



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119876269 A

(43) 申请公布日 2025. 04. 25

(21) 申请号 202411854047.4

C12N 15/12 (2006.01)

(22) 申请日 2020.06.01

C12N 15/34 (2006.01)

(30) 优先权数据

62/854,865 2019.05.30 US

(62) 分案原申请数据

202080047889.2 2020.06.01

(71) 申请人 磨石生物公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 K·朱斯 C·D·斯卡伦

L·吉特林

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平 袁泉

(51) Int.Cl.

C12N 15/861 (2006.01)

权利要求书4页 说明书271页

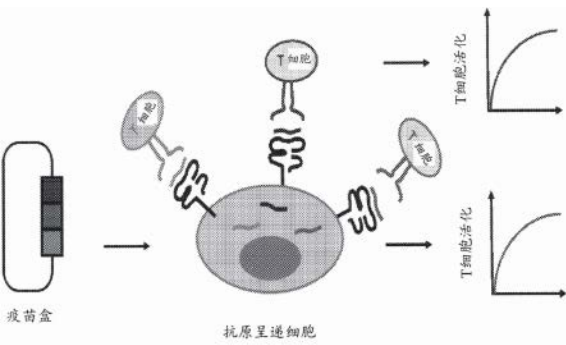
序列表(电子公布) 附图66页

(54) 发明名称

经修饰的腺病毒

(57) 摘要

本文公开了包含经修饰的腺病毒的组合物。还公开了与所述组合物相关的核苷酸、细胞和方法,包括其作为疫苗的用途。本文还公开了使用TET启动子系统的病毒载体和具有所述载体的病毒的生产方法。



1. 一种腺病毒载体,所述腺病毒载体包含:

腺病毒骨架,其包含腺病毒基因组的一个或多个基因或调控序列,并且

其中所述腺病毒骨架包含关于所述腺病毒基因组的部分缺失的E4基因,其中所述部分缺失的E4基因包含缺失或部分缺失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区,和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区,并且

任选地,其中所述腺病毒载体还包含盒,所述盒包含:

(1) 至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:

- MHC I类表位,
- MHC II类表位,
- 能够刺激B细胞反应的表位,或
- 其组合,并且

任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,并且任选地其中:

- (2) 可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,
- (3) 任选地,至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列;
- (4) 任选地,至少一个编码GPGPG的接头序列 (SEQ ID NO:56);和
- (5) 任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列。

2. 一种包含经修饰的ChAdV68序列的黑猩猩腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

(a) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642;和

(b) 以SEQ ID NO:1所示的所述ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列 (ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因中的至少一者;并且

任选地,其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

3. 一种包含经修饰的ChAdV68序列的黑猩猩腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

(a) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642;

(b) 以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;和

(c) 以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5',并且

任选地,其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

4. 一种黑猩猩腺病毒载体,所述黑猩猩腺病毒载体包含:

a. 经修饰的ChAdV68序列,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

(i) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642;

(ii) 以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;和

(iii) 和以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5',和;

b. CMV衍生的启动子序列;

c. SV40多聚腺苷酸化信号核苷酸序列;和

d. 盒,所述盒包含至少一个至少一个有效负载核酸序列,其编码:

-至少一个MHC I类表位,任选地其中所述至少一个MHC I类表位包含至少2个不同的MHC I类表位,所述至少2个不同的MHC I类表位彼此线性连接,并且各自任选地包含:

(A) 使所编码的肽序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列的至少一个改变,其中所述不同的MHC I表位的长度为7-15个氨基酸,

(B) N末端接头,其包含所述不同的MHC I表位的长度为至少3个氨基酸的原生N末端氨基酸序列,

(C) C末端接头,其包含所述不同的MHC I表位的长度为至少3个氨基酸的原生C末端酸序列,或

(D) 其组合,

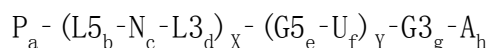
-至少一个MHC II类表位,任选地其中所述至少一个MHC II类表位包含至少2个不同的MHC II类表位,

-至少一个能够刺激B细胞反应的表位,或

-其组合,并且

其中所述盒被插入ChAdV68的缺失区域内,并且所述CMV衍生的启动子序列可操作地连接到所述盒。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的载体,其中所述盒包含以下式描述的有序序列,从5'至3'包含:



其中,

N包含所述至少一个有效负载核酸序列之一,任选地其中每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,任选地存在至少一个改变,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,其中c=1,

P包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的至少一个启动

子序列,其中 $a=1$ ,

L5包含5'接头序列,其中 $b=0$ 或 $1$ ,

L3包含3'接头序列,其中 $d=0$ 或 $1$ ,

G5包含至少一个编码GPGPG氨基酸接头 (SEQ ID NO:56) 的核酸序列之一,其中 $e=0$ 或 $1$ ,

G3包含至少一个编码GPGPG氨基酸接头 (SEQ ID NO:56) 的核酸序列之一,其中 $g=0$ 或 $1$ ,

U包含至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列之一,其中 $f=1$ ,

A包含至少一个多聚腺苷酸化序列,其中 $h=0$ 或 $1$ ,

$X=2$ 至 $400$ ,其中对于每个 $X$ ,相应的 $N_c$ 是有效负载核酸序列,任选地其中对于每个 $X$ ,相应的 $N_c$ 是不同的有效负载核酸序列,并且

$Y=0-2$ ,其中对于每个 $Y$ ,相应的 $U_f$ 是通用的编码MHC II类抗原的核酸序列,任选地其中对于每个 $Y$ ,相应的 $U_f$ 是不同的通用的编码MHC II类抗原的核酸序列。

6.如权利要求5所述的载体,其中所述盒还包含至少一个未编码在所述有序序列中的额外有效负载核酸序列。

7.如权利要求5或6所述的载体,其中:

$b=1, d=1, e=1, g=1, h=1, X=10, Y=2$ ,

P是CMV衍生的启动子序列,

每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,

L5编码所述表位的天然N末端氨基酸序列,并且其中所述5'接头序列编码长度为至少3个氨基酸的肽,

L3编码所述表位的天然C末端氨基酸序列,并且其中所述3'接头序列编码长度为至少3个氨基酸的肽,

U是PADRE II类序列和破伤风类毒素MHC II类序列中的每一者,并且

所述载体包含经修饰的ChAdV68序列,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

(a)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642;

(b)以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;和

(c)以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5'。

8.如权利要求2-4或7除外的前述权利要求中任一项所述的载体,其中所述载体是黑猩猩腺病毒载体,任选地其中所述黑猩猩腺病毒载体是ChAdV68载体。

9.如权利要求2-4或7除外的前述权利要求中任一项所述的载体,其中所述部分缺失的E4基因包含:

A.以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642,

B.以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至34,942、核苷酸34,952至35,305、以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,302至35,642,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至36,518,

C.以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,980至36,516,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至36,518,

D.以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,979至35,642,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至36,518,

E.至少部分缺失E4orf2、完全缺失E4orf3和至少部分缺失E4orf4的E4缺失,

F.至少部分缺失E4orf2、至少部分缺失E4orf3和至少部分缺失E4orf4的E4缺失,

G.至少部分缺失E4orf1、完全缺失E4orf2和至少部分缺失E4orf3的E4缺失,或

H.至少部分缺失E4orf2和至少部分缺失E4orf3的E4缺失。

10.如权利要求2-4或7除外的前述权利要求中任一项所述的载体,其中所述载体包含以SEQ ID NO:1所示的ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列选自由以下组成的组:以SEQ ID NO:1所示的所述序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因。

## 经修饰的腺病毒

[0001] 本申请是申请日为2020年6月1日、申请号为202080047889.2、发明名称为“经修饰的腺病毒”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2019年5月30日提交的美国临时申请第62/854,865号的权益,所述文献出于所有目的特此通过引用整体并入。

[0004] 序列表

[0005] 本申请含有序列表,所述序列表已以ASCII格式以电子方式提交并特此通过引用整体并入。所述ASCII副本创建于2019年5月30日,命名为GS0\_033PR\_Sequence\_Listing.txt并且大小为422,136字节。

### 背景技术

[0006] 基于肿瘤特异性抗原的治疗性疫苗作为下一代个性化癌症免疫疗法具有极大的前景。<sup>1-3</sup>例如,具有高突变负荷的癌症,例如非小细胞肺癌(NSCLC)和黑色素瘤,鉴于新抗原产生的可能性相对较大而为这种疗法的特别有吸引力的靶标。<sup>4,5</sup>早期证据表明,基于新抗原的疫苗接种可引发T细胞反应<sup>6</sup>,并且靶向新抗原的细胞疗法可在选定患者的某些情形下引起肿瘤消退<sup>7</sup>。

[0007] 在癌症和感染性疾病情形中的抗原疫苗设计的一个问题是存在的许多编码突变中的哪一者产生“最佳”治疗性抗原,例如可引起免疫性的抗原。

[0008] 除当前抗原预测方法的挑战外,对于可用于人类的抗原递送的可用载体系统还存在某些挑战,其中许多源自人类。例如,由于先前的自然暴露,许多人类对人类病毒具有预先存在的免疫性,并且这种免疫性可为使用重组人类病毒用于疫苗接种策略中的抗原递送的主要障碍,例如在癌症治疗或针对感染性疾病的疫苗接种中。尽管在解决上述问题的疫苗接种策略上取得一些进展,但仍需要改进,特别是对于临床应用,例如改进的疫苗效力和功效。

### 发明内容

[0009] 一种腺病毒载体,包含:腺病毒骨架,其包含腺病毒基因组的一个或多个基因或调控序列,并且其中所述腺病毒骨架包含相对于所述腺病毒基因组的部分缺失的E4基因,其中所述部分缺失的E4基因包括缺失或部分缺失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区,和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区,并且任选地,其中所述腺病毒载体还包含盒,所述盒包含:(1)至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,并且任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,和任选地其中;(2)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,(3)任选地,至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列;(4)任选地,至少一个编码GP GPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和(5)任选地,至少

一个多聚腺苷酸化序列。

[0010] 本文还公开了一种包含经修饰的ChAdV68序列的黑猩猩腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:(a)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;和(b)以SEQ ID NO:1所示的ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因中的至少一者;并且任选地,其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[0011] 本文还公开了一种包含经修饰的ChAdV68序列的黑猩猩腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:(a)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;(b)以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;以及(c)以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5',并且任选地,其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[0012] 本文还公开了一种黑猩猩腺病毒载体,包含:a.经修饰的ChAdV68序列,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:(i)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;(ii)以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;和(iii)和以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5',和;b.CMV衍生的启动子序列;c.SV40多聚腺苷酸化信号核苷酸序列;和d盒,所述盒包含至少一个至少一个有效负载核酸序列,其编码:至少一个MHC I类表位,任选地其中所述至少一个MHC I类表位包含至少2个不同的MHC I类表位,所述至少2个不同的MHC I类表位彼此线性连接并且各自任选地包含:(A)使所编码的肽序列不同于野生型核酸序列编码的相应肽序列的至少一个改变,其中所述不同的MHC I表位的长度为7-15个氨基酸,(B)N末端接头,其包含所述不同的MHC I表位的长度为至少3个氨基酸的原生N末端氨基酸序列,(C)C末端接头,其包含所述不同的MHC I表位的长度为至少3个氨基酸的原生C末端氨基酸序列,或(D)其组合,至少一个MHC II类表位,任选地其中所述至少一个MHC II类表位包含至少2个不同的MHC II类表位,至少一个能够刺激B细胞反应的表位或其组合,并且其中所述盒被插入ChAdV68的缺失区域内,并且所述CMV衍生的启动子序列可操作地连接到所述盒。

[0013] 本文还公开了一种用于刺激受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用腺病毒载体,所述腺病毒载体包含:腺病毒骨架,其包含腺病毒基因组的一个或多个

基因或调控序列,并且其中所述腺病毒骨架包含相对于所述腺病毒基因组的部分缺失的E4基因,其中所述部分缺失的E4基因包含缺失或部分缺失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区,和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区,并且其中所述腺病毒载体还包含盒,所述盒包含:(1)至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,并且任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,和任选地其中;(2)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,(3)任选地,至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列;(4)任选地,至少一个编码GP GPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和(5)任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列。

[0014] 本文还公开了一种用于治疗患有疾病的受试者的方法,任选地其中所述疾病是癌症或感染,所述方法包括向所述受试者施用腺病毒载体,所述腺病毒载体包含:腺病毒骨架,其包含腺病毒基因组的一个或多个基因或调控序列,并且其中所述腺病毒骨架包含相对于所述腺病毒基因组的部分缺失的E4基因,其中所述部分缺失的E4基因包含缺失或部分缺失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区,和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区,并且其中所述腺病毒载体还包含盒,所述盒包含:(1)至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,并且任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,和任选地其中;(2)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,(3)任选地,至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列;(4)任选地,至少一个编码GP GPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和(5)任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列。

[0015] 本文还公开了一种刺激受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含经修饰的ChAdV68序列的腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:(a)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;和(b)以SEQ ID NO:1所示的ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因中的至少一者;并且其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[0016] 本文还公开了一种用于治疗患有疾病的受试者的方法,任选地其中所述疾病是癌症或感染,所述方法包括向所述受试者施用包含经修饰的ChAdV68序列的腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:(a)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;和(b)以SEQ ID NO:1所示的ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因中的至少一者;并且其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地

连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[0017] 本文还公开了一种产生病毒的方法,其中所述方法包括以下步骤:a.提供包含盒的病毒载体,所述盒包含:(i)至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,并且任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,和任选地其中;(ii)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,其中所述至少一个启动子是四环素(TET)阻遏蛋白(TET<sub>r</sub>)控制的启动子,(iii)任选地,至少一个编码MHC II类抗原的核酸序列;(iv)任选地,至少一个编码GPGPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和(v)任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列;b.提供被工程化以表达所述TET<sub>r</sub>蛋白的细胞;以及c.在足以产生所述病毒的条件使所述病毒载体与所述细胞接触。

[0018] 在一些方面,所述病毒载体包括黑猩猩腺病毒载体,任选地其中所述黑猩猩腺病毒载体是ChAdV68载体。在一些方面,相对于使用不具有所述TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体产生的病毒的产生,使用所述包含TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体增加所述病毒的产生。在一些方面,所述产生增加是相对于使用不具有TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体的产生增加至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。在一些方面,所述产生增加是相对于使用不具有TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体的产生增加至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少35倍、至少40倍、至少50倍、至少60倍、至少70倍、至少80倍、至少90倍或至少100倍。在一些方面,相对于使用未被工程化以表达TET<sub>r</sub>蛋白的细胞产生的病毒的产生,使用包含TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体增加病毒的产生。在一些方面,所述产生增加是相对于使用未被工程化以表达TET<sub>r</sub>蛋白的细胞的产生增加至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。

[0019] 本文还提供了一种病毒载体,所述病毒载体包含盒,所述盒包含:(i)至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,并且任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,和任选地其中;(ii)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,其中所述至少一个启动子是四环素(TET)阻遏蛋白(TET<sub>r</sub>)控制的启动子,(iii)任选地,至少一个编码MHC II类抗原的核酸序列;(iv)任选地,至少一个编码GPGPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和(v)任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列。

[0020] 在一些方面,所述TET<sub>r</sub>控制的启动子包含一个或多个TET操纵子(TET<sub>o</sub>)核酸序列,任选地其中所述一个或多个TET<sub>o</sub>核酸序列包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列。在一些方面,一个或多个TET<sub>o</sub>核酸序列包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列,任选地其中TET<sub>o</sub>核酸序列各自包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列。在一些方面,2个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列连接在一起。在一些方面,2个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列直接连接在一起。在一些方面,2个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列是利用接头序列连接在一起,其中所述接头包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个核苷酸,并且任选地其中所述接头序列包含以SEQ ID NO:61所示的接头核苷酸序列。在一些方面,一个或多个TET<sub>o</sub>核酸序列是启动子序列的RNA聚合酶结合序列的5'。在一些方面,一个或多个TET<sub>o</sub>核酸

序列是启动子序列的RNA聚合酶结合序列的3'。在一些方面,至少一个启动子序列包含CMV、SV40、EF-1、RSV、PGK、HSA、MCK或EBV启动子序列。在一些方面,至少一个启动子序列是CMV衍生的启动子序列,任选地其中所述CMV启动子序列包含以SEQ ID NO:64所示的CMV启动子核苷酸序列。在一些方面,CMV衍生的启动子序列是最小CMV启动子序列,任选地其中所述最小CMV启动子序列包含如SEQ ID NO:61所示的最小CMV启动子核苷酸序列。

[0021] 在一些方面,可操作地连接到至少一个有效负载核酸序列的TETr控制的启动子包含以下式描述的有序序列,从5'至3'包含:(T-L<sub>Y</sub>)<sub>X</sub>-P-N,其中,N包含至少一个有效负载核酸序列之一,任选地其中每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,任选地存在至少一个改变,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,P,可操作地连接到至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的启动子序列的RNA聚合酶结合序列,T包括包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列的TETo核酸序列,L包含接头序列,其中对于每个X,Y=0或1,并且其中X=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一些方面,可操作地连接到至少一个有效负载核酸序列的TETr控制的启动子包含以下式描述的有序序列,从5'至3'包含:P-(T-L<sub>Y</sub>)<sub>X</sub>-N,其中,N包含至少一个有效负载核酸序列之一,任选地其中每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,任选地存在至少一个改变,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,P,可操作地连接到至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的启动子序列的RNA聚合酶结合序列,T包括包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列的TETo核酸序列,L包含接头序列,其中对于每个X,Y=0或1,并且其中X=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[0022] 在一些方面,所述TETr控制的启动子包含:(1)最小CMV启动子序列;(2)7个TETo核酸序列,其中所述TETo核酸序列各自包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列,并且其中所述TETo核酸序列各自利用接头序列连接在一起,所述7个TETo核酸序列是所述最小CMV启动子序列的5',并且任选地其中所述TETr控制的启动子包含以SEQ ID NO:61所示的核苷酸序列。在一些方面,所述TETr控制的启动子包含:(1)CMV启动子序列;(2)2个TETo核酸序列,其中所述TETo核酸序列各自包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列,并且其中所述TETo核酸序列各自直接连接在一起,所述2个TETo核酸序列是所述CMV启动子序列的3',并且任选地其中所述TETr控制的启动子包含以SEQ ID NO:64所示的核苷酸序列。

[0023] 在一些方面,所述病毒载体包含载体骨架,其中所述载体骨架包含黑猩猩腺病毒载体,任选地其中所述黑猩猩腺病毒载体是ChAdV68载体。

[0024] 在一些方面,所述盒包含以下式描述的有序序列,从5'至3'包含:P<sub>a</sub>-(L5<sub>b</sub>-N<sub>c</sub>-L3<sub>d</sub>)<sub>X</sub>-(G5<sub>e</sub>-U<sub>f</sub>)<sub>Y</sub>-G3<sub>g</sub>-A<sub>h</sub>,其中,N包含所述至少一个有效负载核酸序列之一,任选地其中每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,任选地存在至少一个改变,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,其中c=1,P包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的至少一个启动子序列,其中a=1,L5包含5'接头序列,其中b=0或1,L3包含3'接头序列,其中d=0或1,G5包含至少一个编码GPGPG氨基酸接头(SEQ ID NO:56)的核酸序列之一,其中e=0或1,G3包含至少一个编码GPGPG氨基酸接头(SEQ ID NO:56)的核酸序列之一,其中g=0或1,U包含至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列之一,其中f=1,A包含至少一个多聚腺苷酸化序

列,其中 $h=0$ 或 $1$ , $X=2$ 至 $400$ ,其中对于每个 $X$ ,相应的 $N_c$ 是有效负载核酸序列,任选地其中对于每个 $X$ ,相应的 $N_c$ 是不同的有效负载核酸序列,并且 $Y=0-2$ ,其中对于每个 $Y$ ,相应的 $U_f$ 是通用的编码MHC II类抗原的核酸序列,任选地其中对于每个 $Y$ ,相应的 $U_f$ 是不同的通用的编码MHC II类抗原的核酸序列。

[0025] 在一些方面,所述盒还包含未在有序序列中编码的至少一个额外有效负载核酸序列。在一些方面, $b=1$ , $d=1$ , $e=1$ , $g=1$ , $h=1$ , $X=10$ , $Y=2$ , $P$ 是CMV衍生的启动子序列,每个 $N$ 编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合, $L5$ 编码表位的原生 $N$ 末端氨基酸序列,并且其中 $5'$ 接头序列编码长度为至少3个氨基酸的肽, $L3$ 编码表位的原生 $C$ 末端氨基酸序列,并且其中 $3'$ 接头序列编码长度为至少3个氨基酸的肽, $U$ 是PADRE II类序列和破伤风类毒素MHC II类序列中的每一者,并且所述载体包含经修饰的ChAdV68序列,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:(a)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;(b)以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的 $3'$ ,并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;以及(c)以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的 $5'$ 。

[0026] 在一些方面,所述载体是黑猩猩腺病毒载体,任选地其中所述黑猩猩腺病毒载体是ChAdV68载体。

[0027] 在一些方面,所述部分缺失的E4基因包含:A.以SEQ ID NO:1中所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642,B.以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至34,942、核苷酸34,952至35,305、以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,302至35,642,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至36,518,C.以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,980至36,516,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至36,518,D.以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,979至35,642,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至36,518,E.至少部分缺失E4orf2、完全缺失E4orf3和至少部分缺失E4orf4的E4缺失,F.至少部分缺失E4orf2、至少部分缺失E4orf3和至少部分缺失E4orf4的E4缺失,G.至少部分缺失E4orf1、完全缺失E4orf2和至少部分缺失E4orf3的E4缺失,或H.至少部分缺失E4orf2和至少部分缺失E4orf.3的E4缺失。

[0028] 在一些方面,所述载体包含以SEQ ID NO:1所示的ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列选自由以下组成的组:以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因。在一些方面,所述腺病毒骨架或经修饰的ChAdV68序列在选自由腺病毒E1A、E1B、E2A、E2B、E3、L1、L2、L3、L4和L5基因组成的组的至少一个基因中还包含关于腺病毒基因组或关于以SEQ ID NO:1所示的序列的功能性缺失,任选地其中所述腺病毒骨架或经修饰的ChAdV68序列完全缺失或功能性缺失以下各者:(1)E1A和E1B;或(2)E1A、E1B和E3,

关于腺病毒基因组或关于以SEQ ID NO:1所示的序列,任选地其中所述E1基因通过关于以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸577至3403的E1缺失而功能性缺失,并且任选地其中所述E3基因通过关于以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸27,125至31,825的E3缺失而功能性缺失。

[0029] 在一些方面,所述盒存在并且插入所述载体中的E1区、E3区和/或允许并入所述盒的任何缺失AdV区中。

[0030] 在一些方面,所述载体是由第一代、第二代或辅助依赖性腺病毒载体中的一者产生。

[0031] 在一些方面,所述经修饰的ChAdV68序列包含以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中部分缺失的E4基因是核苷酸2至34,916的3'。在一些方面,核苷酸2至34,916缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失。在一些方面,核苷酸2至34,916关于以SEQ ID NO:1所示的序列缺少核苷酸456-3014。在一些方面,核苷酸2至34,916关于以SEQ ID NO:1所示的序列缺少核苷酸27,125-31,825,对应于E3缺失。在一些方面,核苷酸2至34,916关于以SEQ ID NO:1所示的序列缺少核苷酸27,816-31,333。在一些方面,核苷酸2至34,916缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,并且缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失。在一些方面,核苷酸2至34,916关于以SEQ ID NO:1所示的序列进一步缺少核苷酸3957-10346、核苷酸21787-23370、核苷酸33486-36193或其组合。

[0032] 在一些方面,至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码抗原,其中所述抗原包含:MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合。在一些方面,至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码能够进行抗原加工为表位的多肽序列,任选地其中所述表位已知或疑似由MHC I类呈递在细胞表面上,任选地其中所述细胞表面是肿瘤细胞表面或受感染细胞表面。

[0033] 在一些方面,至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码由MHC I类和/或MHC II类呈递在细胞表面上的多肽序列或其部分,任选地其中所述细胞表面是肿瘤细胞表面或受感染细胞表面。在一些方面,所述肿瘤细胞选自由以下组成的组:肺癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、睾丸癌、头颈癌、胰腺癌、脑癌、B细胞淋巴瘤、急性粒细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、T细胞淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌和小细胞肺癌,或所述受感染细胞选自由以下组成的组:病原体感染细胞、病毒感染细胞、细菌感染细胞、真菌感染细胞和寄生虫感染细胞,任选地其中所述病毒感染细胞选自由以下组成的组:HIV感染细胞、严重急性呼吸系统综合征相关冠状病毒(SARS)感染细胞、严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)感染细胞、埃博拉病毒感染细胞、乙型肝炎病毒(HBV)感染细胞、流感病毒感染细胞和丙型肝炎病毒(HCV)感染细胞。

[0034] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码包含能够刺激B细胞反应的表位的多肽序列或其部分,任选地其中所述多肽序列或其部分包含经预测或已知能够由抗体结合的全长蛋白质、蛋白质结构域、蛋白质亚基或抗原片段。

[0035] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码选自由以下组成的组的感染性疾病生物体肽:病原体衍生肽、病毒衍生肽、细菌衍生肽、真菌衍生肽和寄生虫衍生肽。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码具有至少一个

改变的表位,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码具有至少一个改变的MHC I类表位或MHC II类表位,所述改变使得所编码的肽序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,任选地其中所编码的多肽序列或其部分相对于被翻译的相应野生型核酸序列具有增加的结合亲和力、增加的结合稳定性和/或增加的在其相应MHC等位基因上呈递的可能性。在一些方面,所述至少一个改变包括点突变、移码突变、非移码突变、缺失突变、插入突变、剪接变体、基因组重排或蛋白酶体产生的剪接抗原。

[0036] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码全长蛋白质、蛋白质结构域或蛋白质亚基。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码抗体、细胞因子、嵌合抗原受体(CAR)、T细胞受体和基因组编辑系统核酸酶。

[0037] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者包括非编码核酸序列。在一些方面,所述非编码核酸序列包含RNA干扰(RNAi)多核苷酸或基因组编辑系统多核苷酸。

[0038] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者彼此直接连接。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者利用编码接头的核酸序列连接到不同的有效负载核酸序列。在一些方面,所述接头将编码MHC I类表位的两个有效负载核酸序列连接或将编码MHC I类表位的第一有效负载核酸序列连接到编码MHC II类表位或编码能够刺激B细胞反应的表位序列的第二有效负载核酸序列。在一些方面,所述接头选自由以下组成的组:(1)连续甘氨酸残基,长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个残基;(2)连续丙氨酸残基,长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个残基;(3)两个精氨酸残基(RR);(4)丙氨酸、丙氨酸、酪氨酸(AAY);(5)由哺乳动物蛋白酶体有效加工的长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基的共有序列;和(6)侧接源自同源蛋白的抗原并且长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或2-20个氨基酸残基的一个或多个原生序列。在一些方面,所述接头将两个编码MHC II类表位的有效负载核酸序列连接或将编码MHC II类表位的第一有效负载核酸序列连接到编码MHC I类表位或编码能够刺激B细胞反应的表位序列的第二有效负载核酸序列。在一些方面,所述接头包含序列GPGPG(SEQ ID NO:56)。

[0039] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者可操作地或直接地连接到增强所述至少一个有效负载核酸序列的表达、稳定性、细胞运输、加工和呈递和/或免疫原性,和任选地由所述至少一个有效负载核酸序列编码的多肽的表达、稳定性、细胞运输、加工和呈递和/或免疫原性的分离或连续序列。在一些方面,所述分离或连续的序列包含以下中的至少一者:泛素序列;经修饰以增加蛋白酶体靶向的泛素序列,任选地其中所述泛素序列在位置76处含有Gly至Ala的取代;免疫球蛋白信号序列,任选地其中所述免疫球蛋白信号序列包含IgK;主要组织相容性I类序列;溶酶体相关膜蛋白(LAMP)-1;人树突状细胞溶酶体相关膜蛋白;和主要组织相容性II类序列;任选地其中所述经修饰以增加蛋白酶体靶向的泛素序列是A76。

