gtactacggc	120
	gtgcccgtgt ggaaagaggc caccaccacc ctgttctgcg ccagcgacgc caaggcctac	180
	gacaccgagg tgcacaacgt gtgggccacc cagcctgcg tgcccaccga cccaacccc	240
	caggaagtgg tcctggaaaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa caacatggtg	300
	gagcagatgc acgaggacat catcagcctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgcgtgaag	360
	ctgacccccc tgtgcgtgac cctgaactgc accgacgacg tgcggaacgt gaccaacaac	420

```

gccaccaaca ccaacagcag ctggggcgag cctatggaaa agggcgagat caagaactgc      480
agcttcaaca tcaccacctc catccggaac aaggtgcaga agcagtagcg cctgtttctac      540
aagctggacg tgggtgcccac cgacaacgac agcaacaaca ccaactaccg gctgatcagc      600
tgcaacacca gcgtgatcac ccaggcctgc cccaaggtgt ccttcgagcc catccccatc      660
cactactgcg cccctgcccg cttcgccatc ctgaagtgc aagacaagaa gttcaacggc      720
accggccccc gcaccaacgt gagcacctg cagtgcaccc acggcatccg gcccggtgtg      780
tccacccagc tgctgctgaa cggcagcctg gccgaggaag aggtggtgat cagaagcgag      840
aatttcacca acaatgccaa gaccatcatg gtgcagctga acgtgagcgt ggagatcaac      900
tgcacccggc ccaacaacaa ccccgggaag agcatccaca tcggccctgg cagggccttc      960
tacacagccg gcgacatcat cggcgacatc cggcaggccc actgcaacat cagccggggc     1020
aactggaaca acaccctgcg gcagatcgtg gagaagctgg gcaagcagtt cggcaacaac     1080
aagaccatcg tgttcaacca cagcagcggc ggagaccccc agatcgtgat gcacagcttc     1140
aactgtggcg gcgagttctt ctactgcaac agcaccaagc tgttcaacag cacctggacc     1200
tggaacaact ccacctggaa taacaccaag cggagcaacg acaccgaaga gcacatcacc     1260
ctgccctgcc ggatcaagca gattatcaat atgtggcagg aggtcggcaa ggccatgtac     1320
gccctccca tccggggcca gatccggtgc agcagcaaca tcaccggcct gctgctgacc     1380
cgggacggcg gcaacgatac cagcggcacc gagatcttcc ggcctggcgg cggagatatg     1440
cgggacaact ggcggagcga gctgtacaag tacaaggtgg tgaagatcga gccctggggc     1500
gtggctccca ccaaggccaa gcggcgggtg gtgcagagcg agaagagcgc cgtgggcatc     1560
ggcgccgtgt ttctgggctt cctgggagcc gccggaagca ccatgggagc cgccagcatg     1620
accctgaccg tgcaggcccg gctgctgctg tccggcatcg tgcagcagca gaacaacctg     1680
ctccgggcca tcgaggccca gcagcacctg ctgcagctga ccgtgtgggg catcaagcag     1740
ctgcaggcca ggggtgctggc cgtggagaga tacctgaagg atcagcagct cctggggatc     1800
tggggtgca ggggcaagct gatctgcacc accaccgtgc cctggaacgc cagctgggtc     1860
aacaagagcc tggacaagat ctggaacaat atgacctgga tggaatggga gcgcgagatc     1920
aacaattaca ccagcctgat ctacaccctg atcgaggaaa gccagaacca gcaggaaaag     1980
aacgagcagg aactgctgga actggacaag tgggccagcc tgtggaactg gttcgacatc     2040
agcaactggc tgtgg                                     2055
<210> 23
<211> 2052
<212> AND
5 <213> Secvență artificială
<220>
<223> secvență de nucleotide care codifică mos2Env
<400> 23

```

atgagagtgc	ggggcatcca	gcggaactgg	ccccagtggt	ggatctgggg	catcctgggc	60
ttttgatga	tcatcatctg	ccgggtgatg	ggcaacctgt	gggtgaccgt	gtactacggc	120
gtgcccgtgt	ggaaagaggc	caagaccacc	ctgttctgcg	ccagcgacgc	caaggcctac	180
gagaaaagg	tgcacaacgt	gtgggccacc	cacgcctgcg	tgccaccga	ccccaacccc	240
caggaaatgg	tcctggaaaa	cgtgaccgag	aacttcaaca	tgtggaagaa	cgacatgggtg	300
gaccagatgc	acgaggacat	catccggctg	tgggaccaga	gcctgaagcc	ctgcgtgaag	360
ctgaccccc	tgtgcgtgac	cctggaatgc	cggaaactga	gaaacgtgag	cagcaacggc	420
acctacaaca	tcatccacaa	cgagacctac	aaagagatga	agaactgcag	cttcaacgcc	480
accaccgtgg	tggaggaccg	gaagcagaag	gtgcacgccc	tgttctaccg	gctggacatc	540
gtgcccctgg	acgagaacaa	cagcagcgag	aagtccagcg	agaacagctc	cgagtactac	600
cggtgatca	actgcaacac	cagcgccatc	accagggcct	gccccaaagt	gtccttcgac	660
cccatcccca	tccactactg	cgccccctgc	ggctacgcca	tcctgaagtg	caacaacaag	720
accttcaacg	gcaccggccc	ctgcaacaac	gtgagcaccg	tgcagtgcac	ccacggcatc	780
aagcccgtgg	tgtccaccca	gctgctgctg	aacggcagcc	tggccgagga	agagatcatc	840
atccggtccg	agaacctgac	caacaacgcc	aagaccatca	tcgtgcacct	gaatgagacc	900
gtgaacatca	cctgcaccog	gcccacaac	aacaccggga	agagcatccg	gatcggccct	960
ggccagacct	tttacgccac	cgccgacatc	atcgccgaca	tccggcaggc	ccactgcaac	1020
ctgagccggg	acggctggaa	caagaccctg	cagggcgtga	agaagaagct	ggccgagcac	1080
ttccccaata	agaccatcaa	cttcaccagc	agcagcggcg	gagacctgga	aatcaccacc	1140
cacagcttca	actgcagggg	cgagttcttc	tactgcaata	cctccggcct	gttcaatggc	1200
acctacatgc	ccaacggcac	caacagcaac	agcagcagca	acatcaccct	gccctgccgg	1260
atcaagcaga	tcatcaatat	gtggcaggag	gtcggcaggg	ccatgtacgc	ccctcccatc	1320
gccggcaata	tcacctgccg	gtccaacatc	accggcctgc	tgctgaccag	ggacggcggc	1380
agcaacaacg	gcgtgcctaa	cgacaccgag	accttcgggc	ctggcggcgg	agatatgcgg	1440
aacaactggc	ggagcgagct	gtacaagtac	aaggtggtgg	aggtgaagcc	cctgggcgtg	1500
gtcctaccg	aggccaagcg	gcgggtggtg	gagagcgaga	agagcgccgt	gggcacgggc	1560
gccgtgtttc	tgggcattct	gggagccgcc	ggaagcacca	tgggagccgc	cagcatcacc	1620
ctgaccgtgc	aggcccggca	gctgctgtcc	ggcatcgtgc	agcagcagag	caacctgctg	1680
agagccatcg	aggcccagca	gcacatgctg	cagctgaccg	tgtggggcat	caagcagctg	1740
cagaccggg	tgctggccat	cgagagatac	ctgcaggatc	agcagctcct	gggcctgtgg	1800
ggctgcagcg	gcaagctgat	ctgcaccacc	gccgtgccct	ggaacaccag	ctggtccaac	1860
aagagccaga	ccgacatctg	ggacaacatg	acctggatgc	agtgggacaa	agagatcggc	1920
aactacaccg	gcgagatcta	caggctgctg	gaagagagcc	agaaccagca	ggaaaagaac	1980
gagaaggacc	tgctggccct	ggacagctgg	aagaacctgt	ggaactggtt	cgacatcacc	2040
aactggctgt	gg					2052

<210> 24

<211> 829

<212> AND

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Promotorul CMV utilizat pentru exprimarea antigenelor la vectorii Ad26

<400> 24

tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta	60
ttggccattg catacgttgt atccatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc	120
aacattaccg ccatgttgac attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg	180
gtcattagtt catagcccat atatggagtt cgcggttaca taacttacgg taaatggccc	240
gcctggctga ccgcccaacg acccccggcc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat	300
agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc	360
ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat gccaaagtac cccctattg acgtcaatga	420
cggtaaattg cccgcctggc attatgcccc gtacatgacc ttatgggact ttcctacttg	480
gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatgggt atgcggtttt ggcagtacat	540
caatgggctg ggatagcggg ttgactcaag gggatttcca agtctccacc ccattgacgt	600
caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaaatgtc gtaacaactc	660
cgtcccatgg acgcaaatgg gcggtagggc tgtacgggtg gaggtctata taagcagagc	720
tcgttttagtg aaccgtcaga tcgcctggag acgccatcca cgtgttttg acctccatag	780
aagacaccgg gaccgatcca gcctccggcg ccgggaacgg tgcattgga	829

<210> 25

5 <211> 2586

<212> AND

<213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de nucleotide care codifică C4