[0040] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者的表达由所述至少一个启动子驱动。

[0041] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列包括至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个有效负载核酸序列。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列包括至少11、12、13、14、

15、16、17、18、19、20个或至多400个有效负载核酸序列。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列包括至少2-400个有效负载核酸序列,并且其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列包括至少2-400个有效负载核酸序列,并且其中,当施用至所述受试者并且被翻译时,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码在抗原呈递细胞上呈递的抗原,产生靶向所述抗原的免疫应答。在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列包含至少2-400个MHC I类和/或II类抗原编码核酸序列,其中,当施用至所述受试者并且被翻译时,所述MHC I类或II类抗原中的至少一者呈递在抗原呈递细胞上,产生靶向细胞表面上的所述抗原的至少一者的免疫应答,并且任选地其中所述至少2-400个MHC I类或II类抗原编码核酸序列中的每一者的表达由所述至少一个启动子驱动。

[0042] 在一些方面,每个MHC I类表位的长度独立地介于8至35个氨基酸之间,任选地长度为7-15、9-17、9-25、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35个氨基酸。在一些方面,存在至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列。在一些方面,存在至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列,并且包含至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列,所述核酸序列包含至少一个改变,所述改变使得所编码的肽序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列。在一些方面,所述至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列的长度为12-20、12、13、14、15、16、17、18、19、20或20-40个氨基酸。在一些方面,存在至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列,并且其中所述至少一个通用序列包括破伤风类毒素和PADRE中的至少一者。

[0043] 在一些方面,所述至少一个启动子序列是可控启动子,任选地其中所述可控启动子是四环素(TET)阻遏蛋白(TET<sub>r</sub>)控制的启动子,任选地其中所述可控启动子包括在所述启动子的RNA聚合酶结合序列的5'或3'的多个TET操纵子(TET<sub>o</sub>)序列。多个TET操纵子(TET<sub>o</sub>)序列是RNA的5'或3',所述至少一个启动子序列是组成型。多个TET操纵子(TET<sub>o</sub>)序列是RNA的5'或3',所述至少一个启动子序列是CMV、SV40、EF-1、RSV、PGK、HSA、MCK或EBV启动子序列。

[0044] 在一些方面,所述盒还包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的至少一个多聚腺苷酸化(polyA)序列,任选地其中所述polyA序列位于所述至少一个有效负载核酸序列的3'。在一些方面,所述polyA序列包含SV40或牛生长激素(BGH)polyA序列。

[0045] 在一些方面,所述盒还包含以下中的至少一者:内含子序列,土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件(WPRE)序列,内部核糖体进入序列(IRES)序列,编码2A自切割肽序列的核苷酸序列,编码弗林蛋白酶切割位点的核苷酸序列,编码TEV切割位点的核苷酸序列,或已知增强可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的mRNA的核输出、稳定性或翻译效率的5'或3'非编码区中的序列。

[0046] 在一些方面,所述盒包含报告基因,所述报告基因包括但不限于绿色荧光蛋白(GFP)、GFP变体、分泌型碱性磷酸酶、荧光素酶或荧光素酶变体。

[0047] 在一些方面,所述载体还包含一个或多个编码至少一种免疫调节因子的有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一种免疫调节因子抑制免疫检查点分子。在一些方面,所述免疫调节因子是抗CTLA4抗体或其抗原结合片段、抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1

抗体或其抗原结合片段、抗4-1BB抗体或其抗原结合片段、或抗OX-40抗体或其抗原结合片段。在一些方面,所述抗体或其抗原结合片段是Fab片段、Fab'片段、单链Fv(scFv)、呈单特异性或连接在一起的多特异性形式的单结构域抗体(sdAb)(例如骆驼科抗体结构域)、或全长单链抗体(例如具有通过柔性接头连接的重链和轻链的全长IgG)。在一些方面,所述抗体的重链和轻链序列是由例如2A的自切割序列或IRES序列分隔开的连续序列,任选地其中所述自切割序列在所述自切割序列的5'具有弗林蛋白酶切割位点序列;或所述抗体的所述重链和轻链序列由柔性接头,例如连续甘氨酸残基连接。在一些方面,所述免疫调节因子是细胞因子。在一些方面,所述细胞因子是IL-2、IL-7、IL-12、IL-15或IL-21或其各自变体中的至少一者。

[0048] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者通过执行以下步骤选择:(a)从肿瘤细胞、受感染细胞或感染性疾病生物体获得外显子组、转录组或全基因组核苷酸测序数据中的至少一者,其中所述核苷酸测序数据用于获得代表抗原集合中的每一者的肽序列的数据;(b)将每个抗原的肽序列输入到呈递模型中,以产生所述抗原中的每一者由所述MHC等位基因中的一者或多者呈递在细胞表面、任选地肿瘤细胞表面或受感染细胞表面上的数值可能性集合,所述数值可能性集合已至少基于所接收的质谱数据进行鉴定;以及(c)基于所述数值可能性集合选择所述抗原集合的子集以产生经选择抗原集合,所述经选择抗原集合用于产生所述至少一个有效负载核酸序列。

[0049] 在一些方面,所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者通过执行以下步骤选择:(a)从肿瘤细胞、受感染细胞或感染性疾病生物体获得外显子组、转录组或全基因组核苷酸测序数据中的至少一者,其中所述核苷酸测序数据用于获得代表抗原集合中的每一者的肽序列的数据;(b)将每个抗原的肽序列输入到呈递模型中,以产生所述抗原中的每一者由所述MHC等位基因中的一者或多者呈递在细胞表面、任选地肿瘤细胞表面或受感染细胞表面上的数值可能性集合,所述数值可能性集合已至少基于所接收的质谱数据进行鉴定;以及(c)基于所述数值可能性集合选择所述抗原集合的子集以产生经选择抗原集合,所述经选择抗原集合用于产生所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者。在一些方面,所述经选择抗原集合的数目是2-20个。在一些方面,所述呈递模型表示以下两者之间的依赖性:(a)所述MHC等位基因中的特定一者和在肽序列的特定位置处的特定氨基酸的一对的存在;和(b)由所述对的所述MHC等位基因中的所述特定一者在细胞表面、任选地肿瘤细胞表面或受感染细胞表面上呈递在所述特定位置处包含所述特定氨基酸的所述肽序列的可能性。在一些方面,选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原在所述细胞表面上呈递的可能性增加的抗原。在一些方面,选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原能够诱发所述受试者中的细胞特异性免疫应答的可能性增加的抗原。在一些方面,选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原能够由专职抗原呈递细胞(APC)呈递给初始T细胞的可能性增加的抗原,任选地其中所述APC是树突状细胞(DC)。在一些方面,选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原经由中心或外周耐受性受抑制的可能性降低的抗原。在一些方面,选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原能够诱发对所述受试者中的正常组织的自身免疫应答的可能性降低的抗原。在一些方面,外显子组或转录组核苷酸测序数据是通过肿瘤细胞或组织、受感染细胞或感染性疾病生物

体进行测序而获得。在一些方面,所述测序是下一代测序(NGS)或任何大规模平行测序方法。

[0050] 在一些方面,所述盒包含由所述盒中的邻近序列形成的连接表位序列。在一些方面,至少一个或每个连接表位序列对MHC的亲合力大于500nM。在一些方面,每个连接表位序列是非自身的。在一些方面,所述盒不编码非治疗性MHC I类或II类表位,其中预测所述非治疗性表位展示在受试者的MHC等位基因上。在一些方面,所述经预测的非治疗性MHC I类或II类表位序列是由所述盒中的邻近序列形成的连接表位序列。在一些方面,所述预测是基于通过将所述非治疗性表位的序列输入到呈递模型中而产生的呈递可能性。在一些方面,所述盒中的所述至少一个有效负载核酸序列的顺序是通过一系列步骤确定,所述步骤包括:i.产生候选盒序列集合,其对应于所述至少一个有效负载核酸序列的不同顺序;ii.对于每个候选盒序列,基于所述候选盒序列中非治疗性表位的呈递来确定呈递评分;和iii.选择与低于预定阈值的呈递评分相关的候选盒序列作为所述盒序列。

[0051] 在一些方面,所述MHC I类和/或II类表位中的每一者经预测或验证为能够由存在于至少5%的人类群体中的至少一个HLA等位基因呈递。在一些方面,所述MHC I类和/或II类表位中的每一者经预测或验证为能够由至少一个HLA等位基因呈递,其中每个抗原/HLA对在人类群体中具有至少0.01%的抗原/HLA发生率。在一些方面,所述MHC I类和/或II类表位中的每一者经预测或验证为能够由至少一个HLA等位基因呈递,其中每个抗原/HLA对在人类群体中具有至少0.1%的抗原/HLA发生率。在一些方面,相对于直接从受试者组织或样品中提取的原生核酸序列,对编码所述多肽的所述至少一个有效负载核酸序列进行密码子优化。

[0052] 本文还公开了一种药物组合物,所述药物组合物包含本文所述的任何载体和药学上可接受的载剂。在一些方面,所述组合物还包含佐剂。在一些方面,所述组合物还包含免疫调节因子。在一些方面,所述免疫调节因子是抗CTLA4抗体或其抗原结合片段、抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段、抗4-1BB抗体或其抗原结合片段、或抗OX-40抗体或其抗原结合片段。

[0053] 本文还公开了一种分离的核苷酸序列,所述核苷酸序列包含本文所述的任何载体的盒和序列SEQ ID NO:1的基因,任选地其中所述基因选自由以下组成的组:以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒ITR、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因,并且任选地其中所述核苷酸序列是cDNA。

[0054] 本文还公开了一种分离的细胞,所述分离的细胞包含本文所述的任何分离的核苷酸序列,任选地其中所述细胞是CHO、HEK293或其变体、911、HeLa、A549、LP-293、PER.C6或AE1-2a细胞。

[0055] 还公开了一种载体,所述载体包含本文所述的任何分离的核苷酸序列。

[0056] 本文还公开了一种试剂盒,所述试剂盒包含本文所述的任何载体或组合物和使用说明。

[0057] 本文还公开了一种用于刺激受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用本文所述的任何载体或组合物。在一些方面,所述载体或组合物是经肌肉内(IM)、皮内(ID)或皮下(SC)施用。在一些方面,所述方法还包括向所述受试者施用免疫调节因子,任选地其中所述免疫调节因子是在施用所述载体或所述药物组合物之前、同时或之后施用。

在一些方面,所述免疫调节因子是抗CTLA4抗体或其抗原结合片段、抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段、抗4-1BB抗体或其抗原结合片段、或抗OX-40抗体或其抗原结合片段。在一些方面,所述免疫调节因子是经静脉内(IV)、肌肉内(IM)、皮内(ID)或皮下(SC)施用。在一些方面,所述皮下施用靠近所述载体或所述组合物施用部位或非常接近于一个或多个载体或组合物引流淋巴结。

[0058] 在一些方面,所述方法还包括向所述受试者施用第二疫苗组合物。在一些方面,所述第二疫苗组合物是在施用本文所述的任何载体或组合物之前施用。在一些方面,所述第二疫苗组合物是在施用本文所述的任何载体或组合物之后施用。在一些方面,所述第二疫苗组合物与本文所述的任何载体或组合物相同。在一些方面,所述第二疫苗组合物与本文所述的任何载体或组合物不同。在一些方面,所述第二疫苗组合物包含编码至少一个有效负载核酸序列的自扩增RNA(samRNA)载体。在一些方面,由所述samRNA载体编码的所述至少一个有效负载核酸序列与如前述载体权利要求中任一者的至少一个有效负载核酸序列中的至少一者相同。

[0059] 本文还公开了一种制造如前述载体权利要求中任一者的载体的方法,所述方法包括:获得包含腺病毒载体或黑猩猩腺病毒载体的质粒序列;将所述质粒序列转染至一个或多个宿主细胞中;以及从所述一个或多个宿主细胞分离所述载体。在一些方面,所述分离包括:溶解所述一种或多种宿主细胞以获得包含所述载体的细胞溶解产物;以及从所述细胞溶解产物和任选地另外从用于培养所述一种或多种宿主细胞的培养基纯化所述载体。在一些方面,所述质粒序列是使用以下中的一者产生;在细菌细胞中的DNA重组或细菌重组或全基因组DNA合成或具有合成DNA扩增的全基因组DNA合成。在一些方面,所述一种或多种宿主细胞是CHO、HEK293或其变体、911、HeLa、A549、LP-293、PER.C6和AE1-2a细胞中的至少一者。在一些方面,从所述细胞溶解产物纯化所述载体涉及色谱分离、离心、病毒沉淀和过滤中的一者或多者。

[0060] 本文还提供一种产生病毒的方法,其中所述病毒是使用本文所述的任何载体产生。在一些方面,相对于使用不具有部分缺失的E4基因的载体产生的病毒的产生,使用包含所述部分缺失的E4基因的所述载体增加所述病毒的产生。在一些方面,相对于使用不具有部分缺失的E4基因的载体产生的病毒的感染单位滴度,使用包含所述部分缺失的E4基因的所述载体增加所述病毒的感染单位滴度。在一些方面,所述产生增加是相对于使用不具有所述部分缺失的E4基因的载体的产生增加至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍或至少9倍。在一些方面,所述产生增加是相对于使用不具有所述部分缺失的E4基因的载体的产生增加至少10倍、至少18倍、至少20倍、至少25倍或至少27倍。

## 附图说明

[0061] 关于以下描述和附图将更好地理解本发明的这些和其他特征、方面和优势,在所述附图中:

[0062] 图1说明了体外T细胞活化测定法的发展。将疫苗盒递送至抗原呈递细胞引起独特肽抗原的表达、加工和MHC限制性呈递的测定的示意图。被工程化成具有匹配特定肽-MHC组合的T细胞受体的报告T细胞被激活,导致荧光素酶表达。

[0063] 图2A说明了对短盒中接头序列的评价并且显示了在相对于彼此相同的位置中串接的五个I类MHC限制性表位(表位1至5),接着是两个通用的II类MHC表位(MHC-II)。使用不同接头产生各种迭代。在一些情况下,T细胞表位彼此直接连接。在其他情况下,T细胞表位侧接于其天然序列的一侧或两侧上。在其他迭代中,T细胞表位通过非天然序列AAY、RR和DPP连接。

[0064] 图2B说明了对短盒中接头序列的评价并且显示了有关嵌入所述短盒中的T细胞表位的序列信息。图2B分别公开了SEQ ID NO 78-79、82、81、80、49和194,以出现的顺序。

[0065] 图3说明了对添加至模型疫苗盒中的细胞靶向序列的评价。所述靶向盒用泛素(Ub)、信号肽(SP)和/或跨膜(TM)结构域延伸所述短盒设计,特征在于紧邻所述五个标志物人类T细胞表位(表位1至5)以及两个小鼠T细胞表位SIINFEKL(SII)(SEQ ID NO:72)和SPSYAYHQF(A5)(SEQ ID NO:72),并且使用非天然接头AAY-或天然接头侧接两侧上的T细胞表位(25聚体)。

[0066] 图4说明了对短盒中接头序列的体内评价。A)使用HLA-A2转基因小鼠进行疫苗盒的体内评价的实验设计。

[0067] 图5A说明了对21聚体长盒中表位位置的影响的体内评价并且显示了长盒的设计需要用25聚体天然序列中所包含的另外的熟知T细胞I类表位(表位6至21)隔开的包含在25聚体天然序列中的五个标志物I类表位(表位1至5)(接头=天然侧接序列),和两个通用的II类表位(MHC-II0,其中仅I类表位的相对位置变化。

[0068] 图5B说明了对21聚体长盒中表位位置的影响的体内评价并且显示了有关所用T细胞表位的序列信息。图5B分别公开了SEQ ID NO 78-79、82、81、80、195-197、83和198-209,以出现的顺序。

[0069] 图6A说明了临床前IND授权研究(IND-enabling study)的最终盒设计并且显示了最终盒的设计包含在25聚体天然序列中所含有的20个MHC I表位(接头=天然侧接序列)以及2个通用MHC II类表位,所述20个MHC I表位由6个非人类灵长类动物(NHP)表位、5个人类表位、9个鼠类表位构成。

[0070] 图6B说明了临床前IND授权研究的最终盒设计并且显示了呈递在非人类灵长类动物、小鼠和人类来源的I类MHC上的所用T细胞表位的序列信息,以及2个通用MHC II类表位PADRE和破伤风类毒素的序列。图6B分别公开了SEQ ID NO 112-117、80-82、78-79、72-73、142、210、146-148、144-145、49和47,以出现的顺序。

[0071] 图7A说明了在转染之后产生ChAdV68.4WTnt.GFP病毒。使用磷酸钙方案,用ChAdV68.4WTnt.GFP DNA转染HEK293A细胞。在转染之后10天,观测到病毒复制并且使用光学显微镜检查(40×放大率)观测到ChAdV68.4WTnt.GFP病毒蚀斑。

[0072] 图7B说明了在转染之后产生ChAdV68.4WTnt.GFP病毒。使用磷酸钙方案,用ChAdV68.4WTnt.GFP DNA转染HEK293A细胞。在转染之后10天观测到病毒复制并且使用荧光显微镜检查在40×放大率下观测到ChAdV68.4WTnt.GFP病毒蚀斑。

[0073] 图7C说明了在转染之后产生ChAdV68.4WTnt.GFP病毒。使用磷酸钙方案,用ChAdV68.4WTnt.GFP DNA转染HEK293A细胞。在转染之后10天观测到病毒复制并且使用荧光显微镜检查在100×放大率下观测到ChAdV68.4WTnt.GFP病毒蚀斑。

[0074] 图8A说明了在转染之后产生ChAdV68.5WTnt.GFP病毒。使用脂染胺方案,用

ChAdV68.5WTnt.GFP DNA转染HEK293A细胞。在转染之后10天,观测到病毒复制(蚀斑)。制备溶解产物并用于再感染T25烧瓶中的293A细胞。3天后,使用光学显微镜检查(40×放大率)观测到ChAdV68.5WTnt.GFP病毒蚀斑并拍照。

[0075] 图8B说明了转染之后产生ChAdV68.5WTnt.GFP病毒。使用脂染胺方案,用ChAdV68.5WTnt.GFP DNA转染HEK293A细胞。在转染之后10天,观测到病毒复制(蚀斑)。制备溶解产物并用于再感染T25烧瓶中的293A细胞。3天后,使用荧光显微镜检查在40×放大率下观测到ChAdV68.5WTnt.GFP病毒蚀斑并拍照。

[0076] 图8C说明了转染之后产生ChAdV68.5WTnt.GFP病毒。使用脂染胺方案,用ChAdV68.5WTnt.GFP DNA转染HEK293A细胞。在转染之后10天,观测到病毒复制(蚀斑)。制备溶解产物并用于再感染T25烧瓶中的293A细胞。3天后,使用荧光显微镜检查在100×放大率下观测到ChAdV68.5WTnt.GFP病毒蚀斑并拍照。

[0077] 图9说明了病毒颗粒制造方案。

[0078] 图10说明了甲病毒源性VEE自我复制型RNA(srRNA)载体。

[0079] 图11说明了在用VEE-荧光素酶srRNA接种C57BL/6J小鼠之后的体内报告基因表达。显示出在各种时间点用VEE-荧光素酶srRNA免疫接种C57BL/6J小鼠(每只小鼠10ug,两侧肌肉内注射,MC3包封)之后的代表性荧光素酶信号图像。

[0080] 图12A说明了在带有B16-OVA肿瘤的小鼠中免疫接种用MC3LNP配制的VEE srRNA之后14天测量的T细胞反应。向带有B16-OVA肿瘤的C57BL/6J小鼠注射10ug VEE-荧光素酶srRNA(对照)、VEE-UbAAY srRNA(Vax)、VEE-荧光素酶srRNA和抗CTLA-4(aCTLA-4)或VEE-UbAAY srRNA和抗CTLA-4(Vax+aCTLA-4)。此外,从第7天开始,用抗PD1 mAb治疗所有小鼠。每组由8只小鼠组成。在免疫接种之后14天,处死小鼠并收集脾脏和淋巴结。通过IFN- $\gamma$  ELISPOT评估SIINFEKL特异性T细胞(SEQ ID NO:72所公开的“SIINFEKL”)反应并以每106个脾细胞的斑点形成细胞(SFC)数报道。线表示中值。

[0081] 图12B说明在带有B16-OVA肿瘤的小鼠中免疫接种用MC3LNP配制的VEE srRNA之后14天测量的T细胞反应。向带有B16-OVA肿瘤的C57BL/6J小鼠注射10ug VEE-荧光素酶srRNA(对照)、VEE-UbAAY srRNA(Vax)、VEE-荧光素酶srRNA和抗CTLA-4(aCTLA-4)或VEE-UbAAY srRNA和抗CTLA-4(Vax+aCTLA-4)。此外,从第7天开始,用抗PD1 mAb治疗所有小鼠。每组由8只小鼠组成。在免疫接种之后14天,处死小鼠并收集脾和淋巴结。通过MHC I-五聚体染色评估SIINFEKL特异性T细胞(SEQ ID NO:72所公开的“SIINFEKL”)反应,以五聚体阳性细胞占CD8阳性细胞的百分比报道。线表示中值。

[0082] 图13A说明了在带有B16-OVA肿瘤的小鼠中进行异源初免/加强免疫之后的抗原特异性T细胞反应。向带有B16-OVA肿瘤的C57BL/6J小鼠注射表达GFP的腺病毒(Ad5-GFP)并用经MC3 LNP配制的VEE-荧光素酶srRNA(对照)加强免疫或者注射Ad5-UbAAY并用VEE-UbAAY srRNA(Vax)加强免疫。也用IgG对照mAb治疗对照组和Vax组。第三组用Ad5-GFP初免/VEE-荧光素酶srRNA加强免疫与抗CTLA-4(aCTLA-4)的组合治疗,而第四组用Ad5-UbAAY初免/VEE-UbAAY加强免疫与抗CTLA-4的组合(Vax+aCTLA-4)治疗。此外,从第21天开始,用抗PD-1mAb治疗所有小鼠。通过IFN- $\gamma$  ELISPOT测量T细胞反应。在用腺病毒免疫接种后14天,处死小鼠并收集脾脏和淋巴结。

[0083] 图13B说明了在带有B16-OVA肿瘤的小鼠中进行异源初免/加强免疫之后的抗原特

异性T细胞反应。向带有B16-OVA肿瘤的C57BL/6J小鼠注射表达GFP的腺病毒(Ad5-GFP)并用经MC3 LNP配制的VEE-荧光素酶srRNA(对照)加强免疫或者注射Ad5-UbAAY并用VEE-UbAAY srRNA(Vax)加强免疫。也用IgG对照mAb治疗对照组和Vax组。第三组用Ad5-GFP初免/VEE-荧光素酶srRNA加强免疫与抗CTLA-4(aCTLA-4)的组合治疗,而第四组用Ad5-UbAAY初免/VEE-UbAAY加强免疫与抗CTLA-4的组合(Vax+aCTLA-4)治疗。此外,从第21天开始,用抗PD-1mAb治疗所有小鼠。通过IFN- $\gamma$  ELISPOT测量T细胞反应。在用腺病毒免疫接种后14天和在用srRNA加强免疫后14天(初免后第28天),处死小鼠并收集脾脏和淋巴结。

[0084] 图13C说明了在带有B16-OVA肿瘤的小鼠中进行异源初免/加强免疫之后的抗原特异性T细胞反应。向带有B16-OVA肿瘤的C57BL/6J小鼠注射表达GFP的腺病毒(Ad5-GFP)并用经MC3 LNP配制的VEE-荧光素酶srRNA(对照)加强免疫或者注射Ad5-UbAAY并用VEE-UbAAY srRNA(Vax)加强免疫。也用IgG对照mAb治疗对照组和Vax组。第三组用Ad5-GFP初免/VEE-荧光素酶srRNA加强免疫与抗CTLA-4(aCTLA-4)的组合治疗,而第四组用Ad5-UbAAY初免/VEE-UbAAY加强免疫与抗CTLA-4的组合(Vax+aCTLA-4)治疗。此外,从第21天开始,用抗PD-1mAb治疗所有小鼠。通过MHC I类五聚体染色测量T细胞反应。在用腺病毒免疫接种后14天,处死小鼠并收集脾脏和淋巴结。

[0085] 图13D说明了在带有B16-OVA肿瘤的小鼠中进行异源初免/加强免疫之后的抗原特异性T细胞反应。向带有B16-OVA肿瘤的C57BL/6J小鼠注射表达GFP的腺病毒(Ad5-GFP)并用经MC3 LNP配制的VEE-荧光素酶srRNA(对照)加强免疫或者注射Ad5-UbAAY并用VEE-UbAAY srRNA(Vax)加强免疫。也用IgG对照mAb治疗对照组和Vax组。第三组用Ad5-GFP初免/VEE-荧光素酶srRNA加强免疫与抗CTLA-4(aCTLA-4)的组合治疗,而第四组用Ad5-UbAAY初免/VEE-UbAAY加强免疫与抗CTLA-4的组合(Vax+aCTLA-4)治疗。此外,从第21天开始,用抗PD-1mAb治疗所有小鼠。通过MHC I类五聚体染色测量T细胞反应。在用腺病毒免疫接种后14天和在用srRNA加强免疫后14天(初免后第28天),处死小鼠并收集脾脏和淋巴结。

[0086] 图14A说明了在带有CT26(Ba1b/c)肿瘤的小鼠中进行异源初免/加强免疫之后的抗原特异性T细胞反应。对小鼠免疫接种Ad5-GFP并且在腺病毒初免后15天用经MC3 LNP配制的VEE-荧光素酶srRNA(对照)加强免疫,或用Ad5-UbAAY进行初免并用VEE-UbAAYsrRNA(Vax)加强免疫。也用IgG对照mAb治疗对照组和Vax组。向一个独立组施用Ad5-GFP/VEE-荧光素酶srRNA初免/加强免疫与抗PD-1(aPD1)的组合,而第四组接受Ad5-UbAAY/VEE-UbAAY srRNA初免/加强免疫与抗PD-1mAb的组合(Vax+aPD1)。使用IFN- $\gamma$  ELISPOT测量T细胞对AH1肽的反应。在用腺病毒免疫接种后12天,处死小鼠并收集脾脏和淋巴结。

[0087] 图14B说明了在带有CT26(Ba1b/c)肿瘤的小鼠中进行异源初免/加强免疫之后的抗原特异性T细胞反应。对小鼠免疫接种Ad5-GFP并且在腺病毒初免后15天用经MC3 LNP配制的VEE-荧光素酶srRNA(对照)加强免疫,或用Ad5-UbAAY进行初免并用VEE-UbAAYsrRNA(Vax)加强免疫。也用IgG对照mAb治疗对照组和Vax组。向一个独立组施用Ad5-GFP/VEE-荧光素酶srRNA初免/加强免疫与抗PD-1(aPD1)的组合,而第四组接受Ad5-UbAAY/VEE-UbAAY srRNA初免/加强免疫与抗PD-1mAb的组合(Vax+aPD1)。使用IFN- $\gamma$  ELISPOT测量T细胞对AH1肽的反应。在用腺病毒免疫接种后12天和在用srRNA加强免疫后6天(初免后第21天),处死小鼠并收集脾脏和淋巴结。

[0088] 图15说明了ChAdV68引起针对小鼠中小鼠肿瘤抗原的T细胞反应。对小鼠免疫接种

ChAdV68.5WTnt.MAG25mer,并且在C57BL/6J雌性小鼠中测量针对MHC I类表位SIINFEKL (SEQ ID NO:72) (OVA)的T细胞反应并在Balb/c小鼠中测量针对MHC I类表位AH1-A5的T细胞反应。呈现在ELISpot测定中测量的每 $10^6$ 个脾细胞的平均斑点形成细胞(SFC)数。误差条表示标准偏差。