10 <400> 25

atgagagtgc ggggcatgct gagaaactgg cagcagtggt ggatctggtc cagcctgggc	60
ttctggatgc tgatgatcta cagcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
gtgcccgtgt ggaaggacgc caagaccacc ctgttttgcg cctccgatgc caaggcctac	180

gagaaagagg tgcacaacgt ctggggccacc cagccctgtg tgcccaccga cccaatccc	240
caggaaatcg tcctgggcaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatggtc	300
gatcagatgc acgaggacat catctccctg tgggacgcct ccttggaaacc ctgcgtgaag	360
ctgacccctc tgtgcgtgac cctgaactgc cggaacgtgc gcaacgtgtc cagcaacggc	420
acctacaaca tcattccaaa cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct	480
accacccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttctaccg gctggacatc	540
gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtccctcg agaacagctc cgagtactac	600
agactgatca actgcaacac cagcgccatc acccaggcct gcccgaaggc gtccttogac	660
cctatcccca tccactactg cggccctgcc ggctacgcca tcctgaagtg caacaacaag	720
accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc	780
aagcccgtag tgtctaccca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatt	840
atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aaaaccatca tcgtccacct gaacgaaacc	900
gtgaacatca cctgtaccgg gctaacaac aacaccggga agtccatccg gatcgccct	960
ggccagacct tttaacgccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccactgcaat	1020
ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcgtca agaagaagct ggccgaacac	1080
ttccctaaca agactatcaa gttcgcccct cactctggcg gcgacctgga aatcaccacc	1140
cacaccttca actgtcgggg cgagttcttc tactgcaata cctccaacct gttcaacgag	1200
agcaacatcg agcggaaacg cagcatcatc aactgcctt gccggatcaa gcagattatc	1260
aatatgtggc aggaagtggg cagagccatc tacgcccctc caatcgccgg caacatcaca	1320
tgccggtcca atatcaccgg cctgctgctc accagagatg gcggctccaa caatggcgtg	1380
ccaaacgaca ccgagacatt cagaccgggc ggaggcgaca tgcggaacaa ttggcggagc	1440
gagctgtaca agtacaaggt ggtggaagtg aagccctgg gcgtggcccc taccgaggcc	1500
aagagaagag tggtcgaacg cgagaagcgg gccgtgggaa tcggagccgt gtttctggga	1560
atcctgggag ccgctggctc taccatgggc gctgcctcta tcacctgac agtgcaggcc	1620
agacagctgc tcagcggcat cgtgcagcag cagagcaacc tgctgagagc cattgaggcc	1680
cagcagcaca tgctgcagct gaccgtgtgg ggcattaagc agctccagac acgggtgctg	1740
gccatogaga gatacctgca ggatcagcag ctccctgggc tgtggggctg tagcggcaag	1800
ctgatctgta ccaccgccgt gccctggaat acctcttga gcaacaagag ccagaccgac	1860
atctgggaca acatgacctg gatgcagtgg gacaaagaaa tcggcaacta taccggcgag	1920
atctatagac tgctggaaga gtcccagaac cagcaggaaa agaacgagaa ggacctgctg	1980
gccctggatt cttggaacaa tctgtggaac tggttcagca tctccaagtg gctgtggtac	2040

atcaagatct tcatcatgat cgtgggcggc ctgatcgcc tgggatcat ctttgccgtg	2100
ctgagcatcg tgaaccgct ggggcaggga tacagccctc tgagcctgca gaccctgact	2160
cagaacctcg gcggaactgga cagactgggc cggattgagg aagaaggcgg cgagcaggac	2220
aaggatcgga gcatcaggct ggtcaacggc ttcttcgctc tgttttgga cgacctgcgg	2280
agcctgtgcc tgttcagcta ccacagactg cgggacttta tcctgattgt ggccagagcc	2340
gtcgaactgc tggggagaag ctctctgaga ggcctgcagc ggggctggga gattctgaag	2400
tacctgggct ccctgctgca gtactggggc ctggaactga agaagtctgc catcaatctg	2460
ctcgacacaa tcgtatttgc cgtggccgaa ggcaaccgata gaatcatcga gctgatccag	2520
cggatctgcc gggccatctg caacatcccc agacggatca gacagggtt cgaggccgct	2580
ctgcag	2586

<210> 26

<211> 2133

<212> AND

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de nucleotide care codifică C4D7

<400> 26

atgagagtgc ggggcatgct gagaaactgg cagcagtggg ggatctggtc cagcctgggc	60
ttctggatgc tgatgatcta cagcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
gtgcccgtgt ggaaggacgc caagaccacc ctgttttgcg cctccgatgc caaggcctac	180
gagaaagagg tgcacaacgt ctggggccacc cagcctgtg tggccaccga cccaatccc	240
caggaaatcg tcctgggcaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatggtc	300
gatcagatgc acgaggacat catctccctg tgggacgect ccctggaacc ctgctgaag	360
ctgaccocctc tgtgctgac cctgaactgc cggaacgtgc gcaacgtgc cagcaacggc	420
acctacaaca tcatccacaa cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct	480
accaccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttctaccg gctggacatc	540
gtgcccotgg acgagaacaa cagcagcgag aagtcctccg agaacagctc cgagtactac	600
agactgatca actgcaacac cagcgccatc acccaggcct gcccgaaggt gtccttcgac	660
cctatcccca tccactactg cggccctgcc ggctacgcca tcctgaagtg caacaacaag	720
accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc	780
aagcccgtgg tgtctacca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatt	840
atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aaaaccatca tcgtccacct gaacgaaacc	900
gtgaacatca cctgtaccgg gcttaacaac aacaccggga agtccatccg gatcggcctt	960
ggccagacct tttaacgccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccactgcaat	1020

	ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcggtca agaagaagct ggccgaacac	1080
	ttccctaaca agactatcaa gttcgccctt cactctggcg gcgacctgga aatcaccacc	1140
	cacaccttca actgtcgggg cgagttcttc tactgcaata cctccaacct gttcaacgag	1200
	agcaacatcg agcgggaacga cagcatcatc acactgcctt gccggatcaa gcagattatc	1260
	aatatgtggc aggaagtggg cagagccatc tacgcccctc caatcgccgg caacatcaca	1320
	tgcgggtcca atatcaccgg cctgctgctc accagagatg gcggctccaa caatggcgtg	1380
	ccaaacgaca ccgagacatt cagacccggc ggaggcgaca tgcggaacaa ttggcggagc	1440
	gagctgtaca agtacaaggt ggtggaagtg aagcccctgg gcgtggcccc taccgaggcc	1500
	aagagaagag tggtcgaacg cgagaagcgg gccgtgggaa tcggagccgt gtttctggga	1560
	atcctgggag ccgctggctc taccatgggc gctgcctcta tcacctgac agtgcaggcc	1620
	agacagctgc tcagcggcat cgtgcagcag cagagcaacc tgctgagagc cattgaggcc	1680
	cagcagcaca tgctgcagct gaccgtgtgg ggcattaagc agctccagac acgggtgctg	1740
	gccatcgaga gatacctgca ggatcagcag ctccctgggc tgtggggctg tagcggcaag	1800
	ctgatctgta ccaccgccgt gccctggaat acctottgga gcaacaagag ccagaccgac	1860
	atctgggaca acatgacctg gatgcagtgg gacaaagaaa tcggcaacta taccggcgag	1920
	atctatagac tgctggaaga gtcccagaac cagcaggaaa agaaccagaa ggacctgctg	1980
	gccctggatt cttggaacaa tctgtggaac tggttcagca tctccaagtg gctgtggtac	2040
	atcaagatct tcatcatgat cgtgggcggc ctgatcggcc tgcggatcat ctttgccgtg	2100
	ctgagcatcg tgaaccgcgt gcggcagggc tac	2133
	<210> 27	
	<211> 2112	
	<212> AND	
5	<213> Secvență artificială	
	<220>	
	<223> secvență de nucleotide care codifică sC4	
	<400> 27	
	atgagagtgc ggggcatgct gagaaactgg cagcagtggg ggatctggtc cagcctgggc	60
	ttctggatgc tgatgatcta cagcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc	120
	gtgccctgtt ggaaggacgc caagaccacc ctgttttgcg cctccgatgc caaggcctac	180
	gagaaaagagg tgcacaacgt ctgggccacc cagcctgtg tgcaccacca cccaatccc	240
	caggaaatcg tcctgggcaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatggtc	300
	gatcagatgc acgaggacat catctccctg tgggacgcct ccctggaacc ctgcgtgaag	360
	ctgacccctc tgtgcgtgac cctgaactgc cggaactgac gcaacgtgtc cagcaacggc	420

```

acctacaaca tcattccaaa cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct      480
accaccgtgg tcgaggaccg gaagcagaag gtgcacgccc tgttctaccg gctggacatc      540
gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcgag aagtcctccg agaacagctc cgagtactac      600
agactgatca actgcaacac cagcgccatc acccaggcct gccccaaggt gtccttcgac      660
cctatcccca tccactactg cggccctgcc ggctacgcca tcctgaagtg caacaacaag      720
accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc      780
aagcccgtgg tgtctaccca gctgctgctg aacggcgacc tggccgagga agagatcatt      840
atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aaaaccatca tcgtccacct gaacgaaacc      900
gtgaacatca cctgtaccog gcctaacaac aacaccogga agtccatccg gatcggccct      960
ggccagacct tttagccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccactgcaat     1020
ctgagccogg acggctggaa caagacactg cagggcgctc agaagaagct ggccgaacac     1080
ttccctaaca agactatcaa gttcgccctt cactctggcg gcgacctgga aatcaccacc     1140
cacaccttca actgtcgggg cgagttcttc tactgcaata cctccaacct gttcaacgag     1200
agcaacatcg agcgggaacg cagcatcatc aactgcctt gccggatcaa gcagattatc     1260
aatatgtggc aggaagtggg cagagccatc tacgcccctc caatcgccgg caacatcaca     1320
tgccggtcca atatcaccgg cctgctgctc accagagatg gcggctccaa caatggcgtg     1380
ccaaacgaca ccgagacatt cagacccggc ggaggcgaca tgcggaacaa ttggcggagc     1440
gagctgtaca agtacaaggt ggtggaagtg aagcccctgg gcgtggcccc taccgaggcc     1500
aagagaagag tggtcgaacg cgaggaacgg gccgtgggaa tcggagccgt gtttctggga     1560
atcctgggag ccgctggctc taccatgggc gctgcctcta tcacctgac agtgcaggcc     1620
agacagctgc tcagcgcat cgtgcagcag cagagcaacc tgetgagagc cattgaggcc     1680
cagcagcaca tgctgcagct gaccgtgtgg ggcatthaagc agctccagac acgggtgctg     1740
gccatcgaga gatacctgca ggatcagcag ctctctgggc tgtggggctg tagcggcaag     1800
ctgatctgta ccaccgccgt gccctggaat acctcttgga gcaacaagag ccagaccgac     1860
atctgggaca acatgacctg gatgcagtgg gacaaagaaa tcggcaacta taccggcgag     1920
atctatagac tgetggaaga gtcccagaac cagcaggaaa agatgaagca gatcgaggac     1980
aagatcgaag agattctgag caagatctac cacatcgaga acgagatcgc ccgcatcaag     2040
aaactgatcg gcgaagtggg atccggcgct cccacaaagg ccaaaagacg ggtggtgcag     2100
cgcgagaaac gc                                             2112

```

<210> 28

<211> 1350

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență antigen mozaic mos1GagPol

<400> 28

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

75

```

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1          5          10          15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
          20          25          30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
          35          40          45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
          50          55          60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
65          70          75          80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
          85          90          95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
          100          105          110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asn Ser Ser Gln Val
          115          120          125

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
130          135          140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
145          150          155          160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
          165          170          175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
          180          185          190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
          195          200          205

Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
210          215          220

Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr

```

225						230										235						240
Ser	Thr	Leu	Gln	Glu	Gln	Ile	Gly	Trp	Met	Thr	Asn	Asn	Pro	Pro	Ile							
				245					250					255								
Pro	Val	Gly	Glu	Ile	Tyr	Lys	Arg	Trp	Ile	Ile	Leu	Gly	Leu	Asn	Lys							
			260					265					270									
Ile	Val	Arg	Met	Tyr	Ser	Pro	Val	Ser	Ile	Leu	Asp	Ile	Arg	Gln	Gly							
		275						280				285										
Pro	Lys	Glu	Pro	Phe	Arg	Asp	Tyr	Val	Asp	Arg	Phe	Tyr	Lys	Thr	Leu							
	290					295					300											
Arg	Ala	Glu	Gln	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Lys	Asn	Trp	Met	Thr	Glu	Thr							
305					310					315					320							
Leu	Leu	Val	Gln	Asn	Ala	Asn	Pro	Asp	Cys	Lys	Thr	Ile	Leu	Lys	Ala							
			325						330					335								
Leu	Gly	Pro	Ala	Ala	Thr	Leu	Glu	Glu	Met	Met	Thr	Ala	Cys	Gln	Gly							
			340					345					350									
Val	Gly	Gly	Pro	Gly	His	Lys	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Glu	Ala	Met	Ser							
		355					360					365										
Gln	Val	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Ile	Met	Met	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Arg							
	370					375					380											
Asn	Gln	Arg	Lys	Thr	Val	Lys	Cys	Phe	Asn	Cys	Gly	Lys	Glu	Gly	His							
385					390					395					400							
Ile	Ala	Lys	Asn	Cys	Arg	Ala	Pro	Arg	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Lys	Cys							
			405						410					415								
Gly	Lys	Glu	Gly	His	Gln	Met	Lys	Asp	Cys	Thr	Glu	Arg	Gln	Ala	Asn							
			420					425					430									
Phe	Leu	Gly	Lys	Ile	Trp	Pro	Ser	Asn	Lys	Gly	Arg	Pro	Gly	Asn	Phe							
		435					440					445										
Leu	Gln	Asn	Arg	Pro	Glu	Pro	Thr	Ala	Pro	Pro	Glu	Glu	Ser	Phe	Arg							
	450					455					460											
Phe	Gly	Glu	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Gln	Lys	Gln	Glu	Pro	Ile	Asp							
465					470					475					480							

Lys Glu Met Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp
 485 490 495

Pro Ser Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val
 500 505 510

Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Arg Val Lys Gln Trp Pro Leu
 515 520 525

Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Ala Ile Cys Glu Glu Met Glu
 530 535 540

Lys Glu Gly Lys Ile Thr Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr
 545 550 555 560

Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu
 565 570 575

Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val
 580 585 590

Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val
 595 600 605

Thr Val Leu Ala Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu
 610 615 620

Gly Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu
 625 630 635 640

Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys
 645 650 655

Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Cys Ser Met Thr Arg Ile Leu Glu Pro
 660 665 670

Phe Arg Ala Lys Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala
 675 680 685

Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Ala Lys Ile
 690 695 700

Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Lys Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp
 705 710 715 720

Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu
 725 730 735

```

His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Gln Leu Pro Glu Lys Asp
      740                      745                      750

Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp
      755                      760                      765

Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu
      770                      775                      780

Leu Arg Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Pro Leu Thr Glu Glu
      785                      790                      795                      800

Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val
      805                      810                      815

His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln
      820                      825                      830

Lys Gln Gly His Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe
      835                      840                      845

Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Lys Met Arg Thr Ala His Thr
      850                      855                      860

Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln Lys Ile Ala Met Glu
      865                      870                      875                      880

Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Arg Leu Pro Ile Gln
      885                      890                      895

Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp
      900                      905                      910

Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp
      915                      920                      925

Tyr Gln Leu Glu Lys Asp Pro Ile Ala Gly Val Glu Thr Phe Tyr Val
      930                      935                      940

Ala Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val
      945                      950                      955                      960

Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Ile Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn
      965                      970                      975

Gln Lys Thr Ala Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly
      980                      985                      990

```

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

79

Ser	Glu	Val	Asn	Ile	Val	Thr	Ala	Ser	Gln	Tyr	Ala	Leu	Gly	Ile	Ile
		995					1000					1005			
Gln	Ala	Gln	Pro	Asp	Lys	Ser	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Asn	Gln	Ile	
	1010					1015					1020				
Ile	Glu	Gln	Leu	Ile	Lys	Lys	Glu	Arg	Val	Tyr	Leu	Ser	Trp	Val	
	1025					1030					1035				
Pro	Ala	His	Lys	Gly	Ile	Gly	Gly	Asn	Glu	Gln	Val	Asp	Lys	Leu	
	1040					1045					1050				
Val	Ser	Ser	Gly	Ile	Arg	Lys	Val	Leu	Phe	Leu	Asp	Gly	Ile	Asp	
	1055					1060					1065				
Lys	Ala	Gln	Glu	Glu	His	Glu	Lys	Tyr	His	Ser	Asn	Trp	Arg	Ala	
	1070					1075					1080				
Met	Ala	Ser	Asp	Phe	Asn	Leu	Pro	Pro	Val	Val	Ala	Lys	Glu	Ile	
	1085					1090					1095				
Val	Ala	Ser	Cys	Asp	Gln	Cys	Gln	Leu	Lys	Gly	Glu	Ala	Met	His	
	1100					1105					1110				
Gly	Gln	Val	Asp	Cys	Ser	Pro	Gly	Ile	Trp	Gln	Leu	Ala	Cys	Thr	
	1115					1120					1125				
His	Leu	Glu	Gly	Lys	Ile	Ile	Leu	Val	Ala	Val	His	Val	Ala	Ser	
	1130					1135					1140				
Gly	Tyr	Ile	Glu	Ala	Glu	Val	Ile	Pro	Ala	Glu	Thr	Gly	Gln	Glu	
	1145					1150					1155				
Thr	Ala	Tyr	Phe	Ile	Leu	Lys	Leu	Ala	Gly	Arg	Trp	Pro	Val	Lys	
	1160					1165					1170				
Val	Ile	His	Thr	Ala	Asn	Gly	Ser	Asn	Phe	Thr	Ser	Ala	Ala	Val	
	1175					1180					1185				
Lys	Ala	Ala	Cys	Trp	Trp	Ala	Gly	Ile	Gln	Gln	Glu	Phe	Gly	Ile	
	1190					1195					1200				
Pro	Tyr	Asn	Pro	Gln	Ser	Gln	Gly	Val	Val	Ala	Ser	Met	Asn	Lys	
	1205					1210					1215				
Glu	Leu	Lys	Lys	Ile	Ile	Gly	Gln	Val	Arg	Asp	Gln	Ala	Glu	His	

1220	1225	1230
Leu Lys Thr Ala Val Gln Met	Ala Val Phe Ile His	Asn Phe Lys
1235	1240	1245
Arg Lys Gly Gly Ile Gly Gly	Tyr Ser Ala Gly Glu	Arg Ile Ile
1250	1255	1260
Asp Ile Ile Ala Thr Asp Ile	Gln Thr Lys Glu Leu	Gln Lys Gln
1265	1270	1275
Ile Ile Lys Ile Gln Asn Phe	Arg Val Tyr Tyr Arg	Asp Ser Arg
1280	1285	1290
Asp Pro Ile Trp Lys Gly Pro	Ala Lys Leu Leu Trp	Lys Gly Glu
1295	1300	1305
Gly Ala Val Val Ile Gln Asp	Asn Ser Asp Ile Lys	Val Val Pro
1310	1315	1320
Arg Arg Lys Val Lys Ile Ile	Lys Asp Tyr Gly Lys	Gln Met Ala
1325	1330	1335
Gly Ala Asp Cys Val Ala Gly	Arg Gln Asp Glu Asp	
1340	1345	1350
<210> 29		
<211> 1341		
<212> PRT		
5 <213> Secvență artificială		
<220>		
<223> secvență antigen mozaic mos2GagPol		
<400> 29		
Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Lys Trp		
1 5 10 15		
Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys		
20 25 30		
His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro		
35 40 45		
Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Lys Gln Leu		
50 55 60		
Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Thr Glu Glu Leu Arg Ser Leu Phe Asn		
65 70 75 80		

```

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Ala Glu Ile Glu Val Arg Asp
      85                      90                      95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Gln
      100                      105                      110

Gln Lys Thr Gln Gln Ala Lys Glu Ala Asp Gly Lys Val Ser Gln Asn
      115                      120                      125

Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Pro Ile
      130                      135                      140

Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala
      145                      150                      155                      160

Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Thr Ala Leu Ser Glu Gly Ala
      165                      170                      175

Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln
      180                      185                      190

Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Asp Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu
      195                      200                      205

Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Val Ala Pro Gly Gln
      210                      215                      220

Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Asn Leu
      225                      230                      235                      240

Gln Glu Gln Ile Ala Trp Met Thr Ser Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly
      245                      250                      255

Asp Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg
      260                      265                      270

Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Lys Gln Gly Pro Lys Glu
      275                      280                      285

Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Thr Leu Arg Ala Glu
      290                      295                      300

Gln Ala Thr Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Asp Thr Leu Leu Val
      305                      310                      315                      320

Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Arg Ala Leu Gly Pro

```

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

82

325

330

335

Gly Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly
 340 345 350

Pro Ser His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln Thr Asn
 355 360 365

Ser Thr Ile Leu Met Gln Arg Ser Asn Phe Lys Gly Ser Lys Arg Ile
 370 375 380

Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile Ala Arg Asn Cys
 385 390 395 400

Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His
 405 410 415

Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile
 420 425 430

Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro
 435 440 445

Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe Glu Glu Thr Thr
 450 455 460

Pro Ala Pro Lys Gln Glu Pro Lys Asp Arg Glu Pro Leu Thr Ser Leu
 465 470 475 480

Arg Ser Leu Phe Gly Ser Asp Pro Leu Ser Gln Met Ala Pro Ile Ser
 485 490 495

Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro
 500 505 510

Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val
 515 520 525

Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly
 530 535 540

Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp
 545 550 555 560

Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg
 565 570 575

```

Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly
580                               585                               590

Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Ala Val Gly Asp Ala Tyr
595                               600                               605

Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr
610                               615                               620

Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn
625                               630                               635                               640

Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser
645                               650                               655

Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val
660                               665                               670

Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile
675                               680                               685

Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg
690                               695                               700

Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe
705                               710                               715                               720

Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro
725                               730                               735

Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys
740                               745                               750

Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys
755                               760                               765

Val Lys Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu
770                               775                               780

Val Val Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg
785                               790                               795                               800

Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys
805                               810                               815

Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr
820                               825                               830

```

Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala
 835 840 845

Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala
 850 855 860

Val Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro
 865 870 875 880

Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Ala Trp Trp Thr
 885 890 895

Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr
 900 905 910

Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Val
 915 920 925

Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Ala Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys
 930 935 940

Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly Arg Gln Lys Val Val
 945 950 955 960

Ser Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Ala Leu Gln Ala Ile His
 965 970 975

Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Ala Ser
 980 985 990

Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser
 995 1000 1005

Glu Leu Val Ser Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys
 1010 1015 1020

Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn
 1025 1030 1035

Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Arg Gly Ile Arg Lys Val Leu
 1040 1045 1050

Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr
 1055 1060 1065

His Ser Asn Trp Arg Ala Met Ala Ser Glu Phe Asn Leu Pro Pro
 1070 1075 1080

Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln Leu
1085 1090 1095

Lys Gly Glu Ala Ile His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile
1100 1105 1110

Trp Gln Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val
1115 1120 1125

Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro
1130 1135 1140

Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala
1145 1150 1155

Gly Arg Trp Pro Val Lys Thr Ile His Thr Ala Asn Gly Ser Asn
1160 1165 1170

Phe Thr Ser Ala Thr Val Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile
1175 1180 1185

Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val
1190 1195 1200

Val Ala Ser Ile Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val
1205 1210 1215

Arg Asp Gln Ala Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val
1220 1225 1230

Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Glu Tyr Ser
1235 1240 1245

Ala Gly Glu Arg Ile Val Asp Ile Ile Ala Ser Asp Ile Gln Thr
1250 1255 1260

Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val
1265 1270 1275

Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Leu Trp Lys Gly Pro Ala Lys
1280 1285 1290

Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser
1295 1300 1305

Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Ile Arg Asp
1310 1315 1320

Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln
1325 1330 1335

Asp Glu Asp
1340

<210> 30

<211> 709

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență sC1

<400> 30

Met	Arg	Val	Arg	Gly	Ile	Gln	Arg	Asn	Trp	Pro	Gln	Trp	Trp	Ile	Trp
1				5					10					15	

Gly	Ile	Leu	Gly	Phe	Trp	Met	Ile	Ile	Ile	Cys	Arg	Val	Met	Gly	Asn
			20					25					30		

Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Glu	Ala	Lys
		35					40					45			

Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Glu	Lys	Glu	Val
	50						55				60				

His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro
65					70					75					80

Gln	Glu	Met	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys
				85					90					95	

Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Arg	Leu	Trp	Asp
			100					105					110		

Gln	Ser	Leu	Lys	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu
		115					120					125			

Glu	Cys	Arg	Asn	Val	Arg	Asn	Val	Ser	Ser	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	Ile
	130					135					140				

Ile	His	Asn	Glu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Ser	Phe	Asn	Ala
145					150					155					160

Thr	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Arg	Lys	Gln	Lys	Val	His	Ala	Leu	Phe	Tyr
				165					170					175	

```

Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser
    180                      185                      190

Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser
    195                      200                      205

Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile
    210                      215                      220

His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
    225                      230                      235                      240

Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
    245                      250                      255

Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
    260                      265                      270

Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
    275                      280                      285

Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr
    290                      295                      300

Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro
    305                      310                      315                      320

Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
    325                      330                      335

Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly
    340                      345                      350

Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Asn Phe
    355                      360                      365

Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn
    370                      375                      380

Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly
    385                      390                      395                      400

Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr
    405                      410                      415

Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly

```

420	425	430
Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser 435 440 445		
Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly 450 455 460		
Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg 465 470 475 480		
Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys 485 490 495		
Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg 500 505 510		
Glu Glu Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly 515 520 525		
Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln 530 535 540		
Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu 545 550 555 560		
Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly 565 570 575		
Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln 580 585 590		
Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys 595 600 605		
Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr 610 615 620		
Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly 625 630 635 640		
Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln 645 650 655		
Gln Glu Lys Met Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser 660 665 670		
Lys Ile Tyr His Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile 675 680 685		
Gly Glu Val Gly Ser Gly Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val 690 695 700		

Gln Arg Glu Lys Arg
705

<210> 31

<211> 867

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență C1

<400> 31

Met	Arg	Val	Arg	Gly	Ile	Gln	Arg	Asn	Trp	Pro	Gln	Trp	Trp	Ile	Trp
1				5					10					15	

Gly	Ile	Leu	Gly	Phe	Trp	Met	Ile	Ile	Ile	Cys	Arg	Val	Met	Gly	Asn
			20					25					30		

Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Glu	Ala	Lys
		35					40					45			

Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Glu	Lys	Glu	Val
	50					55					60				

His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro
65					70					75					80

Gln	Glu	Met	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys
				85					90					95	

Asn	Asp	Met	Val	Asp	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Arg	Leu	Trp	Asp
			100					105					110		

Gln	Ser	Leu	Lys	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu
		115					120					125			

Glu	Cys	Arg	Asn	Val	Arg	Asn	Val	Ser	Ser	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	Ile
	130					135					140				

Ile	His	Asn	Glu	Thr	Tyr	Lys	Glu	Met	Lys	Asn	Cys	Ser	Phe	Asn	Ala
145					150					155					160

5	Thr	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Arg	Lys	Gln	Lys	Val	His	Ala	Leu	Phe	Tyr
---	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

90

165

170

175

Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser
180 185 190

Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser
195 200 205

Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile
210 215 220

His	Tyr	Cys	Ala	Pro	Ala	Gly	Tyr	Ala	Ile	Leu	Lys	Cys	Asn	Asn	Lys
225					230					235					240

Thr	Phe	Asn	Gly	Thr	Gly	Pro	Cys	Asn	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys
				245					250					255	

Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
260 265 270

Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
275 280 285

```
Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr  
290                               295                   300
```

Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Lys	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Pro
305					310					315					320

Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
325 330 335

Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly
340 345 350

Val	Lys	Lys	Lys	Leu	Ala	Glu	His	Phe	Pro	Asn	Lys	Thr	Ile	Asn	Phe
		355					360					365			

Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn
370 375 380

Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly
385 390 395 400

Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr
405 410 415

```

Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly
    420                      425                      430

Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser
    435                      440                      445

Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly
    450                      455                      460

Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg
    465                      470                      475                      480

Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys
    485                      490                      495

Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg
    500                      505                      510

Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly
    515                      520                      525

Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln
    530                      535                      540

Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu
    545                      550                      555                      560

Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly
    565                      570                      575

Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln
    580                      585                      590

Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys
    595                      600                      605

Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr
    610                      615                      620

Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly
    625                      630                      635                      640

Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln
    645                      650                      655

Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn
    660                      665                      670

```

Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile
675 680 685

Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala
690 695 700

Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser
705 710 715 720

Leu Gln Thr Leu Thr Gln Asn Pro Gly Gly Leu Asp Arg Leu Gly Arg
725 730 735

Ile Glu Glu Glu Gly Gly Glu Gln Asp Lys Asp Arg Ser Ile Arg Leu
740 745 750

Val Asn Gly Phe Phe Ala Leu Phe Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys
755 760 765

Leu Phe Ser Tyr His Arg Leu Arg Asp Phe Ile Leu Ile Val Ala Arg
770 775 780

Ala Val Glu Leu Leu Gly Arg Ser Ser Leu Arg Gly Leu Gln Arg Gly
785 790 795 800

Trp Glu Ile Leu Lys Tyr Leu Gly Ser Leu Leu Gln Tyr Trp Gly Leu
805 810 815

Glu Leu Lys Lys Ser Ala Ile Asn Leu Leu Asp Thr Ile Ala Ile Ala
820 825 830

Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Ile Ile Glu Leu Ile Gln Arg Ile Cys
835 840 845

Arg Ala Ile Cys Asn Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Phe Glu Ala
850 855 860

Ala Leu Gln
865

<210> 32

<211> 716

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență CID7

<400> 32

```

Met Arg Val Arg Gly Ile Gln Arg Asn Trp Pro Gln Trp Trp Ile Trp
1          5          10          15

Gly Ile Leu Gly Phe Trp Met Ile Ile Ile Cys Arg Val Met Gly Asn
20          25          30

Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Lys
35          40          45

Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu Lys Glu Val
50          55          60

His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
65          70          75          80

Gln Glu Met Val Leu Glu Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys
85          90          95

Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg Leu Trp Asp
100         105         110

Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
115         120         125

Glu Cys Arg Asn Val Arg Asn Val Ser Ser Asn Gly Thr Tyr Asn Ile
130         135         140

Ile His Asn Glu Thr Tyr Lys Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala
145         150         155         160

Thr Thr Val Val Glu Asp Arg Lys Gln Lys Val His Ala Leu Phe Tyr
165         170         175

Arg Leu Asp Ile Val Pro Leu Asp Glu Asn Asn Ser Ser Glu Lys Ser
180         185         190

Ser Glu Asn Ser Ser Glu Tyr Tyr Arg Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser
195         200         205

Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Asp Pro Ile Pro Ile
210         215         220

His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
225         230         235         240

Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Asn Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
245         250         255

```

```

Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
260                               265                               270

Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn
275                               280                               285

Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu Asn Glu Thr Val Asn Ile Thr
290                               295                               300

Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro
305                               310                               315                               320

Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
325                               330                               335

Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Asp Gly Trp Asn Lys Thr Leu Gln Gly
340                               345                               350

Val Lys Lys Lys Leu Ala Glu His Phe Pro Asn Lys Thr Ile Asn Phe
355                               360                               365

Thr Ser Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser Phe Asn
370                               375                               380

Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe Asn Gly
385                               390                               395                               400

Thr Tyr Met Pro Asn Gly Thr Asn Ser Asn Ser Ser Ser Asn Ile Thr
405                               410                               415

Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly
420                               425                               430

Arg Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Arg Ser
435                               440                               445

Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asn Gly
450                               455                               460

Val Pro Asn Asp Thr Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg
465                               470                               475                               480

Asn Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Glu Val Lys
485                               490                               495

Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Glu Ala Lys Arg Arg Val Val Glu Arg
500                               505                               510

```

Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Ile Leu Gly
515 520 525

Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr Val Gln
530 535 540

Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn Leu Leu
545 550 555 560

Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Met Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly
565 570 575

Ile Lys Gln Leu Gln Thr Arg Val Leu Ala Ile Glu Arg Tyr Leu Gln
580 585 590

Asp Gln Gln Leu Leu Gly Leu Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys
595 600 605

Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Thr Ser Trp Ser Asn Lys Ser Gln Thr
610 615 620

Asp Ile Trp Asp Asn Met Thr Trp Met Gln Trp Asp Lys Glu Ile Gly
625 630 635 640

Asn Tyr Thr Gly Glu Ile Tyr Arg Leu Leu Glu Glu Ser Gln Asn Gln
645 650 655

Gln Glu Lys Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Lys Asn
660 665 670

Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile
675 680 685

Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu Ile Gly Leu Arg Ile Ile Phe Ala
690 695 700

Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg Gln Gly Tyr
705 710 715

<210> 33

<211> 2127

<212> AND

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de nucleotide care codifică sC1