[0089] 图16说明了在CT26肿瘤模型中单次免疫接种ChAdV6、ChAdV+抗PD-1、srRNA、srRNA+抗PD-1或单独抗PD-1之后的细胞免疫应答。使用ELISpot测量来自每组的6只小鼠的脾细胞中抗原特异性IFN- $\gamma$ 的产生。结果呈现为每 $10^6$ 个脾细胞的斑点形成细胞(SFC)数。每个组的中值以水平线指示。P值使用杜内特多重比较(Dunnett's multiple comparison)检验确定;\*\*\*P<0.0001,\*\*P<0.001,\*P<0.05。ChAdV=ChAdV68.5WTnt.MAG25mer;srRNA=VEE-MAG25mer srRNA。

[0090] 图17说明了在CT26肿瘤模型中单次免疫接种ChAdV6、ChAdV+抗PD-1、srRNA、srRNA+抗PD-1或单独抗PD-1之后的CD8 T细胞反应。使用ICS测量CD8 T细胞中抗原特异性IFN- $\gamma$ 的产生并且结果呈现为抗原特异性CD8 T细胞占总CD8 T细胞的百分比。每个组的中值以水平线指示。P值使用杜内特多重比较检验确定;\*\*\*P<0.0001,\*\*P<0.001,\*P<0.05。ChAdV=ChAdV68.5WTnt.MAG25mer;srRNA=VEE-MAG25mer srRNA。

[0091] 图18说明了在CT26肿瘤模型中用ChAdV/srRNA异源初免/加强免疫、srRNA/ChAdV异源初免/加强免疫或srRNA/srRNA同源初免/加强免疫进行免疫接种之后的肿瘤生长情况。还示出与在初免和加强免疫期间施用或不施用抗PD1的初免/加强免疫的比较。每周两次测量肿瘤体积并呈现研究之前21天的平均肿瘤体积。在研究起始时每组22-28只小鼠。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。P值使用杜内特检验确定;\*\*\*P<0.0001,\*\*P<0.001,\*P<0.05。ChAdV=ChAdV68.5WTnt.MAG25mer;srRNA=VEE-MAG25mer srRNA。

[0092] 图19说明了在CT26肿瘤模型中用ChAdV/srRNA异源初免/加强免疫、srRNA/ChAdV异源初免/加强免疫或srRNA/srRNA同源初免/加强免疫进行免疫接种之后的存活情况。还示出了与在初免和加强免疫期间施用或不施用抗PD1的初免/加强免疫的比较。P值使用对数秩检验确定;\*\*\*P<0.0001,\*\*P<0.001,\*P<0.01。ChAdV=ChAdV68.5WTnt.MAG25mer;srRNA=VEE-MAG25mer srRNA。

[0093] 图20A说明了使用ELISpot测量的抗原特异性细胞免疫应答。在初始免疫接种(每组6只恒河猴)1、2、3、4、5、6、8、9或10周之后,使用ELISpot针对VEE-MAG25mer srRNA-LNP1 (30 $\mu$ g)在PBMC中测量的对六种不同mamu A01限制性表位的抗原特异性IFN- $\gamma$ 产量。结果以堆叠条形图形式呈现为每个表位每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。相对于在放血前(第0周)的水平将每个动物的值归一化。

[0094] 图20B说明了使用ELISpot测量的抗原特异性细胞免疫应答。在初始免疫接种(每组6只恒河猴)1、2、3、4、5、6、8、9或10周之后,使用ELISpot针对VEE-MAG25mer srRNA-LNP1 (100 $\mu$ g)在PBMC中测量的对六种不同mamu A01限制性表位的抗原特异性IFN- $\gamma$ 产量。结果以堆叠条形图形式呈现为每个表位每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。相对于在放血前(第0周)的水平将每个动物的值归一化。

[0095] 图20C说明了使用ELISpot测量的抗原特异性细胞免疫应答。在初始免疫接种(每组6只恒河猴)1、2、3、4、5、6、8、9或10周之后,使用ELISpot针对VEE-MAG25mer srRNA-LNP2 (100 $\mu$ g)同源初免/加强免疫在PBMC中测量的对六种不同mamu A01限制性表位的抗原特异

性IFN- $\lambda$ 产量。结果以堆叠条形图形式呈现为每个表位每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。相对于在放血前(第0周)的水平将每个动物的值归一化。

[0096] 图20D说明了使用ELISpot测量的抗原特异性细胞免疫应答。在初始免疫接种(每组6只恒河猴)1、2、3、4、5、6、8、9或10周之后,使用ELISpot针对ChAdV68.5WTnt.MAG25mer/VEE-MAG25mersrRNA异源初免/加强免疫组在PBMC中测量的对六种不同mamua01限制性表位的抗原特异性IFN- $\gamma$ 产量。结果以堆叠条形图形式呈现为每个表位每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。相对于在放血前(第0周)的水平将每个动物的值归一化。

[0097] 图21显示了使用ELISpot测量的抗原特异性细胞免疫应答。在免疫接种之前和初始免疫接种4、5、6、7、8、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24周之后,在用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer/VEE-MAG25mer srRNA异源初免/加强免疫方案免疫接种之后,使用ELISpot在PBMC中测量对六种不同mamua01限制性表位的抗原特异性IFN- $\gamma$ 产量。结果以堆叠条形图形式呈现为每个表位(每组6只恒河猴)每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。

[0098] 图22显示了使用ELISpot测量的抗原特异性细胞免疫应答。在免疫接种之前和初始免疫接种4、5、6、7、8、10、11、12、13、14或15周之后,在用VEE-MAG25mer srRNA LNP2同源初免/加强免疫方案免疫接种之后,使用ELISpot在PBMC中测量对六种不同mamua01限制性表位的抗原特异性IFN- $\gamma$ 产量。结果以堆叠条形图形式呈现为每个表位(每组6只恒河猴)每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。

[0099] 图23显示了使用ELISpot测量的抗原特异性细胞免疫应答。在免疫接种之前和初始免疫接种4、5、6、7、8、10、11、12、13、14或15周之后,在用VEE-MAG25mer srRNA LNP1同源初免/加强免疫方案免疫接种之后,使用ELISpot在PBMC中测量对六种不同mamua01限制性表位的抗原特异性IFN- $\lambda$ 产量。结果以堆叠条形图形式呈现为每个表位(每组6只恒河猴)每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。

[0100] 图24A显示了由Promega动态范围标准产生的示例肽光谱。图24A公开了SEQ ID NO:77。

[0101] 图24B显示了由Promega动态范围标准产生的示例肽光谱。

[0102] 图25显示了与非纯化的汇集病毒相比,通过IU滴度评估的八种选定的ChAdV68-MAG快速生长蚀斑的生产能力。图中各栏上方的数字表示在受控感染中在MOI为0.1时,汇集病毒的提高倍数。

[0103] 图26显示了克隆1A中鉴定的E4基因座和E4orf2-E4orf4之间727bp缺失的示意图。

[0104] 图27显示了病毒加上和减去E4缺失的病毒生产能力。条柱上方的数字表示与非E4缺失病毒相比的提高倍数。ChAdV68-MAG与ChAdV68-MAG-E4病毒的比较在3次独立情况下进行。在每种情况下,利用两种病毒的400mL生产操作在MOI为1.0下进行。显示了病毒颗粒(VP)滴度(左图)和感染单位(IU)滴度(右图)。

[0105] 图28显示了在用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(“MAG”)和ChAdV68-MAG-E4缺失(“MAG-E4”)病毒感染的细胞中使用兔抗II类表位抗体表达的MAG表达的蛋白质印迹分析(Western blot analysis)。如加号和减号所示,利用和不利用蛋白酶体抑制剂MG-132处理样品。

[0106] 图29说明了具有30个(L)、40个(XL)或50个(XXL)表位的大抗原盒的各种物种的模型表位的一般组织化。

[0107] 图30显示了ChAd载体表达长盒,如由使用识别为所有盒所共有的序列的抗II类(PADRE)抗体的上述蛋白质印迹指示。HEK293细胞经表达不同大小的大盒(ChAdV68-50XXL、ChAdV68-40XL和ChAdV68-30L)的ChAdV68载体感染。感染设定在0.2的MOI下。在感染二十四小时后,将蛋白酶体抑制剂MG132添加至一组感染孔(由加号指示)。另一组经病毒处理的孔未用MG132处理(由负号指示)。未感染的HEK293细胞(293F)用作阴性对照。在感染四十八小时后,收集细胞团粒并通过SDS/PAGE电泳和使用兔抗II类PADRE抗体的免疫印迹分析。将HRP抗兔抗体和ECL化学发光基质用于检测。

[0108] 图31显示了通过ICS对AH1(顶部)和SIINFEKL(SEQ ID NO:72)(底部)检测的经ChAdV68大盒免疫接种的小鼠中的CD8+免疫应答。数据呈现为对模型表位占总CD8细胞的百分比的IFN $\gamma$ +细胞。

[0109] 图32显示了在ChAdV68大盒疫苗接种后对LD-AH1+(顶部)和Kb-SIINFEKL+(底部)(SEQ ID NO:72所公开的“SIINFEKL”)四聚体的CD8+反应。数据呈现为对模型四聚体肽复合物具有反应性的总CD8细胞的百分比。利用图基检验(Tukey's test)根据ANOVA,\* $p < 0.05$ ,\*\* $p < 0.01$ 。所有 $p$ 值均与MAG 20-抗原盒进行比较。

[0110] 图33显示了通过ICS对AH1(顶部)和SIINFEKL(SEQ ID NO:72)(底部)检测的经甲病毒大盒处理的小鼠中的CD8+免疫应答。数据呈现为对模型表位占总CD8细胞的百分比的IFN $\gamma$ +细胞。利用图基检验根据ANOVA,\* $p < 0.05$ ,\*\* $p < 0.01$ ,\*\*\* $p < 0.001$ 。所有 $p$ 值均与MAG 20-抗原盒进行比较。

[0111] 图34说明了用于评价恒河猴中含有抗原盒的载体的免疫原性的疫苗接种策略。三角形指示第0周和第32周的ChAdV68疫苗接种( $1 \times 10^{12}$  vp/动物)。圆形表示第0周、第4周、第12周、第20周、第28周和第32周的甲病毒疫苗接种。正方形表示抗CTLA4抗体的施用。

[0112] 图35显示了用单独chAd-MAG给药的恒河猴中的CD8+抗表位反应的时程(第4组)。显示了平均SFC/ $1 \times 10^6$ 个脾细胞。

[0113] 图36显示了用IV递送的chAd-MAG加抗CTLA4抗体(伊匹单抗(Ipilimumab))给药的恒河猴中的CD8+抗表位反应的时程(第5组)。显示了平均SFC/ $1 \times 10^6$ 个脾细胞。

[0114] 图37显示了用SC递送的chAd-MAG加抗CTLA4抗体(伊匹单抗)给药的恒河猴中的CD8+抗表位反应的时程(第6组)。显示了平均SFC/ $1 \times 10^6$ 个脾细胞。

[0115] 图38显示了通过ELISpot测量的由ChAdV68/samRNA疫苗方案产生的抗原特异性记忆反应。结果呈现为个体点图,其中每个点表示单个动物。显示了免疫接种前基线(左图)和初免后18个月时的记忆反应(右图)。

[0116] 图39显示了通过使用组合四聚体染色和CD45RA/CCR7共同染色的流式细胞术的抗原特异性CD8+T细胞的记忆细胞表型。

[0117] 图40显示了在研究第18个月时四个Mamu-A\*01四聚体+CD8+T细胞群体的总和内记忆细胞类型的分布。记忆细胞表征如下:CD 45RA+CCR7+=初始,CD45RA+CCR7-=效应(Teff),CD45RA-CCR7+=中央记忆(Tcm),CD45RA-CCR7-=效应记忆(Tem)。

[0118] 图41显示了识别CT26肿瘤携带小鼠中的CT26肿瘤抗原AH1的CD8+T细胞的频率。 $P$ 值使用单向ANOVA以及图基多重比较检验确定;\*\* $P < 0.001$ ,\* $P < 0.05$ 。ChAdV=ChAdV68.5WTnt.MAG25mer;aCTLA4=抗CTLA4抗体,克隆9D9。

[0119] 图42A显示了在用ChAdV68-MAG和ChAdV68-E4 $\delta$ -MAG载体处理的Balb/c小鼠中用

AH1 (鼠类白血病病毒包膜蛋白gp70的显性表位) 刺激后,通过ICS评估IFN- $\gamma$ 产生的CD8+免疫应答。通过向股四头肌双侧注射50uL病毒(总计100uL,50uL/腿)来对Balb/c小鼠实施免疫。

[0120] 图42B显示了在用ChAdV68-CMV-MAG(左图)和ChAdV68-E4d-CMT-MAG(右图)免疫的恒河猴中在第2周用6种不同恒河猴Mamu-A\*01I类表位刺激后通过ELISpot评估IFN- $\lambda$ 产生的T细胞反应,并且两种情况均施用抗CTLA4抗体(伊匹单抗)。

[0121] 图42C显示了在用ChAdV68-CMV-MAG(左图)和ChAdV68-E4d-CMT-MAG(右图)免疫的恒河猴中在一段时程内用6种不同的恒河猴Mamu-A\*01I类表位刺激后通过ELISpot评估IFN- $\gamma$ 产生的T细胞反应,并且两种情况均施用抗CTLA4抗体(伊匹单抗)。

[0122] 图43说明了使用抗原编码疫苗实例的四环素控制的病毒生产系统的一般策略。

[0123] 图44A呈现了显示关于待表达的启动子和盒的“TETo”反应区的排列的示意图。

[0124] 图44B呈现了显示关于待表达的启动子和盒的“CMT”反应区的排列的示意图。

[0125] 图45A显示了TETr介导的从具有TETo序列的ChAdV68载体表达的GFP的调控。相对于亲本293F细胞系(左图),GFP在表达TETr的293F细胞(克隆17,右图)中显著减少。用ChAdV68-TETo-GFP以1的MOI感染细胞,并且24小时后通过荧光显微镜在10X物镜下评价GFP。

[0126] 图45B显示了TETr介导的从具有CMT序列的ChAdV68载体表达的SEAP的调控。相对于亲本293F细胞系(左栏),在表达TETr的293F细胞(克隆17,左起第二栏)中,SEAP显著减少。使用表达对照表达盒的ChAdV68载体建立背景信号(右两栏)。293F细胞以0.3的MOI感染,并且24小时后收集培养基用于SEAP测定(Phospha-Light™ System(Applied Biosystems),使用化学发光底物检测分泌型碱性磷酸酶),其根据制造商的描述进行操作。

[0127] 图46显示了相对于亲本293F系中的产生,在293F TETr阻遏系(克隆17)中ChAdV68-Teto-MAG载体的病毒产生。实验以一式三份进行(操作1-3)。在每个实验中,以约3的MOI感染400mL 293F细胞并在收集前温育48-72小时。通过两个不连续的CsCl超速离心步骤纯化病毒,并透析至存储缓冲液中。通过在260nm处的吸光度测量病毒颗粒。显示了病毒颗粒(VP;上图)和感染单位(IU;下图)滴度。

[0128] 图47A显示了相对于正常293F细胞系中具有相同盒的非调控病毒(“MAG”),在293F TETr系(克隆17)中Tet调控病毒(“TETo-MAG”)的总体生产能力。显示了来自多个400mL生产操作并接着进行离心的数据。图上方的数字表示Tet调控病毒的提高倍数。

[0129] 图47B显示了ChAdV68-CT-TSNA、ChAdV68-TETo-TSNA、ChAdV68-CMT-TSNA和ChAdV68-E4d-CMT-TSNA病毒相对于ChAdV68-CMV-TSNA的病毒产生。

[0130] 图47C显示了在表达tTS的细胞系中使用具有CMT反应区的腺病毒载体对模型抗原盒50XXL和M2.2的病毒产生。

[0131] 图48显示了用调控载体与未调控载体接种疫苗后的抗原特异性T细胞反应。使用ICS测量CD8 T细胞中的抗原特异性IFN- $\gamma$ 产生,并且结果呈现为抗原特异性CD8 T细胞占总CD8 T细胞的百分比。水平线表示每个组的中值。在正常CMV启动子(ChAdV-MAG)或TETo调控启动子(TET-ChAdV-MAG)的控制下,用 $1 \times 10^{10}$ VP的表达模型抗原盒的ChAdV68疫苗对Balb/c小鼠实施免疫。接种疫苗后12天收集脾脏并制成单细胞悬浮液。

## 具体实施方式

### [0132] I. 定义

[0133] 一般来说,权利要求书和本说明书中所用的术语旨在解释为具有本领域普通技术人员所理解的普通含义。为了更清楚,某些术语定义如下。在普通含义与所提供的定义之间存在矛盾的情况下,将使用所提供的定义。

[0134] 如本文所用,术语“抗原”是诱发免疫应答的物质。抗原可为新抗原。抗原可为“共享抗原”,其是在特定群体,例如癌症患者或受感染受试者的特定群体之间发现的抗原。抗原可与感染性疾病生物体相关或源自感染性疾病生物体。

[0135] 如本文所用,术语“新抗原”是具有至少一个使其不同于相应野生型抗原的改变的抗原,例如经由肿瘤细胞中的突变或特异性针对肿瘤细胞的翻译后修饰。新抗原可包括多肽序列或核酸序列。突变可包括移码或非移码插入缺失、错义或无义取代、剪接位点改变、基因组重排或基因融合、或产生neoORF的任何基因组或表达改变。突变还可包括剪接变体。特异性针对肿瘤细胞的翻译后修饰可包括异常磷酸化。特异性针对肿瘤细胞的翻译后修饰还可包括蛋白酶体产生的剪接抗原。参见Liepe等人, A large fraction of HLA class I ligands are proteasome-generated spliced peptides; Science. 2016年10月21日; 354 (6310): 354-358。可通过使用各种诊断方法(例如下文进一步描述的患者选择方法)鉴定受试者以进行施用。

[0136] 如本文所用,术语“肿瘤抗原”是存在于受试者的肿瘤细胞或组织而非存在于受试者的相应正常细胞或组织中,或源自已知或已发现与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中具有改变的表达的多肽的抗原。

[0137] 如本文所用,术语“基于抗原的疫苗”是基于一种或多种抗原(例如多种抗原)的疫苗组合物。疫苗可为基于核苷酸(例如基于病毒、基于RNA或基于DNA)的疫苗、基于蛋白质(例如基于肽)的疫苗或其组合。

[0138] 如本文所用,术语“候选抗原”是产生可代表抗原的序列的突变或其他畸变。

[0139] 如本文所用,术语“编码区”是编码蛋白质的基因的部分。

[0140] 如本文所用,术语“编码突变”是在编码区中出现的突变。

[0141] 如本文所用,术语“ORF”意指开放阅读框。

[0142] 如本文所用,术语“NEO-ORF”是由突变或其他畸变(例如剪接)产生的肿瘤特异性ORF。

[0143] 如本文所用,术语“错义突变”是引起一个氨基酸至另一个氨基酸的取代的突变。

[0144] 如本文所用,术语“无义突变”是造成终止密码子的氨基酸的取代或造成去除典型起始密码子的突变。

[0145] 如本文所用,术语“移码突变”是引起蛋白质框架改变的突变。

[0146] 如本文所用,术语“插入缺失”是一个或多个核酸的插入或缺失。

[0147] 如本文所用,在两个或更多个核酸或多肽序列的上下文中,术语百分比“同一性”是指当出于最大对应性比较和比对时,两个或更多个序列或子序列具有指定百分比的相同的核苷酸或氨基酸残基,如使用下文所描述的序列比较算法(例如BLASTP和BLASTN或技术人员可用的其他算法)中的一者或通过目视检查所测量。取决于应用,“同一性”百分比可存在于所比较的序列区域上,例如在功能结构域上,或者存在于待比较的两个序列的全长上。

[0148] 关于序列比较,通常一个序列充当与测试序列比较的参考序列。当使用序列比较算法时,将测试和参考序列输入计算机,必要时指定子序列坐标,并且指定序列算法程序参数。然后,序列比较算法根据所指定的程序参数来计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。或者,序列相似性或不相似性可通过组合存在或不存在特定核苷酸,或对于翻译序列,在所选择的序列位置(例如序列基序)处的氨基酸来建立。

[0149] 比较序列的最佳比对可例如通过以下进行:Smith和Waterman,Adv.Appl.Math.2:482(1981)的局部同源性算法;Needleman和Wunsch,J.Mol.Biol.48:443(1970)的同源性比对算法;Pearson和Lipman,Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 85:2444(1988)的相似性搜寻方法;这些算法的计算机化实施方式(Wisconsin Genetics软件包中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA,Genetics Computer Group,575ScienceDr.,Madison,Wis.);或目视检查(一般参见Ausubel等人)。

[0150] 适合于测定序列同一性百分比和序列相似性的算法的一个实例是BLAST算法,其描述于Altschul等人,J.Mol.Biol.215:403-410(1990)中。执行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)公开获得。

[0151] 如本文所用,术语“无终止或通读”是引起天然终止密码子去除的突变。

[0152] 如本文所用,术语“表位”是通常由抗体或T细胞受体结合的抗原的特异性部分。

[0153] 如本文所用,术语“免疫原性”是例如经由T细胞、B细胞或两者引发免疫应答的能力。

[0154] 如本文所用,术语“HLA结合亲和力”、“MHC结合亲和力”意指特异性抗原与特异性MHC等位基因之间结合的亲和力。

[0155] 如本文所用,术语“诱饵”是用于从样品富集DNA或RNA的特定序列的核酸探针。

[0156] 如本文所用,术语“变体”是受试者的核酸与用作对照的参考人类基因组之间的差异。

[0157] 如本文所用,术语“变体调用(variant call)”是通常根据测序的变体存在的算法确定。

[0158] 如本文所用,术语“多态性”是生殖系变体,即在个体的所有携带DNA的细胞中发现的变体。

[0159] 如本文所用,术语“体细胞变体”是在个体的非生殖系细胞中产生的变体。

[0160] 如本文所用,术语“等位基因”是基因的形式或基因序列的形式或蛋白质的形式。

[0161] 如本文所用,术语“HLA型”是HLA基因等位基因的补体。

[0162] 如本文所用,术语“无义介导的衰变”或“NMD”是因过早终止密码子所致的细胞对mRNA的降解。

[0163] 如本文所用,术语“躯干突变”是源自肿瘤发展早期并存在于大部分肿瘤细胞中的突变。

[0164] 如本文所用,术语“亚克隆突变”是源自肿瘤发展后期并仅存在于肿瘤细胞子集中的突变。

[0165] 如本文所用,术语“外显子组”是编码蛋白质的基因组的子集。外显子组可为基因组的集合外显子。

[0166] 如本文所用,术语“逻辑回归”是来自统计的二进制数据的回归模型,其中因变量

等于1的概率的逻辑被建模为因变量的线性函数。

[0167] 如本文所用,术语“神经网络”是用于分类或回归的机器学习模型,其由多层线性变换,接着是通常经由随机梯度下降和反向传播进行训练的逐元素非线性组成。

[0168] 如本文所用,术语“蛋白质组”是由细胞、细胞群或个体表达和/或翻译的全部蛋白质的集合。

[0169] 如本文所用,术语“肽组”是由MHC-I或MHC-II在细胞表面上呈递的所有肽的集合。肽组可指细胞或细胞集合(例如肿瘤肽组,意味着构成肿瘤的所有细胞的肽组的联合)的特性。

[0170] 如本文所用,术语“ELISPOT”意指酶联免疫吸附斑点测定,其是用于监测人类和动物中的免疫应答的常用方法。

[0171] 如本文所用,术语“葡聚糖肽多聚体”是在流式细胞术中用于抗原特异性T细胞染色的基于葡聚糖的肽-MHC多聚体。

[0172] 如本文所用,术语“耐受性或免疫耐受性”是对一种或多种抗原(例如自身抗原)免疫无反应性的状态。

[0173] 如本文所用,术语“中心耐受性”是通过缺失自身反应性T细胞克隆或通过促进自身反应性T细胞克隆分化成免疫抑制性调控T细胞(Treg)而在胸腺中遭受的耐受性。

[0174] 如本文所用,术语“外周耐受性”是通过下调或不激活经受中心耐受性的自身反应性T细胞或促进这些T细胞分化成Treg而在外周遭受的耐受性。

[0175] 术语“样品”可包括通过包括静脉穿刺、排泄、射精、按摩、活组织检查、针抽吸、灌洗样品、刮取、手术切口或干预的手段或本领域中已知的其他手段从受试者获取的单细胞或多细胞或细胞碎片或体液等分试样。

[0176] 术语“受试者”涵盖人类或非人类,无论体内、离体或体外,雄性或雌性的细胞、组织或生物体。术语受试者包括包含人类的哺乳动物。

[0177] 术语“哺乳动物”涵盖人类和非人类,并且包括(但不限于)人类、非人类灵长类动物、犬科动物、猫科动物、鼠科动物、牛科动物、马科动物和猪科动物。

[0178] 术语“临床因素”是指受试者状况的量度,例如疾病活动或严重程度。“临床因素”涵盖受试者健康状况的所有标志物,包括非样品标志物,和/或受试者的其他特征,例如(但不限于)年龄和性别。临床因素可为可在确定条件下评价来自受试者的样品(或样品群体)或受试者而获得的评分、值或值集合。临床因素也可通过标志物和/或其他参数(例如基因表达替代物)来预测。临床因素可包括肿瘤类型、肿瘤亚型和吸烟史。

[0179] 术语“源自”是指直接从受试者组织或样品(例如,肿瘤、细胞、受感染细胞或感染性疾病生物体),例如经由RT-PCR提取的序列;或者通过对受试者组织或样品进行测序并且然后例如经由本领域中已知的各种合成或基于PCR的方法,使用测序数据合成核酸序列而获得的序列数据。“源自”可包括核酸序列变体,例如密码子优化的核酸序列变体,其编码与相应的原生核酸序列(例如相应的原生感染性疾病生物体核酸序列)相同的多肽序列。“源自”还可包括编码经修饰的多肽序列的变体,例如相对于原生多肽序列(例如原生感染性疾病生物体多肽序列)具有一个或多个(例如1、2、3、4或5个)突变的感染性疾病生物体多肽序列。例如,相对于原生多肽序列,经修饰的多肽序列可具有一个或多个错义突变(例如,工程化突变)。

[0180] 术语“甲病毒”是指披膜病毒科(Togaviridae)的成员,并且是正义单链RNA病毒。甲病毒通常分类为旧世界,例如辛德毕斯(Sindbis)、罗斯河(Ross River)、马雅罗(Mayaro)、基孔肯尼亚(Chikungunya)和塞姆利基森林病毒(Semliki Forest virus),或新世界,例如东部马脑炎(eastern equine encephalitis)、奥拉(Aura)、摩根堡(Fort Morgan)、或委内瑞拉马脑炎(Venezuelan equine encephalitis)及其衍生病毒株TC-83。甲病毒通常是自我复制RNA病毒。

[0181] 术语“甲病毒骨架”是指允许病毒基因组自我复制的甲病毒的最小序列。最小序列可包括用于非结构蛋白质介导的扩增的保守序列、非结构蛋白质1(nsP1)基因、nsP2基因、nsP3基因、nsP4基因和polyA序列,以及用于亚基因组病毒RNA表达的序列,包括26S启动子元件。

[0182] 术语“用于非结构蛋白质介导的扩增的序列”包括本领域技术人员熟知的甲病毒保守序列元件(CSE)。CSE包括(但不限于)甲病毒5'UTR、51-ntCSE、24-ntCSE或其他26S亚基因组启动子序列、19-ntCSE和甲病毒3'UTR。