<400> 33

atgagagtgc	ggggcattca	gagaaactgg	ccccagtggt	ggatctgggg	catcctgggc	60
ttttggatga	tcattatctg	ccgcgtgatg	ggcaacctgt	gggtcacctg	gtactacggc	120
gtgcccggtg	ggaagagggc	caagaccacc	ctgttctgcg	ccagcgacgc	caaggcctac	180
gagaaagagg	tgcacaacgt	ctgggccacc	cacgcctgtg	tgccaccga	ccccaatccc	240
caggaaatgg	tcctggaaaa	cgtgaccgag	aacttcaaca	tgtggaagaa	cgacatgggtg	300
gaccagatgc	acgaggacat	catccggctg	tgggaccaga	gcctgaagcc	ctgcgtgaag	360
ctgacccctc	tgtgcgtgac	cctggaatgc	cggaacgtgc	gcaacgtgtc	cagcaacggc	420
acctacaata	tcattccaaa	cgagacatac	aaagagatga	agaactgcag	cttcaacgct	480
accaccggtg	tcgaggaccg	gaagcagaag	gtgcacgccc	tgttttaccc	gctggacatc	540
gtgccccctg	acgagaacaa	cagcagcgag	aagtccctcc	agaacagctc	cgagtactac	600
agactgatca	actgcaacac	cagcgccatc	accacggcct	gccccaaagg	gtccttcgac	660
cctatcccca	tcactactg	cgccctcgcc	ggctacgcca	tcctgaagtg	caacaacaag	720
accttcaatg	gcaccggccc	ctgcaacaat	gtgtccaccg	tgcagtgcac	ccacggcatc	780
aagcccggtg	tgtctaccca	gctgctgctg	aacggcagcc	tggccgagga	agagatcatc	840
atcagaagcg	agaacctgac	caacaacgcc	aagacaatca	tcgtccacct	gaacgaaacc	900
gtgaacatca	cctgtaccgg	gcctaacaac	aacaccggga	agtccatccg	gatcggccct	960
ggccagacct	tttacgccac	cgccgatatt	atcggcgaca	tcgggcaggc	ccactgcaat	1020
ctgagccggg	acggctggaa	caagacactg	cagggcgctc	agaagaagct	ggccgaacac	1080
ttccccaaca	aaaccatcaa	cttcaccagc	tcctctggcg	gcgacctgga	aatcaccacc	1140
cacagcttta	actgcagagg	cgagttcttc	tactgcaata	cctccggcct	gttcaatgga	1200
acctacatgc	ccaacgggac	caacagcaac	tcacgcagca	atatcacctc	gccttgccgg	1260
atcaagcaga	ttatcaatat	gtggcaggaa	gtgggcagag	ctatgtacgc	ccctccaatc	1320
gccggcaaca	tcacatgcag	aagcaacatt	accggcctgc	tgcctaccag	ggacggcggc	1380
tctaacaatg	gcgtgccaaa	cgacaccgag	acattcagac	ccggcgaggg	cgacatgcgg	1440
aacaattggc	ggagcgagct	gtacaagtac	aagggtggtg	aagtgaagcc	cctgggctgt	1500
gcccctaccg	aagccaagag	aagagtggtc	gaacgcgagg	aacgggcccgt	gggcattgga	1560
gcctgttttc	tgggaatcct	gggagccgct	ggcagcacca	tgggcgctgc	ctctatcaca	1620
ctgacagtgc	aggccagaca	gctcctgagc	ggcatcgtgc	agcagcagag	caacctgctg	1680
agagccatcg	aggcacagca	gcacatgctg	cagctgaccg	tgtggggcat	taagcagctc	1740
cagacacggg	tgctggccat	tgagagatac	ctgcaggatc	agcagctgct	cggcctgtgg	1800
ggctgtagcg	gcaagctgat	ctgtaccacc	gccgtgcctt	ggaacacctc	ctggtccaac	1860
aagagccaga	ccgacatctg	ggacaacatg	acctggatgc	agtgggacaa	agaaatcggc	1920
aactataccg	gcgagatcta	ccgactgctg	gaagagtcct	agaaccagca	ggaaaagatg	1980
aagcagatcg	aggacaagat	cgaagagatt	ctgagcaaaa	tctaccacat	cgagaacgag	2040
atcgcccgca	tcaagaaact	gatcggcgaa	gtgggatccg	gcgctcccac	aaaggccaaa	2100
agacgggtgg	tgcagcgcca	gaaacgc				2127

<210> 34
 <211> 2601
 5 <212> AND
 <213> Secvență artificială
 <220>

<223> secvență de nucleotide care codifică C1

<400> 34

atgagagtgc	ggggcattca	gagaaactgg	ccccagtggg	ggatctgggg	catcctgggc	60
ttttggatga	tcattatctg	ccgcgtgatg	ggcaacctgt	gggtcacogt	gtactacggc	120
gtgcccgtgt	ggaaagaggc	caagaccacc	ctgttctgcg	ccagcgacgc	caaggcctac	180
gagaaagagg	tgcacaacgt	ctgggccacc	cacgcctgtg	tgccaccga	ccccaatccc	240
caggaaatgg	tcctggaaaa	cgtgaccgag	aacttcaaca	tgtggaagaa	cgacatgggtg	300
gaccagatgc	acgaggacat	catccggctg	tgggaccaga	gcctgaagcc	ctgctgaag	360
ctgacccctc	tgtgctgac	cctggaatgc	cgaacgtgc	gcaacgtgc	cagcaacggc	420
acctacaata	tcattccaaa	cgagacatac	aaagagatga	agaactgcag	cttcaacgct	480
accaccgtgg	tcgaggaccg	gaagcagaag	gtgcacgccc	tgttttaccg	gctggacatc	540
gtgcccctgg	acgagaacaa	cagcagcgag	aagtcctccg	agaacagctc	cgagtactac	600
agactgatca	actgcaacac	cagcgccatc	accaggccct	gcccgaaggt	gtccttcgac	660
cctatcccca	tccactactg	cgccctgccc	ggctacgcca	tcctgaagtg	caacaacaag	720
accttcaatg	gcaccggccc	ctgcaacaat	gtgtccaccg	tgcagtgcac	ccacggcatc	780
aagcccgtag	tgtctacca	gctgctgctg	aacggcagcc	tgcccgagga	agagatcatc	840
atcagaagcg	agaacctgac	caacaacgcc	aagacaatca	tcgtccacct	gaacgaaacc	900
gtgaacatca	cctgtaccgg	gcctaacaac	aacaccggga	agtcctaccg	gatcggccct	960
ggccagacct	tttacgccac	cggcgatatt	atcggcgaca	tcgggcaggc	ccactgcaat	1020
ctgagccggg	acggctggaa	caagacactg	cagggcggtc	agaagaagct	ggccgaacac	1080
ttccccaaca	aaaccatcaa	cttcaccagc	tcctctggcg	gcgacctgga	aatcaccacc	1140
cacagcttta	actgcagagg	cgagttcttc	tactgcaata	cctccggcct	gttcaatgga	1200
acctacatgc	ccaacgggac	caacagcaac	tccagcagca	atatcaccct	gccttgccgg	1260
atcaagcaga	ttatcaatat	gtggcaggaa	gtgggcagag	ctatgtacgc	ccctccaatc	1320

gccggcaaca tcacatgcag aagcaacatt accggcctgc tgctcaccag ggacggcggc 1380
 tctaacaatg gcggtgcaaa cgacaccgag acattcagac ccggcggagg cgacatgcgg 1440
 aacaattggc ggagcagagc gtacaagtac aaggtggtgg aagtgaagcc cctgggcgtg 1500
 gccctaccg aagccaagag aagagtggc gaacgcgaga agcgggccgt gggcattgga 1560
 gccgtgtttc tgggaatcct gggagccgct ggcagacca tgggcgctgc ctctatcaca 1620
 ctgacagtgc aggccagaca gctcctgagc ggcacgtgc agcagcagag caacctgctg 1680
 agagccatcg aggcacagca gcacatgctg cagctgaccg tgtggggcat taagcagctc 1740
 cagacacggg tgctggccat tgagagatac ctgcaggatc agcagctgct cggcctgtgg 1800
 ggctgtagcg gcaagctgat ctgtaccacc gccgtgcctt ggaacacctc ctggtccaac 1860
 aagagccaga ccgacatctg ggacaacatg acctggatgc agtgggacaa agaaatcggc 1920
 aactataccg gcgagatcta ccgactgctg gaagagtccc agaaccagca ggaaaagaac 1980
 gagaaggacc tgctggccct ggacagctgg aaaaatctgt ggaattggtt cgacatcacc 2040
 aactggctgt ggtacatcaa gatcttcac atgatcgtgg gcggcctgat cggcctgcgg 2100
 atcatctttg ccgtgctgag catcgtgaac cgcgtgccc agggatacag ccctctgagc 2160
 ctgcagaccc tgaccagaa tccaggcggg ctggatcggc tgggcgggat tgaggaagaa 2220
 ggcggcgagc aggacaagga ccgcagcatc agactcgtga acggcttctt cgctctgttt 2280
 tgggacgacc tgcggagcct gtgcctgttc tcctaccaca gactgcggga ctttatcctg 2340
 attgtggcca gagccgtcga gctgctgggc agatcttctc tgagaggcct gcagcggggc 2400
 tgggagattc tgaagtacct gggctccctg ctgcagttt ggggcctgga actgaagaag 2460
 tccgccatca atctgctcga cacaatcgct attgcccgtg ccgaaggcac cgacagaatc 2520
 atcgagctga tccagcggat ctgccgggc atctgcaaca tcccagacg gatcagacag 2580
 ggctttgaag ccgcctcca g 2601

<210> 35

<211> 2148

<212> AND

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> secvență de nucleotide care codifică C1D7