[0183] 术语“RNA聚合酶”包括催化由DNA模板产生RNA多核苷酸的聚合酶。RNA聚合酶包括(但不限于)源自噬菌体的聚合酶,包括T3、T7和SP6。

[0184] 术语“脂质”包括疏水性和/或两亲性分子。脂质可为阳离子、阴离子或中性的。脂质可为合成或天然来源的,并且在一些情况下是可生物降解的。脂质可包括胆固醇、磷脂、脂质缀合物,包括(但不限于)聚乙二醇(PEG)缀合物(聚乙二醇化脂质)、蜡、油、甘油酯、脂肪和脂溶性维生素。脂质还可包括二亚油基甲基-4-二甲基氨基丁酸酯(MC3)和MC3样分子。

[0185] 术语“脂质纳米粒子”或“LNP”包括使用含脂质膜围绕水性内部形成的小泡样结构,也称为脂质体。脂质纳米粒子包括具有通过表面活性剂稳定的固体脂质核心的基于脂质的组合物。核心脂质可为脂肪酸、酰基甘油、蜡和这些表面活性剂的混合物。生物膜脂质,例如磷脂、鞘磷脂、胆汁盐(牛磺胆酸钠)和固醇(胆固醇),可用作稳定剂。脂质纳米粒子可使用限定比率的不同脂质分子形成,包括(但不限于)限定比率的一种或多种阳离子脂质、阴离子脂质或中性脂质。脂质纳米粒子可将分子包封在外膜壳内,并且随后可与靶细胞接触以将包封的分子递送至宿主细胞细胞溶质。脂质纳米粒子可用非脂质分子修饰或官能化,包括在其表面上。脂质纳米粒子可为单层的(单层)或多层的(多层)。脂质纳米粒子可与核酸复合。单层脂质纳米粒子可与核酸复合,其中核酸在水性内部。多层脂质纳米粒子可与核酸复合,其中核酸在水性内部,或者形成或包夹在其间。

[0186] 缩写:MHC:主要组织相容性复合物;HLA:人白细胞抗原或人MHC基因座;NGS:下一代测序;PPV:阳性预测值;TSNA:肿瘤特异性新抗原;FFPE:福尔马林固定、石蜡包埋;NMD:无义介导的衰变;NSCLC:非小细胞肺癌;DC:树突状细胞。

[0187] 应注意,除非上下文另外明确规定,否则如本说明书和所附权利要求中所用,单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括多个指示物。

[0188] 除非上下文特别陈述或以其他方式显而易见,否则如本文中所用,术语“约”应理解为在本领域的正常公差范围内,例如在平均值的2个标准偏差内。约可理解为在陈述值的10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%内。除非上下文另有明确说明,否则本文所提供的所有数值均通过术语约修饰。

[0189] 本文中未直接定义的任何术语应理解为具有与本发明的技术领域中所理解通常

相关的含义。本文论述某些术语,以向从业者提供描述本发明的方面的组合物、装置、方法等以及如何制造或使用其的额外指导。应了解,相同事物可以超过一种方式表示。因此,替代性措辞和同义词可用于本文所论述的术语中的任何一者或多者。无论本文中是否详述或论述术语都无关紧要。提供一些同义词或可取代的方法、材料等。除非明确陈述,否则对一个或数个同义词或等效物的叙述不排除使用其他同义词或等效物。包括术语实例在内的实例的使用仅用于说明性目的,并且不在本文中限制本发明的方面的范围和含义。

[0190] 在本说明书正文内引用的所有参考文献、颁布专利和专利申请均出于所有目的特此通过引用整体并入。

## [0191] II. 鉴定抗原的方法

[0192] 用于鉴定抗原(例如源自肿瘤或感染性疾病生物体的抗原)的方法包括鉴定可能呈递在细胞表面上(例如,通过MHC呈递在肿瘤细胞、受感染细胞或免疫细胞(包括专职抗原呈递细胞,例如树突状细胞)上),和/或可能具免疫原性的抗原。举例来说,一种此类方法可包括以下步骤:从肿瘤、受感染细胞或感染性疾病生物体获得以下中的至少一者:外显子组、转录组或全基因组核苷酸测序和/或表达数据,其中所述核苷酸测序数据和/或表达数据用于获得表示抗原(例如源自肿瘤或感染性疾病生物体的抗原)集合中的每一者的肽序列的数据;将每个抗原的肽序列输入一个或多个呈递模型以产生抗原中的每一者由一个或多个MHC等位基因呈递在受试者的细胞表面、例如肿瘤细胞或受感染细胞上的数值可能性集合,所述数值可能性集合已至少基于接收的质谱数据鉴定;以及基于所述数值可能性集合选择抗原集合的子集以产生经选择抗原集合。

[0193] 在关于肿瘤疫苗并且可改适为感染性疾病疫苗的一个实例中,呈递模型可包含在参考数据集合(也称为训练数据集)上训练的统计回归或机器学习(例如深度学习)模型,所述参考数据集合包含相应标记集合,其中所述参考数据集合获自多个不同受试者中的每一者,其中任选地一些受试者可具有肿瘤,并且其中所述参考数据集合包含以下中的至少一者:代表来自肿瘤组织的外显子组核酸序列的数据、代表来自正常组织的外显子组核酸序列的数据、代表来自肿瘤组织的转录组核酸序列的数据、代表来自肿瘤组织的蛋白质组序列的数据、代表来自肿瘤组织的MHC肽组序列的数据以及代表来自正常组织的MHC肽组序列的数据。参考数据可另外包含被工程化以表达随后暴露于合成蛋白质的预定MHC等位基因的单等位基因细胞系、正常和肿瘤人类细胞系、以及新鲜和冷冻原始样品的质谱数据、测序数据、RNA测序数据、表达谱数据和蛋白质组学数据,以及T细胞测定(例如ELISPOT)。在某些方面,所述参考数据集合包括每种形式的参考数据。

[0194] 呈递模型可包含至少部分从所述参考数据集合导出的特征集合,并且其中所述特征集合包含等位基因依赖性特征和等位基因非依赖性特征中的至少一者。在某些方面,包括每个特征。

[0195] 用于鉴定抗原的方法还包括通过鉴定可能呈递在受试者的细胞(例如肿瘤细胞或受感染细胞)的表面上的一种或多种抗原产生用于构建个性化疫苗的输出。作为关于肿瘤疫苗并且可改适为感染性疾病疫苗的一个实例,一种此类方法可包括以下步骤:从受试者的肿瘤细胞和正常细胞获得外显子组、转录组或全基因组核苷酸测序和/或表达数据中的至少一者,其中所述核苷酸测序和/或表达数据用于获得代表通过比较来自肿瘤细胞的核苷酸测序和/或表达数据与来自正常细胞的核苷酸测序和/或表达数据鉴定的抗原集合中

的每一者的肽序列(例如,在新抗原的情况下,其中每个新抗原的肽序列包含至少一个使其不同于相应野生型肽序列的改变,或者在无突变的抗原的情况下,其中肽源自已知或已发现与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中具有改变表达的任何多肽),从受试者的正常细胞鉴定的肽序列的数据;将抗原中的每一者的肽序列编码于相应数值向量中,每个数值向量包括关于构成肽序列的多种氨基酸以及肽序列中氨基酸的位置集合的信息;使用计算机处理器将数值向量输入深度学习呈递模型以产生抗原集合的呈递可能性的集合,集合中的每个呈递可能性代表相应抗原由一个或多个II类MHC等位基因呈递在受试者的肿瘤细胞的表面上的可能性,深度学习呈递模型;基于呈递可能性的集合选择抗原集合的子集以产生经选择抗原集合;以及基于经选择抗原集合产生用于构建个性化癌症疫苗的输出。

[0196] 用于鉴定抗原(包括新抗原)的具体方法是本领域技术人员已知的,例如国际专利申请公开W0/2017/106638、W0/2018/195357和W0/2018/208856中更详细描述的方法,所述公开出于所有目的各自通过引用整体并入本文。

[0197] 本文中公开了一种治疗患有肿瘤的受试者的方法,所述方法包括进行本文所述的抗原鉴定方法中的任一者的步骤,并且还包括获得包含经选择抗原集合的肿瘤疫苗,以及向所述受试者施用肿瘤疫苗。

[0198] 本文公开的方法还可包括鉴定对子集中的抗原中的至少一者具有抗原特异性的一种或多种T细胞。在一些实施方案中,鉴定包括在扩增一种或多种抗原特异性T细胞的条件下使一种或多种T细胞与子集中的一种或多种抗原共同培养。在其他实施方案中,鉴定包括使一种或多种T细胞与包含子集中的一种或多种抗原的四聚体在允许T细胞与四聚体之间结合的条件下接触。在甚至其他实施方案中,本文公开的方法还可包括鉴定一种或多种经鉴定T细胞的一种或多种T细胞受体(TCR)。在某些实施方案中,鉴定一种或多种T细胞受体包括对一种或多种经鉴定T细胞的T细胞受体序列进行测序。本文公开的方法可还包括对多个T细胞进行基因工程化以表达一种或多种经鉴定T细胞受体中的至少一者;在扩增所述多个T细胞的条件下培养所述多个T细胞;以及将扩增T细胞注入受试者体内。在一些实施方案中,对多个T细胞进行基因工程化以表达一种或多种经鉴定T细胞受体中的至少一者包括将一种或多种经鉴定T细胞的T细胞受体序列克隆到表达载体中;以及用所述表达载体转染所述多个T细胞中的每一者。在一些实施方案中,本文公开的方法还包括在扩增一种或多种经鉴定T细胞的条件下培养所述一种或多种经鉴定T细胞;以及将扩增T细胞注入受试者中。

[0199] 本文还公开了一种分离的T细胞,其对子集中的至少一种经选择抗原具有抗原特异性。

[0200] 本文还公开了一种用于制造肿瘤疫苗的方法,所述方法包括以下步骤:从受试者的肿瘤细胞获得以下中的至少一者:外显子组、转录组或全基因组肿瘤核苷酸测序和/或表达数据,其中所述肿瘤核苷酸测序和/或表达数据用于获得表示抗原集合中的每一者的肽序列的数据(例如,在新抗原的情况下,其中每个新抗原的肽序列包含至少一个使其不同于相应野生型肽序列的改变,或在无突变的抗原的情况下,其中肽源自已知或已发现与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中具有改变表达的任何多肽);将每个抗原的肽序列输入一个或多个呈递模型以产生抗原中的每一者由一个或多个MHC等位基因呈递在受试者的肿瘤细胞的肿瘤细胞表面上的数值可能性集合,所述数值可能性集合已至少基于接收的质谱数据鉴定;以及基于数值可能性集合选择抗原集合的子集以产生经选择抗原集合;以

及制备或已制备包含经选择抗原集合的肿瘤疫苗。

[0201] 本文还公开了一种肿瘤疫苗,其包括通过进行包括以下步骤的方法选择的经选择抗原集合:从受试者的肿瘤细胞获得以下中的至少一者:外显子组、转录组或全基因组肿瘤核苷酸测序和/或表达数据,其中所述肿瘤核苷酸测序和/或表达数据用于获得表示抗原集合中的每一者的肽序列的数据,并且其中每个抗原的肽序列(例如,在新抗原的情况下,其中每个新抗原的肽序列包含至少一个使其不同于相应野生型肽序列的改变,或在无突变的抗原的情况下,其中肽源自已知或已发现与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中具有改变表达的任何多肽);将每个抗原的肽序列输入一个或多个呈递模型以产生抗原中的每一者由一个或多个MHC等位基因呈递在受试者的肿瘤细胞的肿瘤细胞表面上的数值可能性集合,所述数值可能性集合已至少基于接收的质谱数据鉴定;以及基于数值可能性集合选择抗原集合的子集以产生经选择抗原集合;以及制备或已制备包含经选择抗原集合的肿瘤疫苗。

[0202] 肿瘤疫苗可包括核酸序列、多肽序列、RNA、DNA、细胞、质粒或载体中的一者或多者。

[0203] 肿瘤疫苗可包括在肿瘤细胞表面上呈递的一个或多个抗原。

[0204] 肿瘤疫苗可包括在受试者中具有免疫原性的一个或多个抗原。

[0205] 肿瘤疫苗可不包括在受试者中诱发针对正常组织的自身免疫应答的一个或多个抗原。

[0206] 肿瘤疫苗可包括佐剂。

[0207] 肿瘤疫苗可包括赋形剂。

[0208] 本文公开的方法还可包括基于呈递模型选择相对于未选择的抗原在肿瘤细胞表面上呈递的可能性增加的抗原。

[0209] 本文公开的方法还可包括选择基于呈递模型相对于未选择的抗原能够诱发受试者中的肿瘤特异性免疫应答的可能性增加的抗原。

[0210] 本文公开的方法还可包括基于呈递模型选择相对于未选择的抗原能够由专职抗原呈递细胞(APC)呈递给初始T细胞的可能性增加的抗原,任选地其中所述APC是树突状细胞(DC)。

[0211] 本文公开的方法还可包括基于呈递模型选择相对于未选择的抗原经由中心或外周耐受性受抑制的可能性降低的抗原。

[0212] 本文公开的方法还可包括基于呈递模型选择相对于未选择的抗原能够诱发对受试者中的正常组织的自身免疫应答的可能性降低的抗原。

[0213] 外显子组或转录组核苷酸测序和/或表达数据可通过对肿瘤组织进行测序而获得。

[0214] 测序可为下一代测序(NGS)或任何大规模平行测序方法。

[0215] 数值可能性集合可通过至少MHC-等位基因相互作用特征来进一步鉴定,所述特征包括以下中的至少一者:经预测的MHC等位基因与抗原编码肽结合的亲和力;经预测的抗原编码肽-MHC复合物的稳定性;抗原编码肽的序列和长度;如通过质谱蛋白质组学或其他手段所评估,在来自表达特定MHC等位基因的其他个体的细胞中呈递具有类似序列的抗原编码肽的概率;所讨论的受试者中特定MHC等位基因的表达水平(例如,如通过RNA-seq或质谱

法所测量) ;在表达特定MHC等位基因的其他不同受试者中由特定MHC等位基因呈递的总体新抗原编码肽序列独立性概率;在其他不同受试者中由同一家族分子(例如HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DQ、HLA-DR、HLA-DP) 中的MHC等位基因呈递的总体新抗原编码肽序列独立性概率。

[0216] 数值可能性集合进一步通过至少MHC-等位基因非相互作用特征来鉴定,所述特征包括以下中的至少一者:侧接其源蛋白序列内的新抗原编码肽的C末端和N末端序列;在新抗原编码肽中存在蛋白酶切割基序,任选地根据肿瘤细胞中相应蛋白酶的表达加权(如通过RNA-seq或质谱分析所测量);如在适当细胞类型中测量的源蛋白的周转率;源蛋白的长度,任选地考虑在肿瘤细胞中表达最高的特异性剪接变体(“同功型”),如通过RNA-seq或蛋白质组质谱分析所测量,或如根据在DNA或RNA序列数据中检测的生殖系或体细胞剪接突变的批注预测;蛋白酶体、免疫蛋白酶体、胸腺蛋白酶体或其他蛋白酶在肿瘤细胞中的表达水平(其可通过RNA-seq、蛋白质组质谱分析或免疫组织化学测量);新抗原编码肽的源基因的表达(例如,如通过RNA-seq或质谱分析所测量);在细胞周期的各阶段期间新抗原编码肽的源基因的典型的组织特异性表达;源蛋白和/或其结构域的特征的综合目录,如在例如uniProt或PDB <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>中可见;描述含有肽的源蛋白的结构域特性的特征,例如:二级或三级结构(例如 $\alpha$ 螺旋相对于 $\beta$ 折叠);选择性剪接;在其他不同受试者中由所讨论的新抗原编码肽的源蛋白呈递肽的概率;由于技术偏差,肽将不会由质谱法检测到或过量表示的概率;通过RNASeq(其无需含有肽的源蛋白)所测量的提供关于肿瘤细胞、基质或肿瘤浸润淋巴细胞(TIL) 状态的信息的各种基因模块/通路的表达;肿瘤细胞中新抗原编码肽的源基因的拷贝数;肽与TAP结合的概率或所测量或所预测的肽对TAP的结合亲和力;肿瘤细胞中TAP的表达水平(其可通过RNA-seq、蛋白质组质谱分析、免疫组织化学测量);存在或不存在肿瘤突变,包括但不限于:已知癌症驱动基因(例如EGFR、KRAS、ALK、RET、ROS1、TP53、CDKN2A、CDKN2B、NTRK1、NTRK2、NTRK3),和编码参与抗原呈递机制的蛋白质的基因(例如B2M、HLA-A、HLA-B、HLA-C、TAP-1、TAP-2、TAPBP、CALR、CNX、ERP57、HLA-DM、HLA-DMA、HLA-DMB、HLA-DO、HLA-DOA、HLA-DOB、HLA-DP、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQ、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DR、HLA-DRA、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5或编码蛋白酶体或免疫蛋白酶体的组分的基因中的任一者) 中的驱动突变。呈递依赖于肿瘤中经受功能丧失性突变的抗原呈递机制的组分的肽具有降低的呈递概率;存在或不存在功能性生殖系多态性,包括(但不限于):在编码抗原呈递机制中所涉及的蛋白质的基因(例如B2M、HLA-A、HLA-B、HLA-C、TAP-1、TAP-2、TAPBP、CALR、CNX、ERP57、HLA-DM、HLA-DMA、HLA-DMB、HLA-DO、HLA-DOA、HLA-DOB、HLA-DP、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQ、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DR、HLA-DRA、HLA-DRB1、HLA-DRB3、HLA-DRB4、HLA-DRB5或编码蛋白酶体或免疫蛋白酶体组分的基因中的任一者) 中;肿瘤类型(例如NSCLC、黑色素瘤);临床肿瘤亚型(例如鳞状肺癌与非鳞状);吸烟史;所述肽的源基因在相关肿瘤类型或临床亚型中的典型表达,任选地通过驱动子突变分层。

[0217] 至少一个改变可为移码或非移码插入缺失、错义或无义取代、剪接位点改变、基因组重排或基因融合、或产生neoORF的任何基因组或表达改变。

[0218] 肿瘤细胞可选自由以下组成的组:肺癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、睾丸癌、头颈癌、胰腺癌、脑癌、B细胞淋巴瘤、急性粒细胞白血病、慢性粒

细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、T细胞淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌和小细胞肺癌。

[0219] 本文公开的方法还可包括获得包含经选择的新抗原集合或其子集的肿瘤疫苗,任选地另外包括向受试者施用所述肿瘤疫苗。

[0220] 经选择的新抗原集合中的新抗原中的至少一者在呈多肽形式时可包括以下中的至少一者:IC50值小于1000nM的与MHC的结合亲和力,对于MHC I类多肽,长度为8-15、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸,对于MHC II类多肽,长度为6-30、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个氨基酸,在亲本蛋白质序列中的多肽内或多肽附近存在促进蛋白酶体切割的序列基序,以及存在促进TAP转运的序列基序。对于MHC II类,存在位于肽内或肽附近通过胞外或溶酶体蛋白酶(例如组织蛋白酶)或HLA-DM催化的HLA结合促进切割的序列基序。

[0221] 本文公开了用于鉴定可能在肿瘤细胞的肿瘤细胞表面上呈递的一个或多个新抗原的方法,所述方法包括执行以下步骤:接收包含与从源自多个新鲜或冷冻肿瘤样品的主要组织相容性复合物(MHC)洗脱的多个经分离的肽相关的数据的质谱数据;通过至少鉴定肿瘤样品中存在并呈递在与每个训练肽序列相关的一个或多个MHC等位基因上的训练肽序列集合来获得训练数据集;基于训练肽序列获得训练蛋白质序列集合;以及使用训练蛋白质序列和训练肽序列训练呈递模型的数值参数集合,所述呈递模型提供来自肿瘤细胞的肽序列在肿瘤细胞表面上由一个或多个MHC等位基因呈递的多个数值可能性。

[0222] 呈递模型可表示以下两者之间的依赖性:MHC等位基因中的特定一者和在肽序列的特定位置处的特定氨基酸的一对的存在;和由所述对的所述MHC等位基因中的所述特定一者在肿瘤细胞表面上呈递在所述特定位置处包含所述特定氨基酸的此类肽序列的可能性。

[0223] 本文公开的方法还可包括选择新抗原的子集,其中所述新抗原的子集是因为相对于一个或多个不同肿瘤新抗原各自在肿瘤细胞表面上呈递的可能性增加而被选择。

[0224] 本文公开的方法还可包括选择新抗原的子集,其中所述新抗原的子集是因为相对于一个或多个不同肿瘤新抗原各自能够在受试者中诱发肿瘤特异性免疫应答的可能性增加而被选择。

[0225] 本文公开的方法还可包括选择新抗原的子集,其中所述新抗原的子集是因为相对于一个或多个不同肿瘤新抗原各自能够由专职抗原呈递细胞(APC)呈递在初始T细胞的可能性增加而被选择,任选地其中所述APC是树突状细胞(DC)。

[0226] 本文公开的方法还可包括选择新抗原的子集,其中所述新抗原的子集是因为相对于一个或多个不同肿瘤新抗原各自经由中心或外周耐受性受抑制的可能性降低而被选择。

[0227] 本文公开的方法还可包括选择新抗原的子集,其中所述新抗原的子集是因为相对于一个或多个不同肿瘤新抗原各自能够在受试者中诱发针对正常组织的自身免疫应答的可能性降低而被选择。

[0228] 本文公开的方法还可包括选择新抗原的子集,其中所述新抗原的子集是因为相对于APC各自将在肿瘤细胞中经差异性翻译后修饰的可能性降低而被选择,任选地其中所述APC是树突状细胞(DC)。

[0229] 除非另外指明,否则本文方法的实践将采用本领域的技能范围内的蛋白质化学、生物化学、重组DNA技术和药理学的常规方法。在文献中充分解释此类技术。参见例如

T.E.Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., 现行版); Sambrook 等人, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (第2版, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick 和 N. Kaplan 编, Academic Press, Inc.); Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 第18版 (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey 和 Sundberg *Advanced Organic Chemistry* 第3版. (Plenum Press) 第A卷和第B卷 (1992)。

[0230] III. 鉴定新抗原中的肿瘤特异性突变

[0231] 本文还公开了用于鉴定某些突变 (例如存在于癌细胞中的变体或等位基因) 的方法。具体来说, 这些突变可存在于患有癌症的受试者的癌细胞的基因组、转录组、蛋白质组或外显子组中, 而非受试者的正常组织中。用于鉴定对肿瘤具有特异性的新抗原 (包括共享新抗原) 的具体方法是本领域技术人员已知的, 例如美国专利第10,055,540号、美国申请公开第US20200010849A1号以及国际专利申请公开W0/2018/195357和W0/2018/208856中更详细描述的方法, 所述文献出于所有目的各自通过引用整体并入本文。

[0232] 如果肿瘤中的基因突变引起肿瘤中特有的蛋白质的氨基酸序列变化, 则认为其可用于免疫靶向肿瘤。有用的突变包括: (1) 非同义突变, 导致蛋白质中的氨基酸不同; (2) 通读突变, 其中终止密码子被修饰或缺失, 导致在C末端具有新颖肿瘤特异性序列的较长蛋白质的翻译; (3) 剪接位点突变, 导致在成熟mRNA中包含内含子并因此导致特有的肿瘤特异性蛋白质序列; (4) 染色体重排, 在2种蛋白质的接合处产生具有肿瘤特异性序列的嵌合蛋白质 (即基因融合); (5) 移码突变或缺失, 导致具有新颖肿瘤特异性蛋白质序列的新的开放阅读框。突变还可包括非移码插入缺失、错义或无义取代、剪接位点改变、基因组重排或基因融合、或产生neoORF的任何基因组或表达改变中的一者或多者。

[0233] 由例如肿瘤细胞中的剪接位点、移码、通读或基因融合突变产生的具有突变的肽或突变多肽可通过对肿瘤与正常细胞中的DNA、RNA或蛋白质进行测序来鉴定。

[0234] 突变还可包括先前鉴定的肿瘤特异性突变。已知肿瘤突变可见于癌症体细胞突变目录 (COSMIC) 数据库。

[0235] 多种方法可用于检测个体的DNA或RNA中特定突变或等位基因的存在。本领域中的进步已提供精确、容易且便宜的大规模SNP基因分型。例如, 已描述数种技术, 包括动态等位基因特异性杂交 (DASH)、微板阵列对角线凝胶电泳 (MADGE)、焦磷酸测序、寡核苷酸特异性连接、TaqMan系统以及各种DNA“芯片”技术, 例如Affymetrix SNP芯片。这些方法利用通常通过PCR扩增靶基因区。仍有其他方法, 基于通过侵入性切割产生小信号分子, 然后进行质谱法或固定化挂锁探针和滚环扩增。下文汇总本领域中已知用于检测特异性突变的数种方法。

[0236] 基于PCR的检测手段可包括同时多重扩增多个标志物。例如, 选择PCR引物以产生大小不重叠并且可同时分析的PCR产物是本领域中所熟知的。或者, 可用经差异性标记并因此可各自被差异性检测的引物扩增不同的标志物。当然, 基于杂交的检测手段允许样品中多个PCR产物的差异检测。本领域中已知其他技术以允许多个标志物的多重分析。

[0237] 已开发数种方法以便于基因组DNA或细胞RNA中单核苷酸多态性的分析。例如, 单碱基多态性可通过使用特殊化核酸外切酶抗性核苷酸来检测, 如例如Mundy, C.R. (美国专

利第4,656,127号)中所公开。根据所述方法,允许与紧靠着多形位点3'的等位基因序列互补的引物与获自特定动物或人类的靶分子杂交。如果靶分子上的多形位点含有与所存在的特定核酸外切酶抗性核苷酸衍生物互补的核苷酸,则所述衍生物将并入在杂交引物的末端上。此类并入使得引物对核酸外切酶具有抗性,从而允许其检测。由于样品的核酸外切酶抗性衍生物的身分是已知的,因此引物已对核酸外切酶具有抗性的发现揭示靶分子的多形位点中存在的核苷酸与反应中所用的核苷酸衍生物互补。这种方法的优点在于其不需要判定大量无关序列数据。

[0238] 可使用基于溶液的方法确定多形位点的核苷酸的身分。Cohen,D.等人(法国专利2,650,840;PCT申请第W091/02087号)。如在美国专利第4,656,127号的Mundy方法中,采用与紧靠着多形位点3'的等位基因序列互补的引物。所述方法使用经标记的双脱氧核苷酸衍生物确定所述位点的核苷酸的身分,如果所述核苷酸与多形位点的核苷酸互补,则将并入在引物的末端上。

[0239] 称为遗传位分析或GBA的替代方法由Goellet,P.等人(PCT申请第92/15712号)描述。Goellet,P.等人的方法使用经标记的终止子和与多形位点3'序列互补的引物的混合物。所并入的经标记的终止子因此通过所评价的靶分子的多形位点中存在的核苷酸确定并与其互补。与Cohen等人(法国专利2,650,840;PCT申请第W091/02087号)的方法相比,Goellet,P.等人的方法可为非均相测定,其中引物或靶分子固定于固相。

[0240] 已描述数种用于测定DNA中多形位点的引物引导的核苷酸并入程序(Komher,J.S.等人,Nucl.Acids.Res.17:7779-7784(1989);Sokolov,B.P.,Nucl.Acids Res.18:3671(1990);Syvanen,A.-C.等人,Genomics 8:684-692(1990);Kuppuswamy,MN.等人,Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)88:1143-1147(1991);Prezant,T.R.等人,Hum.Mutat.1:159-164(1992);Ugozzoli,L.等人,GATA 9:107-112(1992);Nyren,P.等人,Anal.Biochem.208:171-175(1993))。这些方法与GBA的不同之处在于其利用并入经标记的脱氧核苷酸来区分多形位点处的碱基。在这种形式中,由于信号与并入的脱氧核苷酸的数目成比例,因此在同一核苷酸的操作中发生的多态性可产生与操作的长度成比例的信号(Syvanen,A.-C.等人,Amer.J.Hum.Genet.52:46-59(1993))。

[0241] 许多方案直接从数百万个单独的DNA或RNA分子中并行获取序列信息。实时单分子合成测序技术依赖于荧光核苷酸的检测,因为其并入至与正测序的模板互补的DNA的新生链中。在一种方法中,将长度为30-50个碱基的寡核苷酸在5'端共价锚定于玻璃盖玻片上。这些锚定链执行两种功能。首先,如果模板被配置为具有与表面结合的寡核苷酸互补的捕捉尾部,则其充当靶模板链的捕捉位点。它们还充当模板引导的引物延伸的引物,形成序列阅读的基础。捕捉引物充当固定位点以便使用多个合成、检测和化学切割染料-接头以去除染料的循环进行序列测定。每个循环由添加聚合酶/经标记的核苷酸混合物、冲洗、成像和染料切割组成。在一个替代方法中,聚合酶经荧光供体分子修饰并固定在载玻片上,而每个核苷酸用连接到 $\gamma$ -磷酸酯的受体荧光部分进行颜色编码。系统检测经荧光标记的聚合酶与经荧光修饰的核苷酸之间的相互作用,因为核苷酸并入至从头链中。还存在其他合成测序技术。

[0242] 可使用任何适合的合成测序平台鉴定突变。如上所述,目前可用四种主要合成测序平台:来自Roche/454Life Sciences的基因组测序仪、来自Illumina/Solexa的1G分析

仪、来自Applied BioSystems的SOLiD系统和来自Helicos Biosciences的Heliscope系统。合成测序平台也已由Pacific BioSciences和VisiGen Biotechnologies描述。在一些实施方案中,将所测序的多个核酸分子结合于支撑物(例如固体支撑物)。为了将核酸固定在支撑物上,可在模板的3'和/或5'端添加捕捉序列/通用引发位点。核酸可通过将捕捉序列与共价连接于支撑物的互补序列杂交而结合于支撑物。捕捉序列(也称为通用捕捉序列)是与连接到支撑物的序列互补的核酸序列,其可双重充当通用引物。

[0243] 作为捕捉序列的替代方案,偶联对(例如抗体/抗原、受体/配体或如例如美国专利申请第2006/0252077号中所述的抗生物素蛋白-生物素对)的一个成员可连接于每个片段,以捕捉在用所述偶联对的相应第二成员涂布的表面上。

[0244] 在捕捉后,可例如通过单分子检测/测序来分析序列,例如,如实施例和美国专利第7,283,337号中所述,包括模板依赖性合成测序。在合成测序中,表面结合的分子在聚合酶存在下暴露于多个经标记的核苷酸三磷酸。模板的序列通过并入至生长链的3'端的经标记的核苷酸的顺序来测定。这可实时进行或可以分步重复模式进行。对于实时分析,可将不同的光学标记并入每个核苷酸并且可利用多个激光器刺激并入的核苷酸。

[0245] 测序还可包括其他大规模平行测序或下一代测序(NGS)技术和平台。大规模平行测序技术和平台的额外实例是Illumina HiSeq或MiSeq、Thermo PGM或Proton、Pac Bio RS II或Sequel、Qiagen的Gene Reader和Oxford Nanopore MinION。可使用其他类似的当前大规模平行测序技术,以及这些技术的后代。

[0246] 可利用任何细胞类型或组织来获得用于本文所述的方法的核酸样品。例如,DNA或RNA样品可获自肿瘤或体液,例如通过已知技术(例如静脉穿刺)获得的血液或唾液。或者,可对干燥样品(例如头发或皮肤)执行核酸测试。另外,可从肿瘤获得样品用于测序并且可从正常组织获得另一样品用于测序,其中正常组织具有与肿瘤相同的组织类型。可从肿瘤获得样品用于测序并且可从正常组织获得另一样品用于测序,其中正常组织相对于肿瘤具有不同的组织类型。

[0247] 肿瘤可包括肺癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、睾丸癌、头颈癌、胰腺癌、脑癌、B细胞淋巴瘤、急性粒细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、T细胞淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌和小细胞肺癌中的一者或多者。

[0248] 或者,可使用蛋白质质谱法鉴定或验证与肿瘤细胞上的MHC蛋白质结合的突变肽的存在。肽可从肿瘤细胞或从肿瘤免疫沉淀的HLA分子酸洗脱,并且然后使用质谱法鉴定。

[0249] IV. 抗原

[0250] 抗原可包括核苷酸或多肽。例如,抗原可为编码多肽序列的RNA序列。可用于疫苗中的抗原可因此包括核酸序列或多肽序列。

[0251] 本文公开了包含通过本文公开的方法鉴定的肿瘤特异性突变的经分离的肽、包含已知肿瘤特异性突变的肽和通过本文公开的方法鉴定的突变多肽或其片段。新抗原肽可描述于其编码序列的上下文中,其中新抗原包括编码相关多肽序列的核酸序列(例如DNA或RNA)。

[0252] 本文还公开了肽,其源自已知或已发现与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中具有改变的表达的任何多肽,例如已知或已发现与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中异常表达的任何多肽。可例如在COSMIC数据库中发现可获得抗原肽的适合的多

肽。COSMIC策划关于人类癌症体细胞突变的综合信息。所述肽含有肿瘤特异性突变。

[0253] 本文所述的经修饰的腺病毒载体和其他构建体可用于递送来自任何生物体的抗原,包括其毒素或其他副产物,以预防和/或治疗与所述生物体或其副产物相关的感染或其他不良反应。

[0254] 可并入疫苗中(例如在盒中编码)的抗原包括免疫原,其可用于使人类或非人类动物针对病毒,例如感染人类和非人类脊椎动物的病原性病毒免疫。抗原可选自多种病毒家族。期望针对其的免疫应答的理想病毒家族的实例包括小核糖核酸病毒家族,包括鼻病毒属,其引起约50%的普通感冒病例;肠病毒属,包括脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒(coxsackievirus)、埃可病毒和人类肠病毒,例如甲型肝炎病毒;以及口蹄疫病毒属,其主要在非人类动物中引起口蹄疫。在小核糖核酸病毒家族的病毒中,靶抗原包括VP1、VP2、VP3、VP4和VPG。另一个病毒家族包括杯状病毒家族,其涵盖诺沃克(Norwalk)病毒组,其是流行性胃肠炎的重要病原体。用于靶向抗原以诱发人类和非人类动物中的免疫应答的另一个理想病毒家族是披盖病毒(togavirus)家族,其包括甲病毒属,包括辛德毕斯病毒、罗斯河病毒和委内瑞拉东部和西部马脑炎病毒;和风疹病毒属(rubivirus),包括风疹病毒。黄病毒科包括登革热、黄热病、日本脑炎、圣路易斯脑炎和蜱传脑炎病毒。其他靶抗原可产生自丙型肝炎或冠状病毒家族,其包括许多非人类病毒,例如感染性支气管炎病毒(家禽)、猪传染性胃肠炎病毒(猪)、猪血凝性脑脊髓炎病毒(猪)、猫感染性腹膜炎病毒(猫)、猫肠冠状病毒(猫)、犬冠状病毒(狗)和人类呼吸道冠状病毒,其可能引起普通感冒和/或非甲型、乙型或丙型肝炎。在冠状病毒家族中,靶抗原包括E1(也称为M或基质蛋白)、E2(也称为S或刺突蛋白(Spike protein))、E3(也称为HE或血凝素-elterose)糖蛋白(并非在所有冠状病毒中均存在)、或N(核衣壳)。其他抗原还可靶向弹状病毒家族,包括囊泡病毒属(例如,水泡性口炎病毒)和狂犬病毒属(例如,狂犬病)。在弹状病毒家族中,合适的抗原可源自G蛋白或N蛋白。包括出血热病毒如马尔堡(Marburg)病毒和埃博拉病毒的丝状病毒科(filoviridae)可为合适的抗原来源。副粘病毒家族包括副流感病毒1型、副流感病毒3型,牛副流感病毒3型、风疹病毒(腮腺炎病毒)、副流感病毒2型、副流感病毒4型、新城疫病毒(鸡)、牛瘟、麻疹病毒,其包括麻疹和犬瘟热,和肺炎病毒,包括呼吸道合胞病毒(例如,糖(G)蛋白和融合(F)蛋白,其序列可获自GenBank)。流感病毒被归类为正粘病毒家族,并且可为抗原的合适来源(例如HA蛋白、N1蛋白)。布尼亚病毒(bunyavirus)家族包括布尼亚病毒属(加利福尼亚脑炎、拉克罗斯(La Crosse))、白蛉病毒(裂谷热)、汉坦病毒(普马拉病毒(puremala)是一种出血热(hemahagin fever)病毒)、内罗病毒(内罗毕绵羊病)和各种未指定的布加病毒。鼻病毒家族提供针对LCM和拉沙热病毒的抗原来源。呼肠孤病毒家族包括呼肠孤病毒属、轮状病毒属(可引起儿童急性胃肠炎)、环状病毒(orbivirus)属和栽培病毒(cultivirus)属(科罗拉多蜱传热、利庞博(Lebombo)(人类)、马器质性脑病、蓝舌病)。逆转录病毒家族包括肠病毒亚科,涵盖人类和兽医疾病,如猫白血病病毒、HTLVI和HTLVII、慢病毒(包括人类免疫缺陷病毒(HIV)、猿猴免疫缺陷病毒(SIV)、猫免疫缺陷病毒(FIV)、马感染性贫血病毒和泡沫病毒亚科(spumavirinal))。在慢病毒中,已描述许多合适的抗原并且可容易地选择。合适的HIV和SIV抗原的实例包括但不限于gag、pol、Vif、Vpx、VPR、Env、Tat、Nef和Rev蛋白,以及其各种片段。例如,Env蛋白的合适片段可包括其任何亚基,例如gp120、gp160、gp41或其较小片段,例如长度至少约8个氨基酸。类似地,可选择tat蛋白的片段。[参见美国专利第5,

891,994号和美国专利第6,193,981号]。还参见D.H.Barouch等人,J.Virol.,75(5):2462-2467(2001年3月)和R.R.Amara等人,Science,292:69-74(2001年4月6日)中所述的HIV和SIV蛋白。在另一个实例中,HIV和/或SIV免疫原性蛋白质或肽可用于形成融合蛋白或其他免疫原性分子。参见例如2001年8月2日公开的W001/54719和1999年4月8日公开的W099/16884中描述的HIV-1Tat和/或Nef融合蛋白和免疫方案。本发明不限于本文所述的HIV和/或SIV免疫原性蛋白或肽。另外,已描述或可由本领域技术人员容易地对所述蛋白质进行多种修饰。参见例如美国专利第5,972,596号中所述的经修饰gag蛋白。此外,任何期望的HIV和/或SIV免疫原可单独或组合递送。这些组合可包括来自单个载体或来自多个载体的表达。乳多泡病毒家族包括多瘤病毒亚科(BKU和JCU病毒)和乳头瘤病毒亚科(与癌症或乳头的恶性进展相关)。腺病毒家族包括引起呼吸道疾病和/或肠炎的病毒(EX、AD7、ARD、O.B.)。细小病毒科猫细小病毒(猫肠炎)、猫泛白细胞减少症病毒、犬细小病毒和猪细小病毒。疱疹病毒家族包括 $\alpha$ 疱疹病毒亚科,其涵盖单纯疱疹病毒属(HSVI、HSVII)、水痘病毒属(假狂犬病、水痘带状疱疹);和 $\beta$ 疱疹病毒亚科,其包括巨细胞病毒属(人类CMV)、鼠巨细胞病毒属;和 $\gamma$ 疱疹病毒亚科,其包括淋巴隐病毒属、EBV(伯基兹淋巴瘤(Burkitt's lymphoma))、感染性鼻气管炎、马立克氏病(Marek's disease)病毒和鼻病毒。痘病毒家族包括脊椎动物痘病毒亚科,其涵盖正痘病毒属(天花(Variola/Smallpox)和牛痘(Vaccinia/Cowpox))、副痘病毒、禽痘病毒、羊痘病毒、野兔痘病毒、猪痘病毒和昆虫痘病毒(entomopoxvirinae)亚科。肝炎病毒家族包括乙型肝炎病毒。可能是合适抗原来源的一种未分类病毒是丁型肝炎病毒。其他病毒来源可包括禽感染性法氏囊病(bursal disease)病毒和猪呼吸道与生殖综合征病毒。甲病毒家族包括马动脉炎病毒和各种脑炎病毒。

[0255] 可并入疫苗中(例如,在盒中编码)的抗原还包括免疫原,其可用于使人类或非人类动物针对病原体(包括感染人类和非人类脊椎动物的细菌、真菌、寄生微生物或多细胞寄生虫)免疫。细菌病原体的实例包括病原性革兰氏阳性球菌,包括肺炎球菌;葡萄球菌;和链球菌。病原性革兰氏阴性球菌包括脑膜炎球菌;淋球菌。病原性肠革兰氏阴性杆菌包括肠杆菌科;假单胞菌(pseudomonas)、不动杆菌(acinetobacteria)和艾肯菌(eikenella);类鼻疽(melioidosis);沙门氏菌(salmonella);志贺氏菌(shigella);嗜血杆菌(haemophilus)(流感嗜血杆菌(Haemophilus influenzae)、睡眠嗜血杆菌(Haemophilus solnus));莫拉氏菌(moraxella);杜克雷嗜血杆菌(H.ducreyi)(其引起软下疳);布鲁氏菌(brucella);野兔热弗朗西丝菌(Franisella tularensis)(其引起兔热病);耶尔森氏菌(yersinia)(巴氏杆菌(pasteurella));莫尼氏链球菌(streptobacillus moniliformis);和螺菌(spirillum)。革兰氏阳性杆菌包括单核细胞增生李斯特菌(listeria monocytogenes);红斑丹毒丝菌(erysipelothrix rhusiopathiae);白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheria)(白喉);霍乱(cholera);炭疽杆菌(B.anthraxis)(炭疽);杜诺凡病(腹股沟肉芽肿);和巴氏杆菌病(bartonellosis)。由病原性厌氧细菌引起的疾病包括破伤风;肉毒杆菌中毒;其他梭状芽胞杆菌;结核;麻风;和其他分枝杆菌。特定细菌物种的实例是(但不限于)肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)、化脓性链球菌(Streptococcus pyogenes)、无乳链球菌(Streptococcus agalactiae)、粪链球菌(Streptococcus faecalis)、卡他莫拉菌(Moraxella catarrhalis)、幽门螺杆菌(Helicobacter pylori)、脑膜炎奈瑟菌(Neisseria meningitidis)、淋病奈瑟菌

(*Neisseria gonorrhoeae*)、沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*)、肺炎衣原体 (*Chlamydiapneumoniae*)、鹦鹉热衣原体 (*Chlamydiapsittaci*)、百日咳博德特氏菌 (*Bordetella pertussis*)、伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*)、鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*)、霍乱沙门氏菌 (*Salmonella choleraesuis*)、大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*)、志贺氏菌 (*Shigella*)、霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*)、白喉棒状杆菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、鸟分枝杆菌 (*Mycobacterium avium*)、细胞内分枝杆菌 (*Mycobacterium intracellulare*) 复合体、奇异变形杆菌 (*Proteus mirabilis*)、寻常变形杆菌 (*Proteus vulgaris*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、破伤风梭菌 (*Clostridium tetani*)、钩端螺旋体 (*Leptospira interrogans*)、伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、溶血巴斯德氏菌 (*Pasteurella haemolytica*)、多杀巴斯德氏菌 (*Pasteurella multocida*)、胸膜肺炎放线杆菌 (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) 和鸡败血支原体 (*Mycoplasma gallisepticum*)。病原性螺旋体疾病包括梅毒；密螺旋体病：雅司病 (yaws)、品他病 (pinta) 和地方性梅毒；和钩端螺旋体病。由高病原菌和病原真菌引起的其他感染包括放线菌病；诺卡菌病；隐球菌病 (隐球菌 (*Cryptococcus*))、芽生菌病 (芽生菌 (*Blastomyces*))、组织胞浆菌病 (组织胞浆菌 (*Histoplasma*)) 和球孢子菌病 (球孢子菌 (*Coccidioides*))；念珠菌病 (念珠菌 (*Candida*))、曲霉菌病 (曲霉菌 (*Aspergillus*)) 和毛霉菌病；孢子丝菌病；副球孢子菌病、霉样真菌病 (petriellidiosis)、球拟酵母病、足菌肿和着色真菌病；和皮肤癣菌病。立克次氏菌感染包括斑疹伤寒、落基山斑疹热 (Rocky Mountain spotted fever)、Q热和立克次体痘 (*Rickettsia*)。支原体和衣原体感染的实例包括：肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*)；性病性淋巴肉芽肿；鹦鹉热；和围产期衣原体感染。病原性真核生物涵盖病原性原生动物和蠕虫，并且由此产生的感染包括：阿米巴虫病；疟疾；利什曼病 (例如由利什曼原虫 (*Leishmania major*) 引起)；锥虫病；弓形虫病 (例如由弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 引起)；卡氏肺孢子虫 (*Pneumocystis carinii*)；Trichans；弓形虫；巴贝西虫病；贾第鞭毛虫病 (例如由贾第鞭毛虫 (*Giardia*) 引起)；旋毛虫病 (例如由滴虫 (*Trichomonas*) 引起)；丝虫病；血吸虫病 (例如由血吸虫 (*Schistosoma*) 引起)；线虫；吸虫 (trematode) 或吸虫 (fluke)；和绦虫 (带虫) 感染。其他寄生虫感染可由蛔虫 (*Ascaris*)、鞭虫 (*Trichuris*)、隐孢子虫 (*Cryptosporidium*) 和卡氏肺孢子虫等引起。

[0256] 本文还公开了衍生自与感染性疾病生物体、受试者中的感染或受试者的受感染细胞相关的任何多肽的肽。抗原可源自感染性疾病生物体的核酸序列或多肽序列。感染性疾病生物体的多肽序列包括但不限于病原体源肽、病毒源肽、细菌源肽、真菌源肽和/或寄生虫源肽。感染性疾病生物体包括但不限于严重急性呼吸系统综合征相关冠状病毒 (SARS)、严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2)、埃博拉病毒、HIV、乙型肝炎病毒 (HBV)、流感、丙型肝炎病毒 (HCV) 和结核病。

[0257] 可选择预测在细胞 (例如肿瘤细胞、受感染细胞或免疫细胞，包括专职抗原呈递细胞，例如树突状细胞) 的细胞表面上呈递的抗原。可选择预测具有免疫原性的抗原。

[0258] 由抗原核酸序列编码的一种或多种多肽可包含以下中的至少一者：IC<sub>50</sub>值小于1000nM的与MHC的结合亲和力，对于MHC I类肽，长度为8-15、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸，在肽内或肽附近存在促进蛋白酶体切割的序列基序，以及存在促进TAP转运的序列基

序。对于长度为6-30、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个氨基酸的MHC II类肽,在肽内或附近存在促进通过胞外或溶酶体蛋白酶(例如组织蛋白酶)切割或HLA-DM催化的HLA结合的序列基序。

[0259] 一个或多个抗原可呈递在肿瘤的表面。一个或多个抗原可呈递在受感染细胞的表面上。

[0260] 一个或多个抗原在具有肿瘤的受试者中可具有免疫原性,例如能够诱发受试者中的T细胞反应或B细胞反应。一种或多种抗原在具有或疑似具有感染的受试者中可为免疫原性的,例如能够在受试者中引起T细胞反应或B细胞反应。一种或多种抗原在具有感染风险的受试者中可为免疫原性的,例如能够在受试者中引起T细胞反应或B细胞反应,其提供针对感染的免疫保护(即免疫性),例如刺激记忆T细胞、记忆B细胞或感染特异性抗体的产生。

[0261] 一种或多种抗原可以能够引起B细胞反应,例如产生识别一种或多种抗原的抗体。抗体可识别线性多肽序列或识别二级和三级结构。因此,B细胞抗原可包括线性多肽序列或具有二级和三级结构的多肽,包括但不限于全长蛋白质、蛋白质亚基、蛋白质结构域,或任何已知或预测具有二级和三级结构的多肽序列。

[0262] 在疫苗生产背景下,对于受试者,可不考虑在受试者中诱发自身免疫应答的一个或多个抗原。

[0263] 至少一个抗原肽分子(例如表位序列)的大小可包含但不限于约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13、约14、约15、约16、约17、约18、约19、约20、约21、约22、约23、约24、约25、约26、约27、约28、约29、约30、约31、约32、约33、约34、约35、约36、约37、约38、约39、约40、约41、约42、约43、约44、约45、约46、约47、约48、约49、约50、约60、约70、约80、约90、约100、约110、约120或更多个氨基酸分子残基,和可源自其中的任何范围。在具体实施方案中,抗原肽分子等于或小于50个氨基酸。

[0264] 抗原肽和多肽可为:对于MHC I类,15个残基或更少的长度并且通常由约8个与约11个之间的残基、特别是9或10个残基组成;对于MHC II类,6-30个残基(包括端值)。

[0265] 如果需要,可以数种方式设计较长的肽。在一种情况下,当HLA等位基因上肽的呈递可能性经预测或已知时,较长的肽可由以下任一者组成:(1)个别呈递的具有朝向每个相应基因产物的N末端和C末端延伸2-5个氨基酸的肽;(2)所呈递的肽中的一些或全部与各自的延伸序列的串接。在另一种情况下,当测序揭示肿瘤中所存在的长(>10个残基)新表位序列(例如归因于产生新颖肽序列的移码、通读或内含子包含)时,较长的肽将由以下组成:(3)新颖肿瘤特异性或感染性疾病特异性氨基酸的整个延伸段,因此绕过对基于计算或体外测试选择最强HLA呈递的较短肽的需要。在两种情况下,使用较长的肽允许患者细胞进行内源性加工,并且可引起更有效的抗原呈递和诱发T细胞反应。

[0266] 抗原肽和多肽可呈递在HLA蛋白质上。在一些方面,抗原肽和多肽以比野生型肽更大的亲和力呈递在HLA蛋白质上。在一些方面,抗原肽或多肽的IC<sub>50</sub>可至少小于5000nM、至少小于1000nM、至少小于500nM、至少小于250nM、至少小于200nM、至少小于150nM、至少小于100nM、至少小于50nM或更小。

[0267] 在一些方面,抗原肽和多肽在施用至受试者时不诱发自身免疫应答和/或引起免疫耐受性。

[0268] 还提供了包含至少两个或更多个抗原肽的组合物。在一些实施方案中,所述组合

物含有至少两个不同的肽。至少两个不同的肽可源自相同的多肽。不同的多肽意指肽根据长度、氨基酸序列或两者而变化。肽可源自已知或已发现含有肿瘤特异性突变的任何多肽,或肽源自与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中具有改变的表达的任何多肽,例如已知或已发现与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中异常表达的任何多肽。可例如在COSMIC数据库或AACR基因组学证据瘤形成信息交换(Genomics Evidence Neoplasia InformationExchange, GENIE)数据库中发现可获得抗原肽的适合的多肽。COSMIC策划关于人类癌症体细胞突变的综合信息。AACRGENIE汇总并将临床级癌症基因组数据与来自数万名癌症患者的临床结果联系起来。在一些方面,肿瘤特异性突变是特定癌症类型的驱动突变。所述肽可源自已知或疑似与感染性疾病生物体相关的任何多肽,或源自已知或已发现与正常细胞或组织相比在受感染细胞中表达发生改变的任何多肽的肽(例如感染性疾病多核苷酸或多肽,包括表达限于宿主细胞的感染性疾病多核苷酸或多肽)。

[0269] 具有所需活性或特性的抗原肽和多肽可经修饰以提供某些所需属性,例如改善的药理学特征,同时增加或至少保留基本上所有未经修饰的肽与所需MHC分子结合和激活适当T细胞的生物活性。例如,抗原肽和多肽可进行各种变化,例如保守或非保守取代,其中此类变化可在其使用中提供某些优势,例如改进的MHC结合、稳定性或呈递。保守取代意指用生物和/或化学类似的另一氨基酸残基置换氨基酸残基(例如,一个疏水性残基置换另一个氨基酸残基,或一个极性残基置换另一氨基酸残基)。取代包括以下组合,例如Gly、Ala; Val、Ile、Leu、Met; Asp、Glu; Asn、Gln; Ser、Thr; Lys、Arg; 和Phe、Tyr。单氨基酸取代的效应也可使用D-氨基酸探测。此类修饰可使用熟知的肽合成程序进行,如例如Merrifield, Science 232:341-347(1986), Barany和Merrifield, The Peptides, Gross和Meienhofer编(N.Y., Academic Press), 第1-284页(1979); 以及Stewart和Young, Solid Phase Peptide Synthesis, (Rockford, Ill., Pierce), 第2版(1984)中所述。

[0270] 肽和多肽用各种氨基酸模拟物或非天然氨基酸修饰可在提高肽和多肽的体内稳定性方面特别有用。稳定性可以多种方式加以测定。例如,肽酶和各种生物介质(例如人类血浆和血清)已用于测试稳定性。参见例如Verhoef等人, Eur. J. Drug Metab Pharmacokin. 11:291-302(1986)。肽的半衰期可使用25%人类血清(v/v)测定方便地确定。方案一般如下。汇集的人类血清(AB型, 非热灭活)在使用之前通过离心去脂。血清然后用RPMI组织培养基稀释至25%并用于测试肽稳定性。在预定时间间隔下, 移出少量反应溶液并添加至6%三氯乙酸或乙醇水溶液中。将混浊的反应样品冷却(4°C) 15分钟, 并且然后旋转集结沉淀的血清蛋白质。然后使用稳定性特异性色谱条件通过反相HPLC来判定肽的存在。

[0271] 肽和多肽可经修饰以提供除改进的血清半衰期以外的所需属性。例如, 肽诱发CTL活性的能力可通过与含有至少一个能够诱发T辅助细胞反应的表位的序列连接来增强。免疫原性肽/T辅助细胞缀合物可通过间隔分子连接。间隔子通常由相对较小的中性分子(例如氨基酸或氨基酸模拟物)构成, 其在生理条件下基本上不带电。间隔子通常选自例如Ala、Gly或非极性氨基酸或中性极性氨基酸的其他中性间隔子。应理解, 任选存在的间隔子无需由相同残基组成, 并且因此可为杂寡聚物或均寡聚物。当存在时, 间隔子将通常是至少一个或两个残基, 更通常是三至六个残基。或者, 肽可在无间隔子的情况下连接到T辅助肽。

[0272] 抗原肽可直接或经由在肽的氨基或羧基端处的间隔子连接到T辅助肽。抗原肽或T

辅助肽的氨基端可被酰化。示例性T辅助肽包括破伤风类毒素830-843、流感307-319、疟疾环孢子382-398和378-389。

[0273] 蛋白质或肽可通过本领域技术人员已知的任何技术制造,包括经由标准分子生物学技术表达蛋白质、多肽或肽;从天然来源分离蛋白质或肽;或化学合成蛋白质或肽。先前已公开对应于各种基因的核苷酸和蛋白质、多肽和肽序列,并且可见于本领域普通技术人员已知的计算机化数据库中。一种此类数据库是位于美国国家卫生研究院(National Institutes of Health)网站的国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)的Genbank和GenPept数据库。已知基因的编码区可使用本文所公开或本领域普通技术人员应知晓的技术扩增和/或表达。或者,蛋白质、多肽和肽的各种市售制剂是本领域技术人员已知的。

[0274] 在另一方面,抗原包括编码抗原肽或其部分的核酸(例如多核苷酸)。多核苷酸可为例如DNA、cDNA、PNA、CNA、RNA(例如mRNA)、单链和/或双链、或原生或稳定形式的多核苷酸,例如具有硫代磷酸骨架的多核苷酸,或其组合,并且其可含有或可不含内含子。另一方面提供一种能够表达多肽或其部分的表达载体。不同细胞类型的表达载体在本领域中已熟知并且无需过度实验便可选择。一般来说,DNA以适当定向插入至表达载体(例如质粒)中并以正确阅读框进行表达。如果需要,DNA可连接到由所需宿主识别的适当转录和翻译调节控制核酸序列,但此类控制件一般可用于表达载体中。载体然后经由标准技术引入至宿主中。指导可见于例如Sambrook等人(1989)MolecularCloning,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y中。