<400> 35

atgagagtgc ggggcattca gagaaactgg cccagtggt ggatctgggg catcctgggc 60
 ttttgatga tcattatctg ccgcgtgatg ggcaacctgt gggtcaccgt gtactacggc 120
 gtgcccgtgt ggaaagaggc caagaccacc ctgttctgcg ccagcgacgc caaggcctac 180
 gagaagagg tgcacaacgt ctgggcacc cagcctgtg tgcccaccga cccaatccc 240
 caggaaatgg tcctggaaaa cgtgaccgag aacttcaaca tgtggaagaa cgacatggtg 300

gaccagatgc acgaggacat catccggctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgcgtgaag 360
 ctgacccctc tgtgcgtgac cctggaatgc cggaaagtgc gcaacgtgtc cagcaacggc 420
 acctacaata tcatccacaa cgagacatac aaagagatga agaactgcag cttcaacgct 480
 accacogtgg tcgaggacog gaagcagaag gtgcacgccc tgttttaccg gctggacatc 540
 gtgcccctgg acgagaacaa cagcagcag aagtccctcc agaacagctc cgagtactac 600
 agactgatca actgcaacac cagcgccatc acccaggcct gccccaaggt gtccttogac 660
 cctatcccca tccactactg cggccctgcc ggctacgcca tcctgaagtg caacaacaag 720
 accttcaatg gcaccggccc ctgcaacaat gtgtccaccg tgcagtgcac ccacggcatc 780
 aagccogtgg tgtctaccca gctgctgctg aacggcagcc tggccgagga agagatcatc 840
 atcagaagcg agaacctgac caacaacgcc aagacaatca tcgtccacct gaacgaaacc 900
 gtgaacatca cctgtaccog gccataacaac aacaccggga agtccatccg gatcggccct 960
 gggcagacct tttagccac cggcgatatt atcggcgaca tccggcaggc ccactgcaat 1020
 ctgagccggg acggctggaa caagacactg cagggcgctc agaagaagct ggccgaacac 1080
 ttccccaaca aaacctcaa cttcaccagc tcctctggcg gcgacctgga aatcaccacc 1140
 cacagcttta actgcagagg cgagtcttc tactgcaata cctccggcct gttcaatgga 1200
 acctacatgc ccaacgggac caacagcaac tccagcagca atatcaccct gccttgccgg 1260
 atcaagcaga ttatcaatat gtggcaggaa gtgggcagag ctatgtacgc ccctccaatc 1320
 gccggcaaca tcacatgcag aagcaacatt accggcctgc tgctcaccag ggacggcggc 1380
 tctaacaatg gcgtgccaaa cgacaccgag acattcagac ccggcgagg cgacatgcgg 1440
 aacaattggc ggagcgagct gtacaagtac aagggtggtg aagtgaagcc cctggcgctg 1500
 gccctaccg aagccaagag aagagtggtc gaacgcgaga agcgggccgt gggcattgga 1560
 gccgtgtttc tgggaatcct gggagccgct ggcagacca tgggcgctgc ctctatcaca 1620
 ctgacagtgc aggcagaca gtcctgagc ggcacgtgc agcagcagag caacctgctg 1680
 agagccatcg aggcacagca gcacatgctg cagctgaccg tgtggggcat taagcagctc 1740
 cagacacggg tgetggccat tgagagatac ctgcaggatc agcagctgct cggcctgtgg 1800
 ggctgtagcg gcaagctgat ctgtaccacc gccgtgccct ggaacacctc ctggtccaac 1860
 aagagccaga ccgacatctg ggacaacatg acctggatgc agtgggacaa agaaatoggc 1920
 aactataccg gcgagatcta ccgactgctg gaagagtccc agaaccagca ggaaaagaac 1980
 gagaaggacc tgetggccct ggacagctgg aaaaatctgt ggaattggtt cgacatcacc 2040
 aactggctgt ggtacatcaa gatcttcac atgategtgg gcggcctgat cggcctgcgg 2100
 atcatctttg ccgtgctgag catcgtgaac cgcgtgcggc agggctac 2148

<210> 36

<211> 724

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Secvență trimer Env mozaic

<400> 36

MD/EP 3390430 T2 2019.12.31

100

Met	Arg	Val	Arg	Gly	Ile	Gln	Arg	Asn	Cys	Gln	His	Leu	Trp	Arg	Trp	1	5	10	15
Gly	Thr	Leu	Ile	Leu	Gly	Met	Leu	Met	Ile	Cys	Ser	Ala	Ala	Gly	Lys	20	25	30	
Leu	Trp	Val	Thr	Val	Tyr	Tyr	Gly	Val	Pro	Val	Trp	Lys	Glu	Ala	Thr	35	40	45	
Thr	Thr	Leu	Phe	Cys	Ala	Ser	Asp	Ala	Lys	Ala	Tyr	Asp	Thr	Glu	Val	50	55	60	
His	Asn	Val	Trp	Ala	Thr	His	Ala	Cys	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Asn	Pro	65	70	75	80
Gln	Glu	Val	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Glu	Asn	Phe	Asn	Met	Trp	Lys	85	90	95	
Asn	Asn	Met	Val	Glu	Gln	Met	His	Glu	Asp	Ile	Ile	Ser	Leu	Trp	Asp	100	105	110	
Gln	Ser	Leu	Lys	Pro	Cys	Val	Lys	Leu	Thr	Pro	Leu	Cys	Val	Thr	Leu	115	120	125	
Asn	Cys	Thr	Asp	Asp	Val	Arg	Asn	Val	Thr	Asn	Asn	Ala	Thr	Asn	Thr	130	135	140	
Asn	Ser	Ser	Trp	Gly	Glu	Pro	Met	Glu	Lys	Gly	Glu	Ile	Lys	Asn	Cys	145	150	155	160
Ser	Phe	Asn	Ile	Thr	Thr	Ser	Ile	Arg	Asn	Lys	Val	Gln	Lys	Gln	Tyr	165	170	175	
Ala	Leu	Phe	Tyr	Lys	Leu	Asp	Val	Val	Pro	Ile	Asp	Asn	Asp	Ser	Asn	180	185	190	
Asn	Thr	Asn	Tyr	Arg	Leu	Ile	Ser	Cys	Asn	Thr	Ser	Val	Ile	Thr	Gln	195	200	205	

Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala
 210 215 220

Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asp Lys Lys Phe Asn Gly
 225 230 235 240

Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile
 245 250 255

Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu
 260 265 270

Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Glu Asn Phe Thr Asn Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

Ile Met Val Gln Leu Asn Val Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro
 290 295 300

Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile His Ile Gly Pro Gly Arg Ala Phe
 305 310 315 320

Tyr Thr Ala Gly Asp Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln Ala His Cys Asn
 325 330 335

Ile Ser Arg Ala Asn Trp Asn Asn Thr Leu Arg Gln Ile Val Glu Lys
 340 345 350

Leu Gly Lys Gln Phe Gly Asn Asn Lys Thr Ile Val Phe Asn His Ser
 355 360 365

Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Gly Gly
 370 375 380

Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Ser Thr Lys Leu Phe Asn Ser Thr Trp Thr
 385 390 395 400

Trp Asn Asn Ser Thr Trp Asn Asn Thr Lys Arg Ser Asn Asp Thr Glu
 405 410 415

Glu His Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp
 420 425 430

Gln Glu Val Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Arg Gly Gln Ile
 435 440 445

Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly
 450 455 460

```

Asn Asp Thr Ser Gly Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met
465                      470                      475                      480

Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile
                      485                      490                      495

Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Lys Ala Lys Glu Arg Val Val Gln
                      500                      505                      510

Arg Glu Glu Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe Leu
                      515                      520                      525

Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val
                      530                      535                      540

Gln Ala Arg Leu Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu
545                      550                      555                      560

Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp
                      565                      570                      575

Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu
                      580                      585                      590

Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile
                      595                      600                      605

Cys Thr Thr Thr Val Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu
610                      615                      620

Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp Met Glu Trp Glu Arg Glu Ile
625                      630                      635                      640

Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile Tyr Thr Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn
                      645                      650                      655

Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala
                      660                      665                      670

Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys
675                      680                      685

Ser Arg Ile Glu Gly Arg Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro
690                      695                      700

Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu
705                      710                      715                      720
Ser Thr Phe Leu

```

<210> 37

<211> 28

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Reziduurile 655-682 din SECV ID NR:18

<400> 37

```

Asn Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Ser Trp Asn Asn Leu Trp Asn
1          5          10          15

Trp Phe Ser Ile Ser Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys
          20          25

```

(56) Referințe bibliografice citate in raportul de documentare:

- WO-A1-2010/059732
- "RecName: Full=Endogenous retrovirus group K member 9 Env polyprotein {ECO:0000256|SAAS:SAAS00159347}; AltName: Full=Endogenous retrovirus group K member 113 Env polyprotein {ECO:0000256|SAAS:SAAS00159454}; AltName: Full=Endogenous retrovirus group K member 13-1 Env polyprotein {ECO:0000256|SAAS:SAAS", UNIPROT, 1 March 2005 (2005-03-01), XP002757477, [retrieved on 2005-03-01]
- COMPANS R W ET AL: "Recombinant protein gp41 heterologous transmembrane region, SEQ ID 1", GENESEQ., 15 January 2009 (2009-01-15), XP002757478, [retrieved on 2009-03-19]
- MARASCO W A: "Transmembrane domain peptide, SEQ ID 14", GENESEQ., 26 January 2006 (2006-01-26), XP002757479, [retrieved on 2006-03-23]
- "GCN4 fusion linker peptide, SEQ ID NO 3", GENESEQ., 11 January 2007 (2007-01-11), XP002757480, [retrieved on 2007-03-08]

(57) Revendicări:

1. Acid nucleic care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul constând din (i) I529P, (ii) K480E și (iii) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C.

2. Acid nucleic conform revendicării 1, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde suplimentar o secvență semnal, de exemplu, o secvență semnal cuprinzând secvența de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 9 până la SECV ID NR: 12.

3. Acid nucleic conform revendicării 1 sau 2, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un domeniu transmembranar, de exemplu, un domeniu transmembranar care cuprinde SECV ID NR: 13, de preferință proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde suplimentar SECV ID NR: 37 fuzionată la capătul C-terminal al SECV ID NR: 8 și capătul N-terminal al domeniului transmembranar.

4. Acid nucleic conform revendicării 3, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde în plus un fragment dintr-un domeniu citoplasmatic, de preferință un fragment dintr-un domeniu citoplasmatic cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 14 sau reziduurile 1-4 ale acestora.

5. Acid nucleic conform oricăreia dintre revendicările precedente 1-4, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 18.

6. Acid nucleic conform revendicării 1 sau 2, în care proteina anvelopei HIV sintetică fie: (a) cuprinde în plus un domeniu de trimerizare, de exemplu un domeniu de trimerizare având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 15 sau SECV ID NR: 16; sau (b) cuprinde SECV ID NR: 8 având o combinație de mutații EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C.

7. Acid nucleic conform revendicării 6, în care proteina anvelopei HIV sintetică cuprinde secvența de aminoacizi a reziduurilor 1-686 din SECV ID NR: 19.

8. Vector care cuprinde acidul nucleic conform oricăreia dintre revendicările 1-7, în care acidul nucleic este conectat operabil la o secvență promotor.

9. Vector conform revendicării 8, fiind un vector viral, preferabil un vector adenovirus.

10. Vector conform revendicării 9, în care vectorul adenovirus este un vector adenovirus serotip 26 (Ad26) uman.

11. Celulă izolată cuprinzând vectorul conform oricăreia dintre revendicările 8-10.

12. Compoziție cuprinzând o cantitate eficientă imunogen din vectorul conform cu oricare dintre revendicările 8-10 și un purtător.

13. O combinație de vaccin, care cuprinde:

(i) o primă compoziție cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-un vector adenovirus, de preferință un vector adenovirus 26, care codifică o proteină a anvelopei HIV sintetică având secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8, de preferință SECV ID NR: 18;

(ii) o a doua compoziție cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-un al doilea vector adenovirus, de preferință un al doilea vector adenovirus 26, care codifică o polipeptidă antigenică HIV cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 5; și opțional

(iii) cel puțin o compoziție suplimentară cuprinzând o cantitate eficientă imunogen din cel puțin una selectată din grupul format din

(iiia) un vector care codifică cel puțin o polipeptidă antigenică având secvența de aminoacizi selectată din grupul constând din SECV ID NR: 1-4, 28 și 29 și

(iiib) o polipeptidă cuprinzând o cantitate eficientă imunogen dintr-o polipeptidă antigenică HIV izolată având reziduurile 30-708 din secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 7 sau reziduurile 30-724 din SECV ID NR: 36,

in care prima compoziție, a doua compoziție și compoziția suplimentară sunt prezente în aceeași compoziție sau într-una sau mai multe compoziții diferite.

14. Compoziție conform revendicării 12 sau combinația de vaccin din revendicarea 13 pentru utilizare în inducerea unui răspuns imun împotriva unui virus al imunodeficienței umane (HIV) la un subiect care are nevoie de acesta.

15. Proteină a anvelopei HIV sintetică cuprinzând secvența de aminoacizi din SECV ID NR: 8 sau SECV ID NR: 8 având una sau mai multe mutații selectate din grupul constând din (i) I529P, (ii) K480E și (iii) o combinație de EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C, de preferință, cuprinzând (i) SECV ID NR: 8 având o combinație de mutații EK479-480RRRR, I529P, A471C și T575C; (ii) reziduurile de aminoacizi 30-704 din SECV ID NR: 18 sau (iii) reziduurile de aminoacizi 30-686 din SECV ID NR: 19.

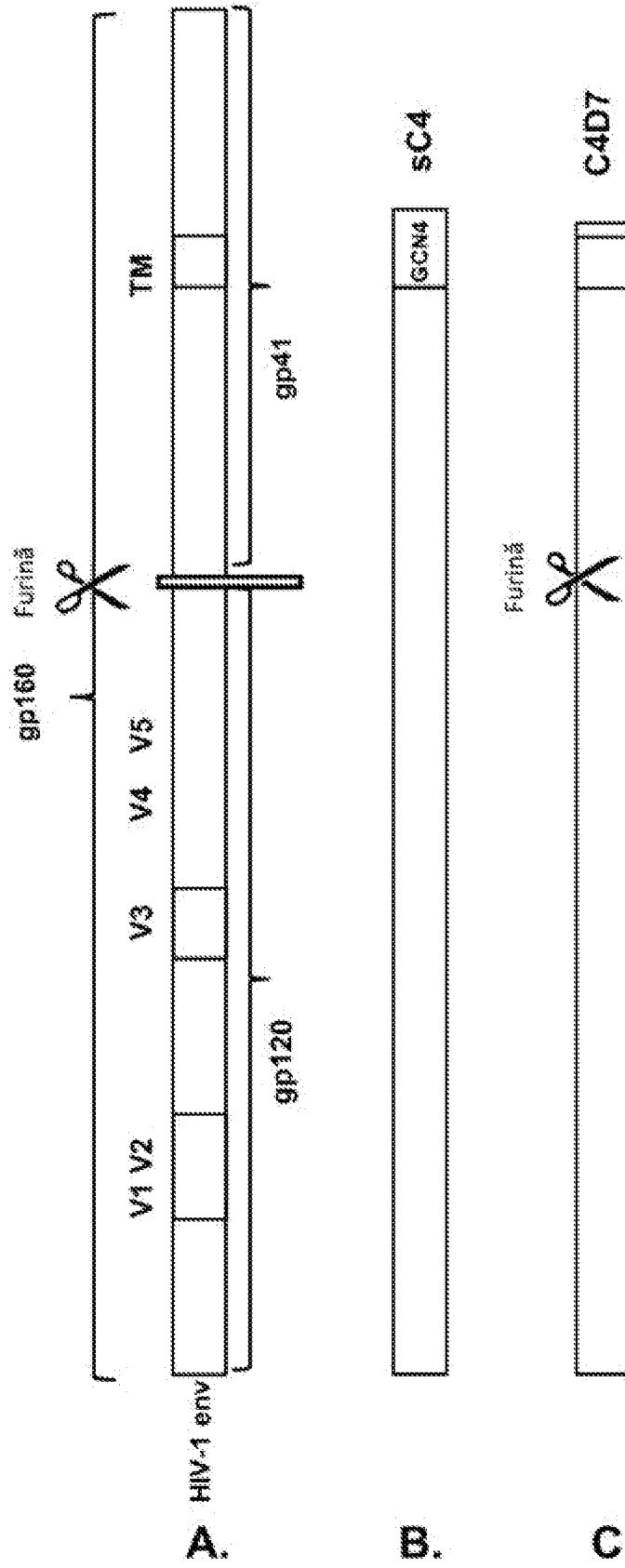


Fig. 1

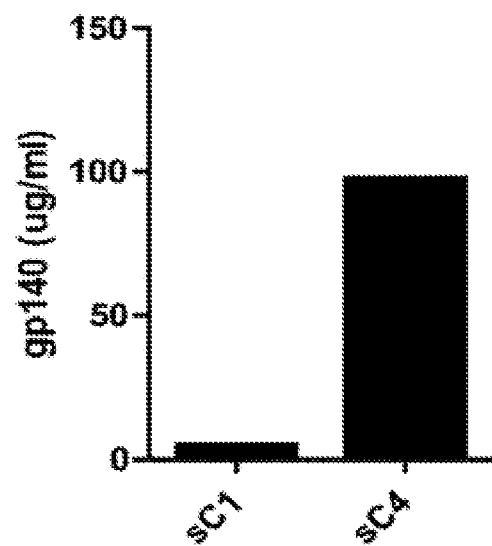


Fig. 2

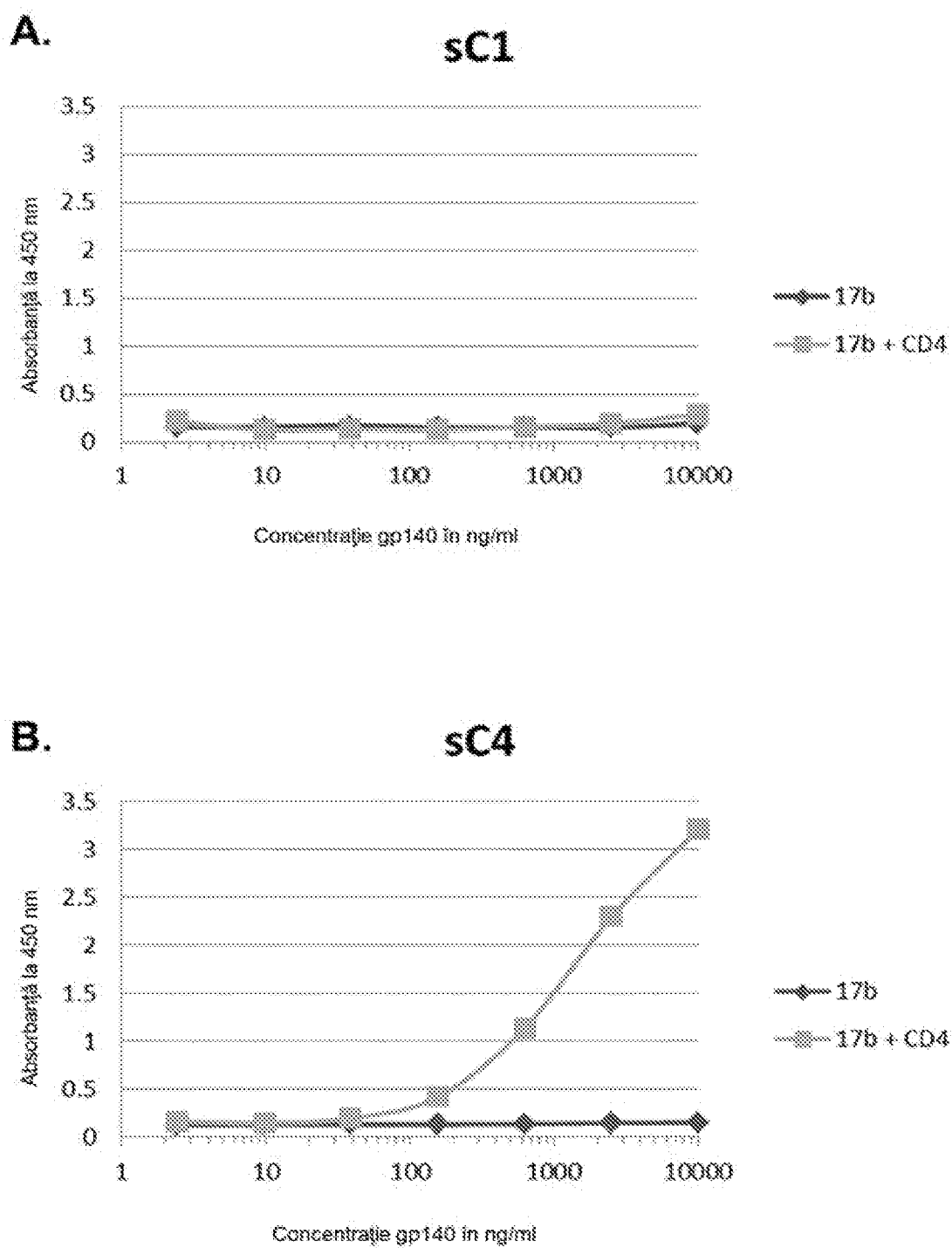
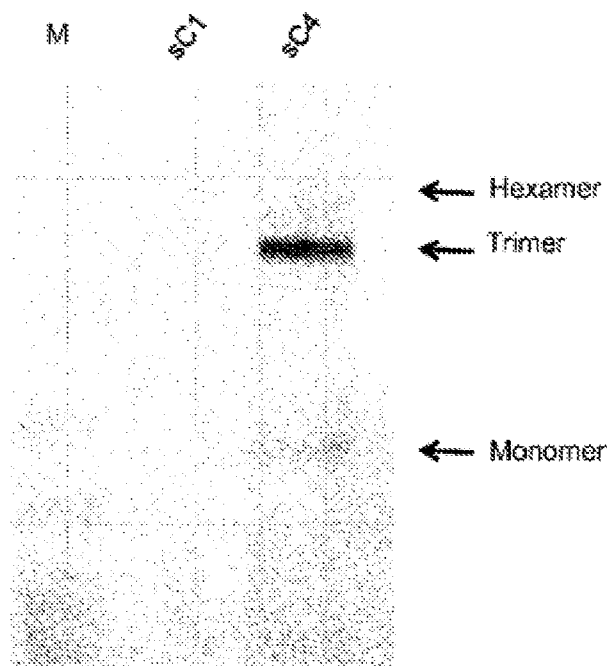