[0275] V.递送组合物

[0276] 本文还公开了一种能够引起特异性免疫应答(例如肿瘤特异性免疫应答或感染性疾病生物体特异性免疫应答)的免疫原性组合物,例如疫苗组合物。疫苗组合物通常包含例如使用本文所述的方法选择的一个或多个抗原。疫苗组合物也可称为疫苗。

[0277] 疫苗可含有1至30个肽;2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个不同的肽;6、7、8、9、10、11、12、13或14个不同的肽;或12、13或14个不同的肽。肽可包括翻译后修饰。疫苗可含有1至100或更多个核酸序列;2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或更多个不同的核酸序列;6、7、8、9、10、11、12、13或14个不同的核酸序列;或12、13或14个不同的核酸序列。疫苗可含有1至30个抗原序列,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或更多个不同抗原序列,6、7、8、9、10、11、12、13或14个不同抗原序列,或12、13或14个不同抗原序列。

[0278] 疫苗可含有1至30个抗原编码核酸序列,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、

41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或更多个不同的抗原编码核酸序列,6、7、8、9、10、11、12、13或14个不同的抗原编码核酸序列,或12、13或14个不同的抗原编码核酸序列。抗原编码核酸序列可指抗原“盒”的抗原编码部分。盒的特征在下面更详细地描述。

[0279] 疫苗可含有1至30个不同的表位编码核酸序列,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或更多个不同的表位编码核酸序列,6、7、8、9、10、11、12、13或14个不同的表位编码核酸序列,或12、13或14个不同的表位编码核酸序列。表位序列编码表位可指单个表位序列的序列。

[0280] 疫苗可含有表位编码核酸序列的至少两个重复序列。如本文所用,“重复序列”是指相同核酸表位编码核酸序列(包括本文所述的任选的5'接头序列和/或任选的3'接头序列)在抗原编码核酸序列内的两次或更多次迭代。在一个实例中,盒的抗原编码核酸序列部分编码表位编码核酸序列的至少两个重复序列。在另外的非限制性实例中,盒的抗原编码核酸序列部分编码超过一个不同的表位,并且至少一个不同的表位由编码所述不同表位的核酸序列的至少两个重复序列编码(即至少两个不同的表位编码核酸序列)。在说明性的非限制性实例中,抗原编码核酸序列编码由表位编码核酸序列编码的表位A、B和C,即表位编码序列A( $E_A$ )、表位编码序列B( $E_B$ )和表位编码序列C( $E_C$ ),并且具有至少一个不同表位的重复序列的示例性抗原编码核酸序列由下式举例说明,但不限于此:

[0281] -一个不同表位的重复序列(表位A的重复序列):

[0282]  $E_A-E_B-E_C-E_A$ ;或

[0283]  $E_A-E_A-E_B-E_C$

[0284] -多个不同表位的重复序列(表位A、B和C的重复序列):

[0285]  $E_A-E_B-E_C-E_A-E_B-E_C$ ;或

[0286]  $E_A-E_A-E_B-E_B-E_C-E_C$

[0287] -多个不同表位的多个重复序列(表位A、B和C的重复序列):

[0288]  $E_A-E_B-E_C-E_A-E_B-E_C-E_A-E_B-E_C$ ;或

[0289]  $E_A-E_A-E_A-E_B-E_B-E_B-E_C-E_C-E_C$

[0290] 以上实例并非限制性的,并且具有至少一个不同表位的重复序列的抗原编码核酸序列可以任何顺序或频率编码不同表位中的每一者。例如,顺序和频率可为不同表位的随机排列,例如,在具有表位A、B和C的实例中,其式为 $E_A-E_B-E_C-E_C-E_A-E_B-E_A-E_C-E_A-E_C-E_C-E_B$ 。

[0291] 本文还提供了一种抗原编码盒,所述抗原编码盒具有由下式从5'至3'描述的至少一个抗原编码核酸序列:

[0292]  $(E_x - (E_n^N)_{y^z})_z$

[0293] 其中E表示包含至少一个不同表位编码核酸序列中的至少一者的核酸序列,

[0294] n表示独立的的不同表位编码核酸序列的数目并且是包括0的任何整数,

[0295]  $E^N$ 表示包含对于每个相应n的独立的不同的表位编码核酸序列的核酸序列,

[0296] 对于z的每次迭代:对于每个n,  $x=0$ 或 $1$ ,  $y=0$ 或 $1$ , 并且x或y中的至少一者 $=1$ , 并且

[0297]  $z=2$ 或更大, 其中抗原编码核酸序列包含E的至少两次迭代、给定 $E^N$ 或其组合。

[0298] 每个E或 $E^N$ 可独立地包含本文描述的任何表位编码核酸序列。例如, 每个E或 $E^N$ 可独立地包含由式  $(L5_b-N_c-L3_d)$  从 $5'$ 至 $3'$ 描述的核酸序列, 其中N包含与每个E或 $E^N$ 相关的不同的表位编码核酸序列, 其中 $c=1$ ,  $L5$ 包含 $5'$ 接头序列, 其中 $b=0$ 或 $1$ , 并且 $L3$ 包含 $3'$ 接头序列, 其中 $d=0$ 或 $1$ 。本文进一步描述可使用的表位和接头, 例如参见“V.A.盒”部分。

[0299] 表位编码核酸序列(包括任选的 $5'$ 接头序列和/或任选的 $3'$ 接头序列)的重复序列可直接彼此线性连接(例如, 如上所示的 $E_A-E_A-\dots$ )。表位编码核酸序列的重复序列可由一个或多个其他核苷酸序列分隔开。通常, 表位编码核酸序列的重复序列可由适用于本文所述的组合物的任何大小的核酸序列分隔开。在一个实例中, 表位编码核酸序列的重复序列可由分开的不同的表位编码核酸序列(例如, 如上所示的 $E_A-EB-E_C-E_A-\dots$ )分隔开。在其中重复序列由单个独立的不同的表位编码核酸序列分隔开并且每个表位编码核酸序列(包括任选的 $5'$ 接头序列和/或任选的 $3'$ 接头序列)编码长度为25个氨基酸的肽的实例中, 重复序列可由75个核苷酸分隔开, 例如在由 $E_A-E_B-E_A-\dots$ 表示的抗原编码核酸中,  $E_A$ 由75个核苷酸分隔开。在一个说明性实例中, 具有序列VTNTEMFVTAPDNLGYMYEVQWPGQTQPQIANCSVYDFFVWLHYYSVRDVTNTEMFVTAPDNLGYMYEVQWPGQTQPQIANCSVYDFFVWLHYYSVRDT (SEQ ID NO:74)的抗原编码核酸编码25聚体抗原的重复序列Trp1 (VTNTEMFVTAPDNLGYMYEVQWPGQ (SEQ ID NO:75)) 和Trp2 (TQPQIANCSVYDFFVWLHYYSVRDT (SEQ ID NO:76)), Trp1的重复序列由25聚体Trp2分隔开并且因此Trp1表位编码核酸序列的重复序列由75个核苷酸Trp2表位编码核酸序列分隔开。在其中重复序列由2、3、4、5、6、7、8或9个单独的不同的表位编码核酸序列分隔开并且每个表位编码核酸序列(包括任选的 $5'$ 接头序列和/或任选的 $3'$ 接头序列)编码长度为25个氨基酸的肽的实例中, 重复序列可分别由150、225、300、375、450、525、600或675个核苷酸分隔开。

[0300] 在一个实施方案中, 选择不同肽和/或多肽或编码其的核酸序列, 使得肽和/或多肽能够与不同MHC分子(例如不同MHC I类分子和/或不同MHC II类分子)结合。在一些方面, 一种疫苗组合物包含能够与最常出现的MHC I类分子和/或不同MHC II类分子缔合的肽和/或多肽的编码序列。因此, 疫苗组合物可包含能够与至少2个优选的、至少3个优选的或至少4个优选的MHC I类分子和/或不同MHC II类分子缔合的不同片段。

[0301] 疫苗组合物能够引起特异性细胞毒性T细胞反应和/或特异性辅助T细胞反应。

[0302] 疫苗组合物可另外包含佐剂和/或载剂。有用的佐剂和载剂的实例在下文中给出。组合物可与载剂缔合, 例如蛋白质或抗原呈递细胞, 例如能够将肽呈递至T细胞的树突状细胞(DC)。

[0303] 佐剂是混合至疫苗组合物中增加或以其他方式修饰对抗原的免疫应答的任何物质。载剂可为支架结构, 例如能够与抗原缔合的多肽或多糖。任选地, 佐剂是共价或非共价缀合的。

[0304] 佐剂提高对抗原的免疫应答的能力通常显现为免疫介导性反应的显著或实质性增加或疾病症状的减少。例如, 体液免疫的增强典型地显现为针对抗原所产生的抗体滴度的显著增大, 并且T细胞活性的增强典型地显现为细胞增殖或细胞性细胞毒性或细胞因子

分泌的增强。佐剂还可改变免疫应答,例如通过将主要体液或Th反应变为主要细胞或Th反应。

[0305] 适合的佐剂包括(但不限于)1018 ISS、明矾、铝盐、Amplivax、AS15、BCG、CP-870、893、CPG7909、CyaA、dSLIM、GM-CSF、IC30、IC31、咪喹莫特(Imiquimod)、ImuFact IMP321、IS Patch、ISS、ISCOMATRIX、JuvImmune、LipoVac、MF59、单磷酸基脂质A、Montanide IMS1312、Montanide ISA 206、Montanide ISA 50V、Montanide ISA-51、OK-432、OM-174、OM-197-MP-EC、ONTAK、PepTel载体系统、PLG微粒、雷西莫特(resiquimod)、SRL172、病毒颗粒和其他病毒样颗粒、YF-17D、VEGF捕获剂、R848、 $\beta$ -葡聚糖、Pam3Cys、Aquila的源自皂素的QS21刺激子(Aquila Biotech, Worcester, Mass., USA)、分支杆菌提取物和合成细菌细胞壁模拟物,以及其他专用佐剂,例如Ribi的Detox、Quil或Superfos。例如弗氏(Freund's)不完全或GM-CSF的佐剂是有用的。先前已描述对树突状细胞具有特异性的数种免疫佐剂(例如MF59)及其制备(Dupuis M等人, Cell Immunol. 1998; 186(1): 18-27; Allison A C; Dev Biol Stand. 1998; 92: 3-11)。还可使用细胞因子。数种细胞因子已直接关联于:影响树突状细胞迁移至淋巴组织(例如TNF- $\alpha$ )、加速树突状细胞成熟变为T-淋巴细胞的有效抗原呈递细胞(例如GM-CSF、IL-1和IL-4)(美国专利第5,849,589号,其通过引用整体明确并入本文)以及充当免疫佐剂(例如IL-12)(Gabrilovich D I等人, J Immunother Emphasis Tumor Immunol. 1996(6): 414-418)。

[0306] 还已报道CpG免疫刺激性寡核苷酸增强佐剂在疫苗环境中的效应。还可使用其他TLR结合分子,例如结合RNA的TLR 7、TLR 8和/或TLR9。

[0307] 有用佐剂的其他实例包括(但不限于)经化学修饰的CpG(例如CpR、Idera)、聚(I:C)(例如聚i:CI2U)、非CpG细菌DNA或RNA以及免疫活性小分子和抗体,例如环磷酰胺、舒尼替尼(sunitinib)、贝伐单抗(bevacizumab)、西乐葆(celebrex)、NCX-4016、西地那非(sildenafil)、他达拉非(tadalafil)、伐地那非(vardenafil)、索拉菲尼(sorafenib)、XL-999、CP-547632、帕佐泮尼(pazopanib)、ZD2171、AZD2171、伊匹单抗、曲美单抗(tremelimumab)和SC58175,其可起治疗作用和/或充当佐剂。佐剂和添加剂的量和浓度可容易由本领域技术人员确定而无需过度实验。额外佐剂包括集落刺激因子,例如粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF,沙格司亭(sargramostim))。

[0308] 疫苗组合物可包含超过一种的不同佐剂。此外,治疗性组合物可包含任何佐剂物质,包括以上各者中的任一者或其组合。还预期,疫苗和佐剂可一起或以任何适当的顺序分开施用。

[0309] 载剂(或赋形剂)可独立于佐剂存在。载剂的功能可例如是增加特定突变体的分子量以提高活性或免疫原性、赋予稳定性、增加生物活性或增加血清半衰期。此外,载剂可辅助呈递肽至T细胞。载剂可为本领域技术人员已知的任何适合的载剂,例如蛋白质或抗原呈递细胞。载剂蛋白质可为(但不限于)匙孔螺血氰蛋白、血清蛋白质(例如转铁蛋白)、牛血清白蛋白、人类血清白蛋白、甲状腺球蛋白或卵白蛋白、免疫球蛋白或激素,例如胰岛素或棕榈酸。为了用于人类免疫接种,载剂一般是生理学上可接受的载剂,其为人类可接受的并且是安全的。然而,破伤风类毒素和/或白喉类毒素是适合的载剂。或者,载剂可为葡聚糖,例如琼脂糖。

[0310] 细胞毒性T细胞(CTL)识别呈结合至MHC分子的肽形式而非完整外来抗原自身的抗

原。MHC分子本身位于抗原呈递细胞的细胞表面上。因此,如果存在肽抗原、MHC分子和APC的三聚体复合物,则可能激活CTL。相应地,如果不仅将肽用于激活CTL,而且如果另外添加具有相应MHC分子的APC,则可加强免疫应答。因此,在一些实施方案中,疫苗组合物另外含有至少一种抗原呈递细胞。

[0311] 抗原还可包括于基于病毒载体的疫苗平台中,例如牛痘、禽痘、自我复制甲病毒、马拉巴病毒(marabavirus)、腺病毒(参见例如Tatsis等人,Adenoviruses, Molecular Therapy (2004) 10, 616-629)或慢病毒,包括(但不限于)第二、第三或杂交第二/第三代慢病毒和任一一代的重组慢病毒,其设计成靶向特定细胞类型或受体(参见例如Hu等人, Immunization Del ivered by Lentiviral Vectors for Cancer and Infectious Diseases, Immunol Rev. (2011) 239(1):45-61; Sakuma等人, Lentiviral vectors: basic to translational, Biochem J. (2012) 443(3):603-18; Cooper等人, Rescue of splicing-mediated intron loss maximizes expression in lentiviral vectors containing the human ubiquitin C promoter, Nucl. Acids Res. (2015) 43(1):682-690; Zufferey等人, Self-Inactivating Lentivirus Vector for Safe and Efficient In Vivo Gene Delivery, J. Virol. (1998) 72(12):9873-9880)。取决于上述基于病毒载体的疫苗平台的包装能力,这种方法可递送编码一个或多个抗原肽的一个或多个核酸序列。序列可侧接非突变序列,可由接头分开或者可在前面有一个或多个靶向亚细胞区室的序列(参见例如Gros等人, Prospective identification of neoantigen specific lymphocytes in the peripheral blood of melanoma patients, Nat Med. (2016) 22(4):433-8; Stronen等人, Targeting of cancer neoantigens with donor-derived T cell receptor repertoires, Science. (2016) 352(6291):1337-41; Lu等人, Efficient identification of mutated cancer antigens recognized by T cells associated with durable tumor regressions, Clin Cancer Res. (2014) 20(13):3401-10)。在引入宿主后,经感染细胞表达抗原,从而引发针对肽的宿主免疫(例如CTL)反应。可用于免疫方案中的牛痘载体和方法描述于例如美国专利第4,722,848号中。另一种载体是卡介苗(Bacille Calmet te Guerin, BCG)。BCG载体描述于Stover等人(Nature 351:456-460 (1991))中。根据本文描述,可用于抗原的治疗性施用或免疫接种的各种其他疫苗载体,例如伤寒沙门氏菌载体等,对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0312] 本文还公开了能够递送一种或多种有效负载核酸序列的腺病毒载体递送组合物。有效负载核酸序列可为期望递送至目标细胞的任何核酸序列。通常,有效负载是与启动子连接以驱动核酸序列的表达的核酸序列。有效负载核酸序列可编码多肽(即,能够被转录并翻译成蛋白质的核酸序列)。通常,编码肽的有效负载核酸序列可编码期望在细胞中表达的任何蛋白质。蛋白质的实例包括但不限于抗原(例如,MHCI类表位、MHC II类表位或能够刺激B细胞反应的表位),抗体,细胞因子,嵌合抗原受体(CAR), T细胞受体或基因组编辑系统组件(例如,基因组编辑系统中使用的核酸酶)。基因组编辑系统包括但不限于CRISPR系统、锌指系统、大范围核酸酶系统或TALEN系统。有效负载核酸序列可为非编码的(即,能够被转录但不能翻译成蛋白质的核酸序列)。通常,非编码有效负载核酸序列可为期望在细胞中表达的任何非编码多核苷酸。非编码多核苷酸的实例包括但不限于RNA干扰(RNAi)多核苷酸(例如,反义寡核苷酸、shRNA、siRNA、miRNA等)或基因组编辑系统多核苷酸(例如,向导RNA

[gRNA]、单向导RNA[sgRNA]、反式激活CRISPR[tracrRNA]和/或CRISPR RNA[crRNA])。有效负载核酸序列可编码两个或更多个(例如2、3、4、5或更多个)不同的多肽(例如,两个或更多个连接在一起的不同的表位序列)或含有两个或更多个不同的非编码序列核酸序列(例如,两个或更多个不同的RNAi多核苷酸)。有效负载核酸序列可具有多肽编码核酸序列与非编码核酸序列的组合。

[0313] V.A.1盒

[0314] 鉴于本文提供的教导,用于选择一个或多个抗原,克隆和构建“盒”及其插入病毒载体中的方法在本领域的技能范围内。盒可具有一个或多个有效负载核酸序列,例如含有多个有效负载核酸序列的盒各自独立地可操作地连接到单独的启动子和/或使用其他多顺反子系统连接在一起,例如2A核糖体跳跃序列元件(例如E2A、P2A、F2A或T2A序列)或内部核糖体进入位点(IRES)序列元件。在含有超过一个有效负载核酸序列的盒中,每个有效负载核酸序列可含有一个或多个有效负载,例如,每个有效负载核酸序列可编码两个或更多个多肽或者含有两个或更多个非编码核酸序列。盒可具有多肽编码核酸序列与非编码核酸序列的组合。

[0315] 盒可为抗原盒。“抗原盒”意指所选择的抗原或多个抗原与转录抗原并表达转录产物所必需的其他调控元件的组合。抗原盒可包括一个或多个抗原。所选择的一个或多个抗原可指不同的表位序列,例如,盒中的抗原编码核酸序列可编码表位编码核酸序列(或多个表位编码核酸序列),使得表位被转录和表达。

[0316] 有效负载核酸序列或多个有效负载核酸序列可以允许转录的方式可操作地连接到调控组件。此类组件包括可驱动用病毒载体转染的细胞中的抗原表达的常规调控元件。因此,盒还可含有所选择的启动子,其连接于一个或多个有效负载核酸序列并用其他任选的调控元件定位在重组载体的经选择病毒序列内。

[0317] 有用的启动子可为组成型启动子或经调控(例如诱导型)启动子,其将能够控制有待表达的有效负载核酸序列的量,并且通常在编码有效负载核酸序列的情况下肽(例如抗原)的量。例如,合乎需要的启动子是巨细胞病毒立即早期启动子/增强子的启动子[参见例如Boshart等人,Cell,41:521-530(1985)]。另一种合乎需要的启动子包括劳斯肉瘤(Rous sarcoma)病毒LTR启动子/增强子。另一种启动子/增强子序列是鸡细胞质 $\beta$ -肌动蛋白启动子[T.A.Kost等人,Nucl.Acids Res.,11(23):8287(1983)]。其他适合或合乎需要的启动子可由本领域技术人员选择,例如CMV、SV40、EF-1、RSV、PGK、HSA、MCK或EBV启动子序列。

[0318] 盒还可包括对病毒载体序列异源的核酸序列,包括提供转录物的有效多聚腺苷酸化(poly(A)、poly-A或pA)的信号序列和具有功能性剪接供体和受体位点的内含子。本发明的示例性载体中采用的普通poly-A序列是源自乳多泡病毒SV-40的poly-A序列。poly-A序列一般可在有效负载核酸序列之后和在病毒载体序列之前插入盒中。普通内含子序列也可源自SV-40,并且被称为SV-40T内含子序列。盒还可含有此类内含子,位于启动子/增强子序列与有效负载核酸序列之间。这些和其他普通载体元件的选择是常规的[参见例如Sambrook等人,“Molecular Cloning.A Laboratory Manual.”,第2版,Cold Spring Harbor Laboratory,New York(1989)和其中引用的参考文献]并且许多此类序列可从商业和工业来源以及Genbank获得。

[0319] 盒可具有一个或多个有效负载核酸序列。例如,给定盒可包括1-10、1-20、1-30、

10-20、15-25、15-20、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个有效负载核酸序列。有效负载核酸序列可直接彼此连接。有效负载核酸序列也可利用接头彼此连接。

[0320] 盒可具有一个或多个编码多肽的有效负载核酸序列。例如,给定盒可包括1-10、1-20、1-30、10-20、15-25、15-20、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个编码多肽的有效负载核酸序列。盒可具有一个或多个有效负载核酸序列,其中每个有效负载核酸序列编码不同多肽。盒可具有一个或多个有效负载核酸序列,其中每个有效负载核酸序列编码一个或多个多肽。盒可具有一个或多个有效负载核酸序列,其中一个或多个有效负载核酸序列编码一个或多个多肽。由有效负载核酸序列编码的多肽可相对于彼此处于任何定向,包括N至C或C至N。

[0321] 抗原盒可具有一个或多个抗原。例如,给定盒可包括1-10、1-20、1-30、10-20、15-25、15-20、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个抗原。抗原可直接彼此连接。抗原也可利用接头彼此连接。抗原相对于彼此可处于任何方向,包括N至C或C至N。

[0322] 如上陈述,盒可定位于病毒载体中的任何经选择缺失的位点中,例如E1基因区缺失或E3基因区缺失的位点,以及可选择的其他位点。

[0323] 盒可使用下式描述以描述每个元件的有序序列,从5'至3':

[0324]  $(P_a - (L5_b - N_c - L3_d)_X)_Z - (P2_h - (G5_e - U_f)_Y)_W - G3_g$

[0325] 其中P和P2包含启动子核酸序列,N包含不同表位编码核酸序列,L5包含5'接头序列,L3包含3'接头序列,G5包含编码氨基酸接头的核酸序列,G3包含编码氨基酸接头的至少一个核酸序列中的一者,U包含MHC II类抗原编码核酸序列,其中对于每个X,相应Nc是表位编码核酸序列,其中对于每个Y,相应Uf是抗原编码核酸序列。所述组合物和有序序列可进一步通过选择存在元件的数目来定义,例如其中a=0或1,其中b=0或1,其中c=1,其中d=0或1,其中e=0或1,其中f=1,其中g=0或1,其中h=0或1,X=1至400,Y=0、1、2、3、4或5,Z=1至400,并且W=0、1、2、3、4或5。

[0326] 在一个实例中,存在的元件包括其中a=0,b=1,d=1,e=1,g=1,h=0,X=10,Y=2,Z=1,和W=1,其描述其中无其他启动子存在(即仅存在由RNA甲病毒骨架提供的启动子核酸序列),存在20个MHCI类表位,每个N存在5'接头,每个N存在3'接头,存在2个MHC II类表位,存在连接两个MHC II类表位的接头,存在将两个MHC II类表位的5'端连接到最终MHC I类表位的3'接头的接头,并且存在将两个MHC II类表位的3'端连接到RNA甲病毒骨架的接头。将盒的3'端连接到RNA甲病毒骨架的实例包括直接连接到由RNA甲病毒骨架提供的3'UTR元件(例如3'19-ntCSE)。将盒的5'端连接到RNA甲病毒骨架的实例包括直接连接到26S启动子序列、甲病毒5'UTR、51-nt CSE或24-nt CSE。

[0327] 其他实例包括:其中a=1,描述其中存在除RNA甲病毒骨架所提供的启动子核酸序列以外的启动子;其中a=1并且Z大于1,其中存在除RNA甲病毒骨架所提供的启动子核酸序列以外的多个启动子,其各自驱动1个或多个不同MHC I类表位编码核酸序列的表达;其中h=1,描述其中存在单独启动子以驱动MHC II类抗原编码核酸序列的表达;以及其中g=0,描述MHC II类抗原编码核酸序列(如果存在)直接连接到RNA甲病毒骨架。

[0328] 其他实例包括其中所存在的每个MHC I类表位可具有5'接头、3'接头,两者都不具

有,或具有两者。在其中同一盒中存在超过一种MHC I类表位的实例中,一些MHC I类表位可具有5'接头和3'接头两者,而其他MHC I类表位可具有5'接头、3'接头或两者均不具有。在其中同一盒中存在超过一种MHC I类表位的其他实例中,一些MHC I类表位可具有5'接头或3'接头,而其他MHC I类表位可具有5'接头、3'接头或两者均不具有。

[0329] 在其中同一盒中存在超过一种MHC II类表位的实例中,一些MHC II类表位可具有5'接头和3'接头两者,而其他MHC II类表位可具有5'接头、3'接头或两者均不具有。在其中同一盒中存在超过一种MHC II类表位的其他实例中,一些MHC II类表位可具有5'接头或3'接头,而其他MHC II类表位可具有5'接头、3'接头或两者均不具有。

[0330] 启动子核酸序列P和/或P2可与RNA甲病毒骨架所提供的启动子核酸序列相同。例如,由RNA甲病毒骨架提供的启动子序列Pn和P2可各自包含26S次基因组启动子。启动子核酸序列P和/或P2可不同于RNA甲病毒骨架所提供的启动子核酸序列,以及可彼此不同。

[0331] 5'接头L5可为原生序列或非天然序列。非天然序列包括但不限于AAY、RR和DPP。3'接头L3也可可为原生序列或非天然序列。另外,L5和L3可两者均为原生序列,两者均为非天然序列,或者一者可为原生的并且另一者可为非天然的。对于每个X,氨基酸接头可为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或更多个氨基酸长。对于每个X,氨基酸接头也可为至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24、至少25、至少26、至少27、至少28、至少29、或至少30个氨基酸长。

[0332] 对于每个Y,氨基酸接头G5可为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或更多个氨基酸长。对于每个Y,氨基酸接头也可为至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24、至少25、至少26、至少27、至少28、至少29、或至少30个氨基酸长。

[0333] 氨基酸接头G3可为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100或更多个氨基酸长。G3也可为至少3、至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24、至少25、至少26、至少27、至少28、至少29、或至少30个氨基酸长。

[0334] 对于每个X,每个N可编码7-15个氨基酸长的MHC I类表位。对于每个X,每个N也可编码5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30

个氨基酸长的MHC I类表位。对于每个X,每个N也可编码至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24、至少25、至少26、至少27、至少28、至少29或至少30个氨基酸长的MHC I类表位。

[0335] 编码有效负载核酸序列的盒可为700个核苷酸或更少。编码有效负载核酸序列的盒可为700个核苷酸或更少,并且编码2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒可为700个核苷酸或更少,并且编码至少2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒可为700个核苷酸或更少,并且编码3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒可为700个核苷酸或更少,并且编码至少3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒可为700个核苷酸或更少,并且包括1-10、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个抗原。

[0336] 编码有效负载核酸序列的盒的长度可在375-700个核苷酸之间。编码有效负载核酸序列的盒的长度可在375-700个核苷酸之间,并且编码2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒长度可在375-700个核苷酸之间,并且编码至少2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可在375-700个核苷酸之间,并且编码3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度在375-700个核苷酸之间,并且编码至少3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒长度可在375-700个核苷酸之间,并且包括1-10、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个抗原。