Fig. 3

**Fig. 4**

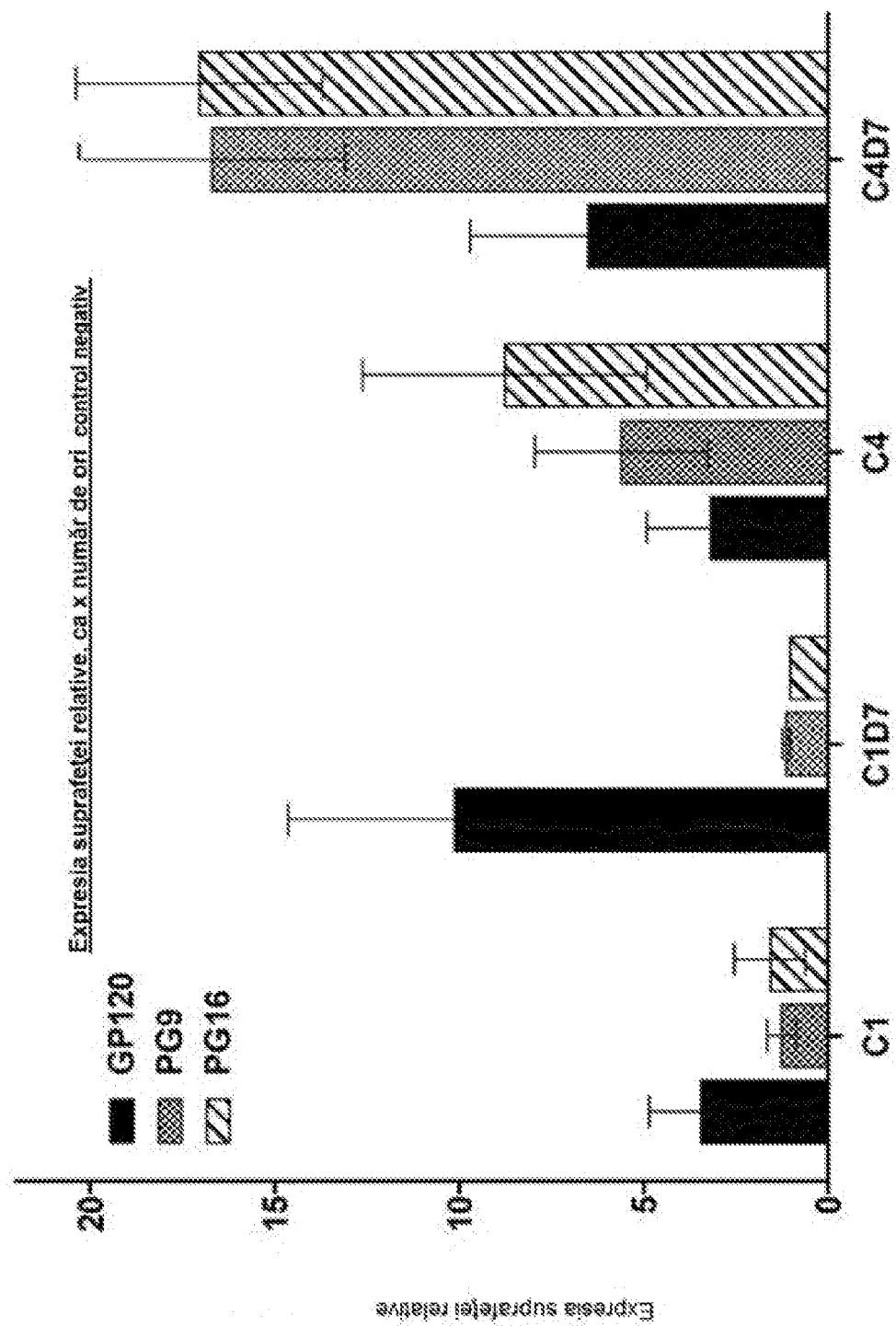


Fig. 5

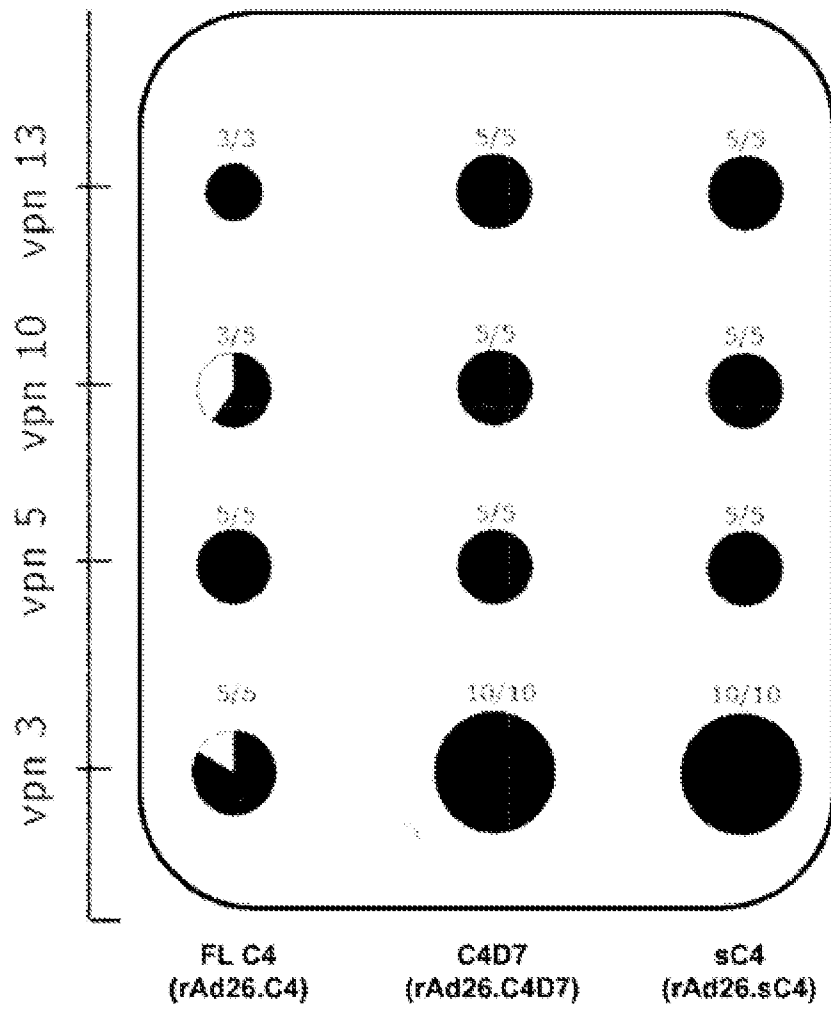
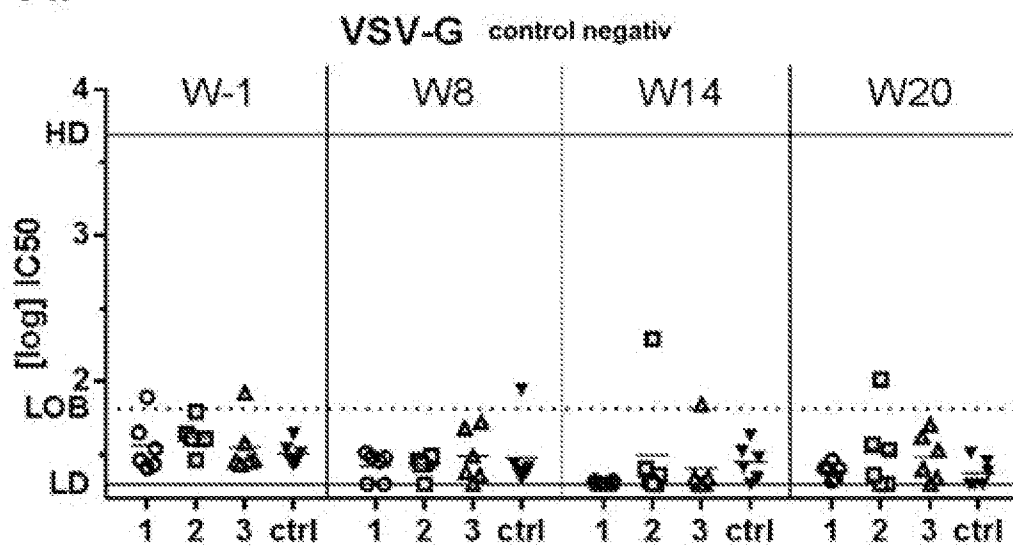
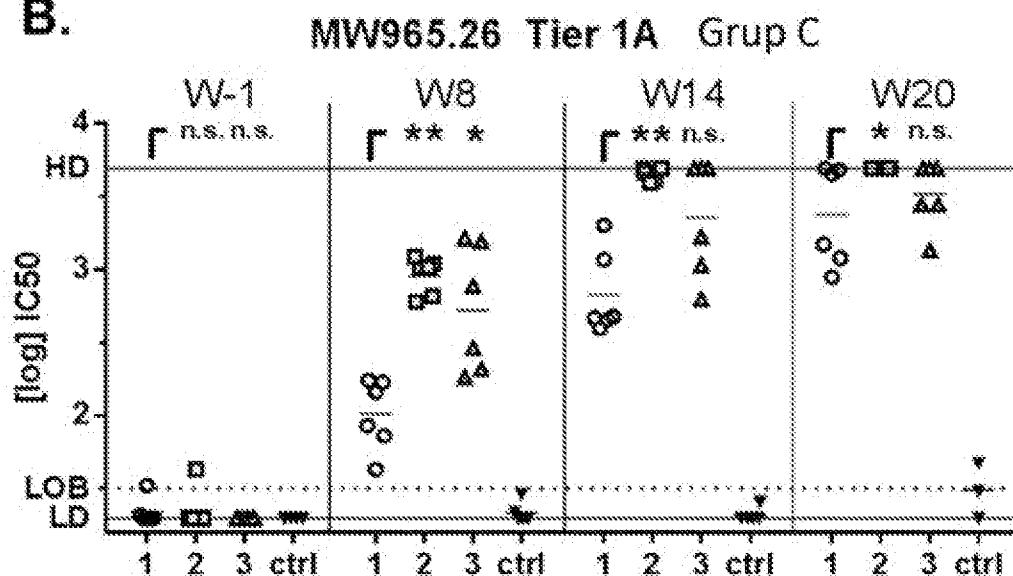


Fig. 6

A.**B.**

- 3-valent
- 4-valent (C4D7)
- ▲ 4-valent (sC4)
- ▼ control (Ad26. liber)

Fig. 7