[0337] 编码有效负载核酸序列的盒的长度可为600、500、400、300、200或100个核苷酸或更少。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为600、500、400、300、200或100个核苷酸或更少,并且编码2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为600、500、400、300、200或100个核苷酸或更少,并且编码至少2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为600、500、400、300、200或100个核苷酸或更少,并且编码3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为600、500、400、300、200或100个核苷酸或更少,并且编码至少3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒长度可为600、500、400、300、200或100个核苷酸或更少,并且包括1-10、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个抗原。

[0338] 编码有效负载核酸序列的盒的长度可为375-600个、375-500个、或375-400个核苷酸。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为375-600个、375-500个、或375-400个核苷酸,并且编码2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为375-600个、375-500个、或375-400个核苷酸,并且编码至少2个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为375-600个、375-500个、或375-400个核苷酸,并且编码3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为375-600个、375-500个、或375-400个核苷酸,并且编码至少3个不同的表位编码核酸序列。编码有效负载核酸序列的盒的长度可为375-600个、375-500个、或375-400个核苷酸,并且包括1-10、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个抗原。

[0339] V.A.2 TET启动子系统

[0340] 本文还公开了一种病毒载体,其包含具有可操作地连接到可调控启动子的至少一个有效负载序列的盒,所述可调控启动子是TET启动子系统,例如TET-On系统或TET-Off系

统。不希望受理论束缚, TET启动子系统可用于在病毒产生期间最小化盒中编码的有效负载核酸(例如疫苗盒中编码的抗原)的转录。TET启动子系统可包括四环素(TET)阻遏蛋白(TET<sub>r</sub>)控制的启动子。因此, 本文还公开了一种病毒载体, 其包含具有可操作地连接到四环素(TET)阻遏蛋白(TET<sub>r</sub>)控制的启动子的至少一个有效负载序列的盒。TET<sub>r</sub>序列(tTS)可包括以SEQ ID NO:63所示和/或由以SEQ ID NO:62所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。TET<sub>r</sub>控制的启动子可包括19bpTET操纵子(TET<sub>o</sub>)序列TCCCTATCAGTGATAGAGA(SEQ ID NO:60)。TET<sub>r</sub>控制的启动子可包括2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列。在TET<sub>r</sub>控制的启动子中有2个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列, 可将TET<sub>o</sub>序列连接在一起。在TET<sub>r</sub>控制的启动子中有2个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列, 可将TET<sub>o</sub>序列直接连接在一起。在TET<sub>r</sub>控制的启动子中有2个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列, 可将TET<sub>o</sub>序列利用接头序列连接在一起, 例如具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个核苷酸的接头序列。在一个实例中, 接头序列具有以SEQ ID NO:61所示的接头核苷酸序列。通常, TET<sub>r</sub>控制的启动子可使用所需的任何启动子序列, 例如SV40、EF-1、RSV、PGK、HSA、MCK或EBV启动子序列。TET<sub>r</sub>控制的启动子可使用CMV启动子序列。TET<sub>r</sub>控制的启动子可使用最小CMV启动子序列。TET<sub>o</sub>序列可在启动子序列区的上游(5'), 其中RNA聚合酶结合。在说明性实例中, 7个TET<sub>o</sub>序列在启动子序列的上游(5')。可操作地连接到至少一个有效负载核酸序列并且在启动子序列区上游具有TET<sub>o</sub>序列的TET<sub>r</sub>控制的启动子可具有以下式描述的有序序列, 从5'至3':

[0341]  $(T-L_Y)_X-P-N$

[0342] 其中N是有效负载核酸序列, P是可操作地连接到有效负载核酸序列的启动子序列的RNA聚合酶结合序列, T是包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列的TET<sub>o</sub>核酸序列, L是接头序列, 其中对于每个X, Y=0或1, 并且其中X=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一个说明性实例中, X=7并且对于每个X的Y=1描述了其中7个TET<sub>o</sub>序列在启动子序列的上游(5')并且每个TET<sub>o</sub>序列由接头隔开。

[0343] TET<sub>o</sub>序列可在其中RNA聚合酶结合的启动子序列区的下游(3')。在另一个说明性实例中, 2个TET<sub>o</sub>序列在启动子序列的下游(3')。可操作地连接到至少一个有效负载核酸序列并且在启动子序列区下游具有TET<sub>o</sub>序列的TET<sub>r</sub>控制的启动子可具有以下式描述的有序序列, 从5'至3':

[0344]  $P-(T-L_Y)_X-N$

[0345] 其中N是有效负载核酸序列, P是可操作地连接到有效负载核酸序列的启动子序列的RNA聚合酶结合序列, T是包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列的TET<sub>o</sub>核酸序列, L是接头序列, 其中对于每个X, Y=0或1, 并且其中X=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在说明性实例中, X=2并且对于每个X的Y=1描述了其中2个TET<sub>o</sub>序列在启动子序列的下游(3')并且每个TET<sub>o</sub>序列由接头隔开。

[0346] 具有TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体的病毒产生可使用被工程化以表达TET<sub>r</sub>序列(tTS)的任何病毒生产细胞系, 例如被工程化以表达tTS的293细胞系或其衍生物(例如293F细胞系)。在表达tTS的细胞中具有TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体的病毒产生可改善病毒产生。在表达tTS的细胞中具有TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体的病毒产生可提高病毒感染性, 定义为每个感染单位(IU)的病毒颗粒(VP)。在表达tTS的细胞中具有TET<sub>r</sub>控制的启动子的载体的病毒产生可提高病毒产量和/或病毒感染性, 相对于在非tTS表达细胞中的产生, 提高至少1.5

倍、至少2倍、至少2.5倍、至少3倍、至少3.5倍、至少4倍、至少4.5倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。在表达tTS的细胞中具有TETr控制的启动子的载体的病毒产生可提高病毒产量和/或病毒感染性,相对于在非tTS表达细胞中的产生,提高至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少35倍、至少40倍、至少45倍、至少50倍、至少60倍、至少70倍、至少80倍、至少90倍或至少100倍。在表达tTS的细胞中具有TETr控制的启动子的载体的病毒产生可提高病毒产量和/或病毒感染性,相对于不具有TETr控制的启动子的载体的产生,提高至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少3倍、至少3.5倍、至少4倍、至少4.5倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。在表达tTS的细胞中具有TETr控制的启动子的载体的病毒产生可提高病毒产量和/或病毒感染性,相对于不具有TETr控制的启动子的载体的产生,提高至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少35倍、至少40倍、至少45倍、至少50倍、至少60倍、至少70倍、至少80倍、至少90倍或至少100倍。

#### [0347] V.B. 免疫检查点

[0348] 本文所描述的载体,例如本文所描述的C68载体或本文所描述的甲病毒载体,可包含编码至少一个抗原的核酸并且相同或单独的载体可包含编码至少一个结合和阻断免疫检查点分子的活性的免疫调节因子(例如抗体如scFv)的核酸。载体可包含盒和一个或多个编码检查点抑制剂的核酸分子。

[0349] 可靶向以进行阻断或抑制的说明性免疫检查点分子包括(但不限于)CTLA-4、4-1BB(CD137)、4-1BBL(CD137L)、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、TIM3、B7H3、B7H4、VISTA、KIR、2B4(属于分子的CD2家族,并且在所有NK、 $\gamma\delta$ 和记忆CD8 $^{+}$ ( $\alpha\beta$ ) T细胞上表达)、CD160(也称为BY55)和CGEN-15049。免疫检查点抑制剂包括结合于以下中的一者或多者以及阻断或抑制以下中的一者或多者的活性的抗体或其抗原结合片段或其他结合蛋白:CTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、TIM3、B7H3、B7H4、VISTA、KIR、2B4、CD160和CGEN-15049。说明性免疫检查点抑制剂包括曲美单抗(CTLA-4阻断抗体)、抗OX40、PD-L1单克隆抗体(抗B7-H1;MEDI4736)、伊匹单抗、MK-3475(PD-1阻断剂)、纳武单抗(Nivolumab)(抗PD1抗体)、CT-011(抗PD1抗体)、BY55单克隆抗体、AMP224(抗PDL1抗体)、BMS-936559(抗PDL1抗体)、MPLDL3280A(抗PDL1抗体)、MSB0010718C(抗PDL1抗体)和易沃伊(Yervoy)/伊匹单抗(抗CTLA-4检查点抑制剂)。抗体编码序列可使用本领域中的普通技能被工程化到例如C68的载体中。示例性方法描述于Fang等人,Stable antibody expression at therapeutic levels using the 2A peptide.NatBiotechnol.2005年5月;23(5):584-90.电子版2005年4月17日中;其出于所有目的通过引用并入本文。

#### [0350] V.C. 疫苗设计和制造的额外考虑

##### [0351] V.C.1. 确定覆盖所有肿瘤亚克隆的肽集合

[0352] 躯干肽,意指由所有或大部分肿瘤亚克隆呈递的那些肽,可优先包括于疫苗中。<sup>53</sup> 任选地,如果不存在经预测以高概率呈递并具有免疫原性的躯干肽,或如果经预测以高概率呈递并具有免疫原性的躯干肽的数目足够小以致额外非躯干肽可包括于疫苗中,则其他肽可通过估计肿瘤亚克隆的数目和身分并且选择肽以使疫苗所覆盖的肿瘤亚克隆的数目达到最大而进行优先排序<sup>54</sup>。

##### [0353] V.C.2. 抗原优先排序

[0354] 在应用所有上述抗原过滤器之后,可能仍有比疫苗技术可支撑的更多的候选抗原

可用于疫苗包涵。另外,可保留关于抗原分析的各个方面的不确定性,并且候选疫苗抗原的不同特性之间可存在折衷。因此,可考虑整合式多维模型代替选择过程的每个步骤中的预定过滤器,将候选抗原置于具有至少以下轴的空间中并使用整合方法优化选择。

[0355] 1. 自身免疫或耐受性的风险(生殖系的风险)(自身免疫的风险较低通常是优选的)

[0356] 2. 测序伪影的概率(伪影的概率较低通常是优选的)

[0357] 3. 免疫原性的概率(免疫原性的概率较高通常是优选的)

[0358] 4. 呈递的概率(呈递的概率较高通常是优选的)

[0359] 5. 基因表达(较高表达通常是优选的)

[0360] 6. HLA基因的覆盖率(参与抗原集合呈递的HLA分子数目较大可降低肿瘤经由HLA分子的下调或突变逃避免疫攻击的概率)

[0361] 7. HLA类别的覆盖率(覆盖HLA-I和HLA-II两者可增加治疗反应的概率并降低肿瘤逃避的概率)

[0362] 另外,任选地,如果预测抗原由在患者肿瘤或受感染细胞的全部或一部分中损失或失活的HLA等位基因呈递,则可从疫苗接种去除所述抗原的优先排序(例如排除所述抗原)。HLA等位基因损失可通过体细胞突变、杂合性缺失或基因座的同型接合缺失发生。用于检测HLA等位基因体细胞突变的方法是本领域中所熟知,例如(Shukla等人,2015)。用于检测体细胞LOH和同型接合缺失(包括HLA基因座)的方法同样被充分描述。(Carter等人,2012;McGranahan等人,2017;Van Loo等人,2010)。如果质谱数据表明所预测的抗原未被预测的HLA等位基因呈递,则还可去除抗原的优先排序。

[0363] V.D. 甲病毒

[0364] V.D.1. 甲病毒生物学

[0365] 甲病毒是披膜病毒科的成员,并且是正义单链RNA病毒。成员通常分类为旧世界,例如辛德毕斯、罗斯河、马雅罗、基孔肯尼亚和塞姆利基森林病毒,或新世界,例如东部马脑炎、奥拉、摩根堡、或委内瑞拉马脑炎及其衍生病毒株TC-83(Strauss Microbial Review 1994)。天然甲病毒基因组通常约12kb长,其中前三分之二含有编码非结构蛋白(nsP)的基因,所述非结构蛋白形成用于病毒基因组自我复制的RNA复制复合物,并且最后三分之一含有编码用于病毒粒子产生的结构蛋白的亚基因组表达盒(Frolov RNA2001)。

[0366] 甲病毒的模型生命周期涉及数个不同步骤(Strauss Microbial Review 1994, Jose Future Microbiol 2009)。在病毒附着于宿主细胞后,病毒粒子与内饮区室内的膜融合,导致基因组RNA最终释放至细胞溶质中。以正链定向并包含5'甲基鸟苷酸帽和3'polyA尾部的基因组RNA被翻译以产生形成复制复合物的非结构蛋白nsP1-4。在感染早期,正链然后由复合物复制成负链模板。在当前模型中,复制复合物随着感染进展被进一步加工,使得所得经加工的复合物转换成将负链转录成全长正链基因组RNA以及含有结构基因的26S亚基因组正链RNA。甲病毒的数个保守序列元件(CSE)已鉴定为可能在各种RNA复制步骤中起作用,包括:负链模板的正链RNA复制中的5'UTR的互补序列、基因组模板的负链合成复制中的51-nt CSE、负链的亚基因组RNA转录中的在nsP与26S RNA之间的接合区中的24-nt CSE、和正链模板的负链合成中的3'19-nt CSE。

[0367] 在各种RNA物种复制后,病毒颗粒然后通常在病毒的天然生命周期中组装。26S

RNA被翻译并且所得蛋白质经进一步加工以产生结构蛋白,其包括衣壳蛋白、糖蛋白E1和E2以及两个小多肽E3和6K(Strauss 1994)。发生病毒RNA的衣壳化,衣壳蛋白通常仅特异性针对所包装的基因组RNA,然后病毒粒子组装并在膜表面出芽。

[0368] V.D.2.作为递送载体的甲病毒

[0369] 甲病毒(包括甲病毒序列、特征和其他元件)可用于产生基于甲病毒的递送载体(也称为甲病毒载体、甲病毒病毒载体、甲病毒疫苗载体、自我复制RNA(srRNA)载体或自扩增RNA(samRNA)载体)。甲病毒先前已被工程化以用作表达载体系统(Pushko 1997, Rheme 2004)。甲病毒提供数种优势,特别是在可能需要异源抗原表达的疫苗环境中。由于在宿主细胞溶质中自我复制的能力,因此甲病毒载体一般能够在细胞内产生高拷贝数的表达盒,从而导致高水平的异源抗原产生。另外,载体一般是瞬时的,从而使得生物安全性得以提高以及减少对载体的免疫耐受性的诱导。与其他标准病毒载体(例如人类腺病毒)相比,公众通常还缺乏对甲病毒载体预先存在的免疫性。基于甲病毒的载体也通常导致对受感染细胞的细胞毒性反应。在一定程度上,细胞毒性在疫苗环境中对于适当引发对所表达的异源抗原的免疫应答可为重要的。然而,所需细胞毒性的程度可为平衡作用,并且因此已开发数种减毒甲病毒,包括VEE的TC-83病毒株。因此,本文所述的抗原表达载体的实例可利用甲病毒骨架,其允许高水平的抗原表达、引发对抗原的稳固免疫应答、不引发对载体本身的免疫应答,并且可以安全方式使用。此外,抗原表达盒可经设计以经由优化载体使用的甲病毒序列(包括但不限于源自VEE或其减毒衍生物TC-83的序列)而引发不同水平的免疫应答。

[0370] 已使用甲病毒序列对数种表达载体设计策略进行工程化(Pushko1997)。在一个策略中,甲病毒载体设计包括在结构蛋白基因下游插入26S启动子序列元件的第二拷贝,接着是异源基因(Frolov 1993)。因此,除天然非结构蛋白和结构蛋白之外,还产生表达异源蛋白的额外亚基因组RNA。在这种系统中,存在用于产生感染性病毒粒子的所有元件,并且因此可能发生在非感染细胞中表达载体的反复轮感染。

[0371] 另一种表达载体设计利用辅助病毒系统(Pushko 1997)。在这种策略中,结构蛋白由异源基因代替。因此,在由仍完整的非结构基因介导病毒RNA的自我复制之后,26S亚基因组RNA提供异源蛋白的表达。传统上,表达结构蛋白的额外载体然后例如通过细胞系的共转染以反式供应,以产生感染性病毒。系统详细描述于USPN 8,093,021中,其出于所有目的通过引用整体并入本文。辅助载体系统提供限制形成感染性颗粒的可能性的益处,因此提高生物安全性。另外,辅助载体系统减小总载体长度,潜在提高复制和表达效率。因此,本文所述的抗原表达载体的实例可利用结构蛋白由盒代替的甲病毒骨架,所得载体降低生物安全问题,同时由于整体表达载体尺寸减小而促进有效表达。

[0372] V.D.3.体外甲病毒产生

[0373] 甲病毒递送载体一般是正义RNA多核苷酸。本领域中熟知的用于产生RNA的便利技术是体外转录IVT。在这种技术中,首先通过本领域技术人员熟知的技术产生所需载体的DNA模板,包括标准分子生物学技术,例如克隆、限制性消化、连接、基因合成和聚合酶链反应(PCR)。DNA模板在期望转录成RNA的序列的5'端处含有RNA聚合酶启动子。启动子包括(但不限于)噬菌体聚合酶启动子,例如T3、T7或SP6。DNA模板然后与适当RNA聚合酶、缓冲剂和核苷酸(NTP)一起温育。所得RNA多核苷酸可任选地经进一步修饰,包括(但不限于)添加5帽结构,例如7-甲基鸟苷或相关结构,并且任选地修饰3'端以包括多聚腺苷酸(polyA)尾部。

RNA可然后使用本领域中熟知的技术纯化,例如苯酚-氯仿提取。

**[0374] V.D.4.经由脂质纳米粒子递送**

**[0375]** 在疫苗载体设计中考虑的一个重要方面是针对载体本身的免疫性(Riley 2017)。这可呈对载体本身(例如某些人类腺病毒系统)预先存在的免疫性形式,或呈在疫苗施用后对载体产生免疫性的形式。如果进行相同疫苗的多次施用(例如分开的初免和增强剂量),或者如果使用相同疫苗载体系统递送不同盒,则后者是重要的考虑因素。

**[0376]** 在甲病毒载体的情况下,标准递送方法是先前论述的辅助病毒系统,其以反式提供衣壳、E1和E2蛋白质以产生感染性病毒颗粒。然而,重要的是注意E1和E2蛋白质通常是中和抗体的主要靶标(Strauss 1994)。因此,如果中和抗体靶向感染性粒子,则使用甲病毒载体递送目标抗原至靶细胞的功效可能会降低。

**[0377]** 病毒颗粒介导的基因递送的替代方案是使用纳米材料递送表达载体(Riley 2017)。重要的是,纳米材料媒介物可由非免疫原性材料制成并且一般避免引发对递送载体本身的免疫性。这些材料可包括(但不限于)脂质、无机纳米材料和其他聚合材料。脂质可为阳离子、阴离子或中性的。材料可为合成或天然来源的,并且在一些情况下是可生物降解的。脂质可包括脂肪、胆固醇、磷脂、脂质缀合物,包括(但不限于)聚乙二醇(PEG)缀合物(聚乙二醇化脂质)、蜡、油、甘油酯和脂溶性维生素。

**[0378]** 脂质纳米粒子(LNP)是有吸引力的递送系统,因为脂质的两亲性使得能够形成膜和囊泡状结构(Riley 2017)。一般来说,这些囊泡通过吸收至靶细胞的膜中并且将核酸释放至细胞溶质中来递送表达载体。另外,LNP可经进一步修饰或官能化以有助于靶向特定细胞类型。LNP设计中的另一个考虑因素是靶向效率与细胞毒性之间的平衡。脂质组合物一般包括阳离子、中性、阴离子和两性脂质的限定混合物。在一些情况下,包括特定脂质以防止LNP聚集、防止脂质氧化、或提供有助于额外部分附着的功能性化学基团。脂质组合物可影响整体LNP大小和稳定性。在一个实例中,脂质组合物包含二亚油基甲基-4-二甲氨基丁酸酯(MC3)和MC3样分子。MC3和MC3样脂质组合物可经配制以包括一种或多种其他脂质,例如PEG或PEG缀合的脂质、固醇或中性脂质。

**[0379]** 直接暴露于血清的核酸载体(例如表达载体)可具有数种不期望的结果,包括核酸由血清核酸酶降解或游离核酸对免疫系统的脱靶刺激。因此,包封甲病毒载体可用于避免降解,同时还避免潜在的脱靶影响。在某些实例中,甲病毒载体完全包封在递送媒介物内,例如在LNP的含水内部。甲病毒载体包封在LNP内可通过本领域技术人员熟知的技术来进行,例如在微流体液滴生成装置上进行的微流体混合和液滴生成。此类装置包括(但不限于)标准T形接头装置或流动聚焦装置。在一个实例中,所需脂质制剂(例如含有MC3或MC3样的组合物)与甲病毒递送载体和其他所需药剂并行提供至液滴生成装置,使得递送载体和所需药剂完全包封在基于MC3或MC3样的LNP内部。在一个实例中,液滴生成装置可控制所产生的LNP的尺寸范围和尺寸分布。例如,LNP的尺寸可在1至1000纳米直径范围内,例如1、10、50、100、500或1000纳米。在液滴生成后,包封表达载体的递送媒介物可经进一步处理或修饰以使其准备用于施用。

**[0380] V.E.黑猩猩腺病毒(ChAd)**

**[0381] V.E.1.用黑猩猩腺病毒递送病毒**

**[0382]** 用于递送一种或多种抗原(例如经由编码一种或多种抗原或新抗原的盒)的疫苗

组合物可通过提供黑猩猩来源的腺病毒核酸序列、多种新颖载体和表达黑猩猩腺病毒基因的细胞系来产生。黑猩猩C68腺病毒(在本文中也称为ChAdV68)的核酸序列可用于抗原递送的疫苗组合物中(参见SEQ ID NO:1)。源自C68腺病毒的载体的使用进一步详细描述于USPN 6,083,716中,其出于所有目的通过引用整体并入本文。

[0383] 在另一方面,本文提供了包含黑猩猩腺病毒的DNA序列的重组腺病毒(例如C68)和以操作方式连接到引导其表达的调控序列的盒。重组病毒能够感染哺乳动物细胞、优选人类细胞,并且能够在细胞中表达盒有效负载。在这种载体中,原生黑猩猩E1基因和/或E3基因和/或E4基因可缺失。盒可插入至这些基因缺失位点中的任一者中。盒可包括抗原,针对其引发的免疫应答是所需的。

[0384] 在另一方面,本文提供了一种经黑猩猩腺病毒(例如C68)感染的哺乳动物细胞。

[0385] 在另一方面,提供了一种新颖的哺乳动物细胞系,其表达黑猩猩腺病毒基因(例如来自C68)或其功能片段。

[0386] 在另一方面,本文提供了一种用于将盒递送至哺乳动物细胞中的方法,其包括以下步骤:向细胞中引入有效量的已被工程化以表达盒的黑猩猩腺病毒,例如C68。

[0387] 另一方面提供了一种用于在哺乳动物宿主中引发免疫应答以治疗癌症的方法。所述方法可包括向宿主施用有效量的重组黑猩猩腺病毒,例如C68的步骤,所述重组黑猩猩腺病毒包含盒,所述盒编码免疫应答靶向的来自肿瘤的一个或多个抗原。

[0388] 另一方面提供了一种用于在哺乳动物宿主中引发免疫应答以治疗或预防受试者的疾病、例如感染性疾病的方法。所述方法可包括向所述宿主施用有效量的重组黑猩猩腺病毒、例如C68的步骤,所述重组黑猩猩腺病毒包含编码一种或多种抗原的抗原盒,所述抗原例如来自免疫应答靶向的感染性疾病。

[0389] 还公开了一种非猿猴哺乳动物细胞,其表达获自SEQ ID NO:1序列的黑猩猩腺病毒基因。所述基因可选自由以下组成的组:SEQ ID NO:1的腺病毒E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5。

[0390] 还公开了一种包含黑猩猩腺病毒DNA序列的核酸分子,所述黑猩猩腺病毒DNA序列包含获自SEQ ID NO:1序列的基因。所述基因可选自由以下组成的组:SEQ ID NO:1的所述黑猩猩腺病毒E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因。在一些方面,核酸分子包含SEQ ID NO:1。在一些方面,核酸分子包含SEQ ID NO:1序列,缺少选自自由以下组成的组的至少一个基因:SEQ ID NO:1的E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因。

[0391] 还公开了一种载体,其包含获自SEQ ID NO:1的黑猩猩腺病毒DNA序列和可操作地连接到一个或多个调控序列的盒,所述一个或多个调控序列引导盒在异源宿主细胞中的表达,任选地其中所述黑猩猩腺病毒DNA序列包含至少用于复制和病毒粒子衣壳化所必需的顺式元件,所述顺式元件侧接盒和调控序列。在一些方面,黑猩猩腺病毒DNA序列包含选自自由以下组成的组的基因:SEQ ID NO:1的E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因序列。在一些方面,载体可缺乏E1A和/或E1B基因。

[0392] 本文还公开了经本文公开的载体转染的宿主细胞,所述载体例如被工程化以表达盒的C68载体。本文还公开了经由将本文公开的载体引入细胞中而表达其中引入的所选择基因的人类细胞。

[0393] 本文还公开了一种腺病毒载体,其包含:部分缺失的E4基因,其包括缺失或部分缺

失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区,和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区。所述部分缺失的E4可包含以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,916至35,642的E4缺失,并且其中所述载体包含以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸的2至36,518。所述部分缺失的E4可包含以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至34,942的至少部分缺失、以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,952至35,305的至少部分缺失和以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,302至35,642的至少部分缺失的E4缺失,并且其中所述载体包含以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸2至36,518。所述部分缺失的E4可包含以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,980至36,516的E4缺失,并且其中所述载体包含以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸2至36,518。所述部分缺失的E4可包含以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,979至35,642的E4缺失,并且其中所述载体包含以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸2至36,518。所述部分缺失的E4可包含以SEQ ID NO:1所示的序列的E4orf2至少部分缺失、完全缺失E4orf3和E4orf4至少部分缺失的E4缺失。所述部分缺失的E4可包含E4orf2至少部分缺失、E4orf3至少部分缺失和E4orf4至少部分缺失的E4缺失。所述部分缺失的E4可包含E4orf1至少部分缺失、完全缺失E4orf2和E4orf3至少部分缺失的E4缺失。所述部分缺失的E4可包含E4orf2至少部分缺失和E4orf3至少部分缺失的E4缺失。所述部分缺失的E4可包含E4orf1的起始位点至E4orf5的起始位点的E4缺失。所述部分缺失的E4可为E4orf1的起始位点附近的E4缺失。所述部分缺失的E4可为E4orf2的起始位点附近的E4缺失。所述部分缺失的E4可为E4orf3的起始位点附近的E4缺失。所述部分缺失的E4可为E4orf4的起始位点附近的E4缺失。所述E4缺失可为至少50、至少100、至少200、至少300、至少400、至少500、至少600、至少700、至少800、至少900、至少1000、至少1100、至少1200、至少1300、至少1400、至少1500、至少1600、至少1700、至少1800、至少1900或至少2000个核苷酸。所述E4缺失可为至少700个核苷酸。所述E4缺失可为至少1500个核苷酸。所述E4缺失可为50个或更少、100个或更少、200个或更少、300个或更少、400个或更少、500个或更少、600个或更少、700个或更少、800个或更少、900个或更少、1000个或更少、1100个或更少、1200个或更少、1300个或更少、1400个或更少、1500个或更少、1600个或更少、1700个或更少、1800个或更少、1900个或更少或2000个或更少核苷酸。所述E4缺失可为750个核苷酸或更少。所述E4缺失可为至少1550个核苷酸或更少。

[0394] 所述部分缺失的E4基因可为以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,其缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,916至35,642。所述部分缺失的E4基因可为以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,其缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,916至34,942、核苷酸34,952至35,305,和以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,302至35,642。所述部分缺失的E4基因可为以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,980至36,516。所述部分缺失的E4基因可为以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,979至35,642。具有部分缺失的E4基因的腺病毒载体可具有盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。具有部分缺失的E4基因的腺病毒载体可具有以SEQ ID NO:1所示的ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因

中的至少一者。具有部分缺失的E4基因的腺病毒载体可具有以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失。具有部分缺失的E4基因的腺病毒载体可具有以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是核苷酸35,643至36,518的5'。具有部分缺失的E4基因的腺病毒载体可具有以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是核苷酸2至34,916的3',所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失。具有部分缺失的E4基因的腺病毒载体可具有以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是核苷酸2至34,916的3',所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失,并且具有以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是核苷酸35,643至36,518的5'。

[0395] 所述部分缺失的E4基因可为以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,其缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的至少核苷酸34,916至35,642、以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是核苷酸2至34,916的3',所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失,并且具有以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是核苷酸35,643至36,518的5'。

[0396] 具有部分缺失的E4基因的腺病毒载体可具有

[0397] 本文还公开了一种用于将盒递送至哺乳动物细胞的方法,所述方法包括向所述细胞中引入有效量的本文公开的载体,例如被工程化以表达盒的C68载体。

[0398] 本文还公开了一种用于产生的方法,所述方法包括将本文公开的载体引入哺乳动物细胞中,在适合条件下培养细胞并产生抗原。

[0399] V.E.2.表达E1的互补细胞系

[0400] 为了产生缺失本文所述的基因中的任一者的重组黑猩猩腺病毒(Ad),缺失基因区的功能如果对于病毒的复制和感染性必不可少,则可通过辅助病毒或细胞系(即互补或包装细胞系)供应至重组病毒。例如,为了产生复制缺陷型黑猩猩腺病毒载体,可使用表达人类或黑猩猩腺病毒的E1基因产物的细胞系;这种细胞系可包括HEK293或其变体。可遵循产生表达黑猩猩E1基因产物的细胞系的方案(USPN 6,083,716的实施例3和4),以产生表达任何所选择的黑猩猩腺病毒基因的细胞系。

[0401] AAV增强测定可用于鉴定表达黑猩猩腺病毒E1的细胞系。这种测定可用于鉴定通过使用例如来自其他物种的其他未表征的腺病毒的E1基因制备的细胞系中的E1功能。所述测定描述于USPN 6,083,716的实施例4B中。

[0402] 所选择的黑猩猩腺病毒基因(例如E1)可在启动子的转录控制下用于在所选择的亲本细胞系中表达。诱导型或组成型启动子可用于此目的。在诱导型启动子中包括可由锌

诱导的绵羊金属硫蛋白启动子,或可由糖皮质激素、特别是地塞米松(dexamethasone)诱导的小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)启动子。其他诱导型启动子,例如通过引用并入本文的国际专利申请W095/13392中所鉴定的那些诱导型启动子,还可用于产生包装细胞系。还可采用控制黑猩猩腺病毒基因表达的组成型启动子。

[0403] 亲本细胞可经选择以产生表达任何所需C68基因的新颖细胞系。此类亲本细胞系可为(但不限于)HeLa[ATCC登录号CCL 2]、A549[ATCC登录号CCL 185]、KB[CCL 17]、Detroit[例如Detroit 510、CCL 72]和WI-38[CCL 75]细胞。其他适合的亲本细胞系可获自其他来源。亲本细胞系可包括CHO、HEK293或其变体、911、HeLa、A549、LP-293、PER.C6或AE1-2a。

[0404] 表达E1的细胞系可用于产生重组黑猩猩腺病毒E1缺失的载体。使用基本上相同的程序构建的表达一种或多种其他黑猩猩腺病毒基因产物的细胞系用于产生缺失编码那些产物的基因的重组黑猩猩腺病毒载体。另外,表达其他人类AdE1基因产物的细胞系还可用于产生黑猩猩重组Ad。

[0405] V.E.3.作为载体的重组病毒颗粒

[0406] 本文公开的组合物可包含病毒载体,其将至少一种抗原递送至细胞。此类载体包含黑猩猩腺病毒DNA序列(例如C68)和可操作地连接到引导盒表达的调控序列的盒。C68载体能够在经感染的哺乳动物细胞中表达盒。C68载体可功能性缺失一个或多个病毒基因。盒包含至少一个在一个或多个调控序列(例如启动子)控制下的抗原。任选的辅助病毒和/或包装细胞系可向黑猩猩病毒载体供应缺失的腺病毒基因的任何必需产物。

[0407] 术语“功能性缺失”意指去除或以其他方式改变(例如通过突变或修饰)足够量的基因区,使得基因区不再能够产生一种或多种基因表达的功能性产物。可导致功能性缺失的突变或修饰包括但不限于无义突变,例如引入提前终止密码子和去除典型和非典型的起始密码子,改变mRNA剪接或其他转录加工的突变,或其组合。如果需要,可去除整个基因区。

[0408] 形成本文公开的载体的核酸序列的修饰,包括序列缺失、插入和其他突变,可使用标准分子生物学技术产生并且在本发明的范围内。

[0409] V.E.4.病毒质粒载体的构建

[0410] 可用于本发明的黑猩猩腺病毒C68载体包括重组缺陷型腺病毒,即在E1a或E1b基因中功能性缺失并且任选地携带其他突变(例如其他基因中的温度敏感性突变或缺失)的黑猩猩腺病毒序列。预期这些黑猩猩序列也可用于形成来自其他腺病毒和/或腺相关病毒序列的杂交载体。由人类腺病毒制备的同源腺病毒载体描述于公开文献中[参见例如上文所引用的Kozarsky I和II,和其中引用的参考文献,美国专利第5,240,846号]。

[0411] 在构建可用于将盒递送至人类(或其他哺乳动物)细胞的有用黑猩猩腺病毒C68载体时,可将一系列腺病毒核酸序列用于载体。包含最小黑猩猩C68腺病毒序列的载体可与辅助病毒结合使用以产生感染性重组病毒颗粒。辅助病毒提供最小黑猩猩腺病毒载体的病毒感染性和繁殖所需的基本基因产物。当在另外的功能性病毒载体中仅产生黑猩猩腺病毒基因的一个或多个所选择的缺失时,可通过在所选择的包装细胞系中繁殖病毒而在病毒载体生产过程中供应缺失的基因产物,所述包装细胞系提供反式缺失的基因功能。

[0412] V.E.5.重组最小腺病毒

[0413] 最小的黑猩猩Ad C68病毒是仅含有复制和病毒粒子衣壳化所必需的腺病毒顺式

元件的病毒颗粒。也就是说,载体含有腺病毒的顺式作用5'和3'反向末端重复(ITR)序列(其充当复制起点)和原生5'包装/增强子结构域(其含有用于包装线性Ad基因组所必需的序列和E1启动子的增强子元件)。参见例如在国际专利申请W096/13597中所描述并通过引用并入本文的用于制备“最小”人类Ad载体的技术。

[0414] V.E.6.其他缺陷型腺病毒

[0415] 重组复制缺陷型腺病毒也可比最小黑猩猩腺病毒序列含有更多。这些其他Ad载体可通过病毒基因区的各个部分的缺失和通过任选地使用辅助病毒和/或包装细胞系形成的感染性病毒颗粒来表征。

[0416] 举例来说,适合的载体可通过使C68腺病毒立即早期基因E1a和延迟早期基因E1b的全部或足够部分缺失来形成,从而消除其正常的生物功能。当在含有提供相应反式基因产物的功能性腺病毒E1a和E1b基因的黑猩猩腺病毒转化的互补细胞系上生长时,复制缺陷型E1缺失病毒能够复制并产生感染性病毒。基于已知腺病毒序列的同源性,预期正如本领域的人类重组E1缺失腺病毒,所得重组黑猩猩腺病毒能够感染许多细胞类型并且可表达抗原,但除非以极高感染倍率感染细胞,否则无法在不携带黑猩猩E1区DNA的大多数细胞中复制。

[0417] 作为另一个实例,C68腺病毒延迟早期基因E3的全部或一部分可从形成重组病毒的一部分的黑猩猩腺病毒序列消除。

[0418] 还可构建具有E4基因缺失的黑猩猩腺病毒C68载体。另一个载体可在延迟早期基因E2a中含有缺失。

[0419] 还可在黑猩猩C68腺病毒基因组的晚期基因L1至L5中的任一者中获得缺失。类似地,中间基因IX和IVa2中的缺失可用于一些目的。可在其他结构性或非结构性腺病毒基因中获得其他缺失。

[0420] 上述缺失可单独使用,即腺病毒序列可仅含有E1缺失。或者,可以任何组合使用有效破坏或降低其生物活性的完整基因或其部分的缺失。例如,在一个示例性载体中,腺病毒C68序列可缺失E1基因和E4基因,或缺失E1、E2a和E3基因,或缺失E1和E3基因,或在缺失或不缺失E3的情况下缺失E1、E2a和E4基因等等。如上文所论述,此类缺失可与其他突变(例如温度敏感性突变)组合使用,以达到所需结果。

[0421] 将包含抗原的盒任选地插入至黑猩猩C68 Ad病毒的任一缺失区中。或者,如果需要,可将盒插入至现有基因区中以破坏所述区的功能。

[0422] V.E.7.辅助病毒

[0423] 取决于用于携带盒的病毒载体的黑猩猩腺病毒基因含量,可使用辅助腺病毒或非复制性病毒片段来提供足够的黑猩猩腺病毒基因序列以产生含有所述盒的感染性重组病毒颗粒。

[0424] 有用的辅助病毒含有所选择的腺病毒基因序列,其不存在于腺病毒载体构建体中和/或不由载体转染的包装细胞系表达。辅助病毒可为复制缺陷型并且除上述序列之外,还含有多种腺病毒基因。辅助病毒可与本文所述的表达E1的细胞系组合使用。

[0425] 对于C68,“辅助”病毒可为通过用SspI剪切C68基因组的C末端形成的片段,其从病毒的左端去除约1300bp。这种经剪切的病毒然后与质粒DNA共转染至表达E1的细胞系中,由此通过与质粒中的C68序列同源重组形成重组病毒。

[0426] 辅助病毒还可形成聚阳离子缀合物,如Wu等人,J.Biol.Chem.,264:16985-16987 (1989);K.J.Fisher和J.M.Wilson,Biochem.J.,299:49 (1994年4月1日)中所述。辅助病毒可任选地含有报告基因。许多此类报告基因是本领域已知的。与腺病毒载体上的盒不同,辅助病毒上报告基因的存在允许独立地监测Ad载体和辅助病毒。这种第二报告基因用于纯化后能够将所得重组病毒与辅助病毒分离。

[0427] V.E.8.病毒颗粒的组装和细胞系的感染

[0428] 将腺病毒的经选择DNA序列、盒和其他载体元件组装于各种中间质粒和穿梭载体中,以及使用质粒和载体制造重组病毒颗粒均可使用常规技术实现。此类技术包括cDNA的常规克隆技术、体外重组技术(例如吉布森组装(Gibson assembly))、腺病毒基因组的重叠寡核苷酸序列的使用、聚合酶链反应和提供所需核酸序列的任何适合的方法。采用标准转染和共转染技术,例如CaP04沉淀技术或脂质体介导的转染方法,例如脂染胺。所采用的其他常规方法包括病毒基因组的同源重组、琼脂覆层中病毒的蚀斑、测量信号产生的方法等。

[0429] 例如,在构建和组装所需含盒的病毒载体之后,可在辅助病毒存在下将载体转染于包装细胞系中。同源重组发生在辅助序列与载体序列之间,其允许载体中的腺病毒-抗原序列被复制并包装至病毒粒子衣壳中,从而产生重组病毒载体粒子。

[0430] 所得重组黑猩猩C68腺病毒可用于将盒转移至所选择的细胞中。在使用包装细胞系中生长的重组病毒的体内实验中,E1缺失的重组黑猩猩腺病毒在将盒转移至非黑猩猩(优选人类)细胞中展现效用。

[0431] V.E.9.重组病毒载体的用途

[0432] 所得含有盒的重组黑猩猩C68腺病毒(通过使腺病毒载体与辅助病毒或腺病毒载体与包装细胞系协同制备,如上文所述)因此提供可在体内或体外将抗原递送至受试者的有效基因转移媒介物。

[0433] 上述重组载体根据基因疗法的公开方法施用于人类。携带盒的黑猩猩病毒载体可施用于患者,优选悬浮于生物相容性溶液或药学上可接受的递送媒介物中。适合的媒介物包括无菌盐水。已知为药学上可接受的载剂并且为本领域技术人员所熟知的其他水性和非水性等渗无菌注射溶液以及水性和非水性无菌悬浮液可用于此目的。

[0434] 黑猩猩腺病毒载体是以足以转导人类细胞并提供足够水平的抗原转移和表达的量施用,从而提供治疗益处而无过度不良效应或具有医学上可接受的生理效应,其可由医药领域的技术人员来确定。常规和药学上可接受的施用途径包括(但不限于)直接递送至肝脏、鼻内、静脉内、肌肉内、皮下、皮内、口服和其他肠胃外施用途径。如果需要,可组合施用途径。

[0435] 病毒载体的剂量将主要取决于以下因素,例如所治疗的疾患、患者的年龄、体重和健康状况,并且因此可在患者当中变化。剂量将经调节以平衡治疗益处与任何副作用,并且此类剂量可根据采用重组载体的治疗应用而变化。可监测抗原表达水平以确定剂量施用频率。

[0436] 重组复制缺陷型腺病毒可以“药学有效量”施用,即在施用途径中有效转染所需细胞并提供所选择的基因的足够表达水平以提供疫苗益处(即一些可测量的保护性免疫水平)的重组腺病毒的量。包含盒的C68载体可与佐剂共同施用。佐剂可与载体分开(例如明矾)或在载体内编码,特别是在佐剂为蛋白质时。佐剂是本领域中所熟知的。

[0437] 常规且药学上可接受的施用途径包括(但不限于)鼻内、肌肉内、气管内、皮下、皮内、经直肠、口服和其他肠胃外施用途径。如果需要,可组合或调整施用途径,取决于免疫原或疾病。例如,在狂犬病预防中,皮下、气管内和鼻内途径是优选的。施用途径主要将取决于所治疗的疾病的性质。

[0438] 可监测对抗原的免疫水平以确定是否需要加强剂。例如,在评估血清中的抗体滴度后,可能需要任选的加强免疫。

[0439] VI. 治疗和制造方法

[0440] 还提供了一种通过向受试者施用一种或多种抗原(例如使用本文公开的方法鉴定的多种抗原)在受试者中诱发肿瘤特异性免疫应答、针对肿瘤接种疫苗、治疗和/或缓解受试者的癌症症状的方法。

[0441] 还提供了一种通过向受试者施用一种或多种抗原(例如使用本文公开的方法鉴定的多种抗原)在受试者中诱发感染性疾病生物体特异性免疫应答、针对感染性疾病生物体接种疫苗、治疗和/或缓解受试者的与感染性疾病生物体相关的感染症状的方法。

[0442] 在一些方面,受试者已诊断患有癌症或处于罹患癌症的风险下。受试者可为人类、狗、猫、马或需要肿瘤特异性免疫应答的任何动物。肿瘤可为任何实体肿瘤,例如乳腺肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺肿瘤、肺肿瘤、肾脏肿瘤、胃肿瘤、结肠肿瘤、睾丸肿瘤、头颈部肿瘤、胰腺肿瘤、脑肿瘤、黑色素瘤和其他组织器官肿瘤,以及血液肿瘤,例如淋巴瘤和白血病,包括急性粒细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、T细胞淋巴细胞白血病和B细胞淋巴瘤。

[0443] 在一些方面,已诊断出受试者具有感染或处于感染风险中(例如,年龄、地理/旅行、和/或与工作相关的感染风险或易感性增加,或处于季节性和/或新型疾病感染风险中)。

[0444] 抗原可以足以诱发CTL反应的量施用。抗原可以足以诱发T细胞反应的量施用。抗原可以足以诱发B细胞反应的量施用。

[0445] 抗原可单独或与其他治疗剂组合施用。治疗剂是例如化学治疗剂、放射线或免疫疗法。可针对特定癌症施用任何适合的治疗性治疗。治疗剂可包括靶向感染性疾病生物体的那些治疗剂,例如抗病毒剂或抗生素剂。

[0446] 另外,可向受试者进一步施用免疫抑制剂/免疫刺激剂,例如检查点抑制剂。例如,可向受试者进一步施用抗CTLA抗体或抗PD-1或抗PD-L1。通过抗体阻断CTLA-4或PD-L1可增强患者中对癌细胞的免疫应答。特别是,已展示在遵循疫苗接种方案时CTLA-4阻断是有效的。

[0447] 可确定包括于疫苗组合物中的每个抗原的最佳量和最佳给药方案。例如,抗原或其变体可制备用于静脉内(i.v.)注射液、皮下(s.c.)注射液、皮内(i.d.)注射液、腹膜内(i.p.)注射液、肌肉内(i.m.)注射液。注射方法包括s.c.、i.d.、i.p.、i.m.和i.v.。DNA或RNA注射方法包括i.d.、i.m.、s.c.、i.p.和i.v.。疫苗组合物的其他施用方法是本领域技术人员已知的。

[0448] 疫苗可经编译以使得组合物中存在的抗原的选择、数目和/或量是组织、癌症、感染性疾病和/或患者特异性的。例如,肽的准确选择可根据给定组织中的亲本蛋白质的表达模式来导引或根据患者的突变或疾病状态来导引。选择可取决于癌症的具体类型、特定感

染性疾病、疾病状态、疫苗接种目标(例如,预防性或靶向正在进行的疾病)、较早的治疗方案、患者免疫状态以及当然患者的HLA单倍型。此外,疫苗可根据特定患者的个人需要而含有个别化组分。实施例包括根据抗原在特定患者中的表达改变抗原的选择或在第一轮或治疗方案之后调整二次治疗。

[0449] 可经由使用各种诊断方法(例如下文进一步描述的患者选择方法)鉴定患者以施用抗原疫苗。患者选择可涉及鉴定一个或多个基因中的突变,或表达模式。患者选择可涉及鉴定正在进行的感染的感染性疾病。患者选择可涉及鉴定感染性疾病的感染风险。在一些情况下,患者选择涉及鉴定患者的单倍型。各种患者选择方法可并行进行,例如测序诊断可鉴定患者的突变和单倍型。各种患者选择方法可依序进行,例如一种诊断性测试鉴定突变并且另一种诊断测试鉴定患者的单倍型,并且其中每个测试可为相同(例如都是高通量测序)或不同(例如一个是高通量测序并且另一个是桑格测序)的诊断方法。

[0450] 对于待用作癌症或感染性疾病疫苗的组合物,在正常组织中大量表达的具有类似正常自身肽的抗原可避免或以低量存在于本文所述的组合物中。另一方面,如果已知患者的肿瘤或受感染细胞表达大量的某一抗原,则用于治疗这种癌症或感染的相应药物组合物可以高量存在并且/或可包括超过一种对这种特定抗原或这种抗原的通路具有特异性的抗原。

[0451] 可向已罹患癌症或感染的个体施用包含抗原的组合物。在治疗应用中,组合物以足以引发对肿瘤抗原或感染性疾病生物体抗原的有效CTL反应并且治愈或至少部分遏制症状和/或并发症的量施用于患者。足以实现此目标的量定义为“治疗有效剂量”。对这种用途有效的量将取决于例如组合物、施用方式、所治疗疾病的阶段和严重程度、患者的体重和一般健康状况、以及处方医师的判断。应记住,组合物一般可用于严重的疾病状态,即危及生命或可能危及生命的情形,尤其当癌症已转移时。在此类情况下,鉴于外来物质的最小化和抗原的相对无毒性,治疗医师可能并且可能感觉需要施用实质过量的这些组合物。

[0452] 对于治疗用途,可在检测或手术去除肿瘤时开始施用或在检测或治疗感染时开始施用。此后可接着是加强免疫剂量,直至症状至少基本上减弱并且此后持续一段时间。

[0453] 用于治疗性治疗的药物组合物(例如疫苗组合物)旨在肠胃外、局部、经鼻、口服或局部施用。药物组合物可经肠胃外施用,例如静脉内、皮下、皮内或肌肉内施用。组合物可在手术切除部位施用以诱导针对肿瘤的局部免疫应答。组合物可经施用以靶向受试者的特定受感染组织和/或细胞(例如抗原呈递细胞)。本文公开了用于肠胃外施用的组合物,其包含抗原和疫苗组合物溶解或悬浮于可接受的载剂(例如水性载剂)中的溶液。可使用多种水性载剂,例如水、缓冲水、0.9%生理食盐水、0.3%甘氨酸、玻尿酸等。这些组合物可通过常规的熟知灭菌技术灭菌或可经无菌过滤。所得水溶液可经包装以按原样使用或冻干,冻干制剂在施用之前与无菌溶液组合。组合物可含有为接近生理条件而需要的药学上可接受的辅助物质,例如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、润湿剂等,例如乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯等。

[0454] 抗原也可经由脂质体施用,脂质体使其靶向特定的细胞组织,例如淋巴组织。脂质体也可用于增加半衰期。脂质体包括乳液、泡沫、胶束、不溶性单层、液晶、磷脂分散体、层状层等。在这些制剂中,有待递送的抗原作为脂质体的一部分单独或与结合于例如淋巴细胞中普遍存在的受体的分子(例如结合于CD45抗原的单克隆抗体)或其他治疗性或免疫原

性组合物一起并入。因此,用所需抗原填充的脂质体可引导至淋巴细胞的位点,其中脂质体然后递送所选择的治疗性/免疫原性组合物。脂质体可由标准的形成囊泡的脂质形成,其一般包括中性和带负电荷的磷脂和固醇(例如胆固醇)。脂质的选择一般通过考虑例如脂质体大小、脂质体在血流中的酸不稳定性 and 稳定性来指导。多种方法可用于制备脂质体,如例如 Szoka 等人, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9:467 (1980); 美国专利第4,235,871号、第4,501,728号、第4,501,728号、第4,837,028号 and 第5,019,369号中所描述。

[0455] 对于靶向免疫细胞,待并入至脂质体中的配体可包括例如对所需免疫系统细胞的细胞表面决定子具有特异性的抗体或其片段。脂质体悬浮液可以一定剂量经静脉内、局部、表面等施用,所述剂量尤其根据施用方式、所递送的肽和所治疗疾病的阶段而变化。

[0456] 出于治疗或免疫目的,编码肽和任选地一种或多种本文所述的肽的核酸也可施用于患者。多种方法方便地用于将核酸递送至患者。例如,核酸可以“裸DNA”形式直接递送。这种方法描述于例如 Wolff 等人, *Science* 247:1465-1468 (1990) 以及美国专利第5,580,859号 and 第5,589,466号中。核酸也可使用弹道式递送施用,如例如美国专利第5,204,253号中所述。可施用仅包含DNA的粒子。或者,DNA可粘附于粒子,例如金粒子。在存在或不存在电穿孔的情况下,用于递送核酸序列的方法可包括病毒载体、mRNA载体和DNA载体。

[0457] 核酸还可与阳离子化合物(例如阳离子脂质)复合递送。脂质介导的基因递送方法描述于例如 9618372WOAWO 96/18372; 9324640WOAWO 93/24640; Mannino 和 Gould-Fogerite, *BioTechniques* 6(7):682-691 (1988); 美国专利第5,279,833号; Rose 美国专利第5,279,833号; 9106309WOAWO 91/06309; 和 Felgner 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:7413-7414 (1987) 中。

[0458] 抗原也可包括在基于病毒载体的疫苗平台中,例如牛痘、禽痘、自我复制甲病毒、马拉巴病毒 (marabavirus)、腺病毒(参见例如 Tatsis 等人, *Adenoviruses, Molecular Therapy* (2004) 10,616-629) 或慢病毒,包括(但不限于)第二、第三或杂交第二/第三代慢病毒和任一一代的重组慢病毒,其设计成靶向特定细胞类型或受体(参见例如 Hu 等人, *Immunization Delivered by Lentiviral Vectors for Cancer and Infectious Diseases*, *Immunol Rev.* (2011) 239(1):45-61; Sakuma 等人, *Lentiviral vectors: basic to translational*, *Biochem J.* (2012) 443(3):603-18; Cooper 等人, *Rescue of splicing-mediated intron loss maximizes expression in lentiviral vectors containing the human ubiquitin C promoter*, *Nucl. Acids Res.* (2015) 43(1):682-690; Zufferey 等人, *Self-Inactivating Lentivirus Vector for Safe and Efficient In Vivo Gene Delivery*, *J. Virol.* (1998) 72(12):9873-9880)。取决于上述基于病毒载体的疫苗平台的包装能力,这种方法可递送编码一个或多个抗原肽的一个或多个核酸序列。序列可侧接非突变序列,可由接头分开或者可在前面有一个或多个靶向亚细胞区室的序列(参见例如 Gros 等人, *Prospective identification of neoantigen-specific lymphocytes in the peripheral blood of melanoma patients*, *Nat Med.* (2016) 22(4):433-8; Stronen 等人, *Targeting of cancer neoantigens with donor-derived T cell receptor repertoires*, *Science.* (2016) 352(6291):1337-41; Lu 等人, *Efficient identification of mutated cancer antigens recognized by T cells associated with durable tumor regressions*, *Clin Cancer Res.* (2014) 20(13):3401-10)。在引入至

宿主后,经感染细胞表达抗原,从而引发针对肽的宿主免疫(例如CTL)反应。可用于免疫方案中的牛痘载体和方法描述于例如美国专利第4,722,848号中。另一种载体是卡介苗(Bacille Calmette Guerin,BCG)。BCG载体描述于Stover等人(Nature 351:456-460 (1991))中。根据本文描述,可用于抗原的治疗性施用或免疫接种的多种其他疫苗载体,例如伤寒沙门氏菌载体等,对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0459] 施用核酸的手段使用编码一个或多个表位的小型基因构建体。为了产生编码所选CTL表位的DNA序列(小型基因)以便在人类细胞中表达,对表位的氨基酸序列进行反向翻译。使用人类密码子使用表来指导每个氨基酸的密码子选择。使编码DNA序列的这些表位直接邻接,产生连续多肽序列。为了优化表达和/或免疫原性,可将其他元件并入小型基因设计中。可被反向翻译并包括在小型基因序列中的氨基酸序列的实例包括:辅助T淋巴细胞、表位、前导(信号)序列和内质网滞留信号。另外,可通过包括邻近于CTL表位的合成(例如聚丙氨酸)或天然存在的侧接序列来改进CTL表位的MHC呈递。通过组装编码小型基因的正链和负链的寡核苷酸而将小型基因序列转化成DNA。重叠寡核苷酸(30-100个碱基长)是在适当条件下使用熟知技术合成、磷酸化、纯化和粘接。寡核苷酸的末端是使用T4 DNA连接酶连接。编码CTL表位多肽的这种合成小型基因可然后克隆至所期望的表达载体中。

[0460] 可制备经纯化的质粒DNA以便使用多种制剂注射。其中最简单的是冻干DNA在无菌磷酸盐缓冲生理食盐水(PBS)中重构。已描述多种方法,并且可使用新技术。如上文所指出,核酸宜用阳离子脂质配制。另外,糖脂、促融合脂质体、肽和化合物(统称为保护、相互作用、非缩合(PINC))也可与纯化的质粒DNA复合,以影响例如以下的变量:稳定性、肌肉内分散或移行至特定器官或细胞类型。

[0461] 还公开了一种制造疫苗的方法,其包括执行本文公开的方法的步骤;以及制造包含多种抗原或所述多种抗原的子集的疫苗。还公开了一种制造腺病毒载体的方法,其包括执行本文公开的方法的步骤;和产生包含盒的腺病毒载体。例如,公开了使用TET启动子系统,例如本文所述的TET<sub>r</sub>控制的启动子系统,制造腺病毒载体的方法。使用TET<sub>r</sub>控制的启动子系统的病毒生产可包括a.提供包含盒的病毒载体,所述盒包含:(i)至少一个有效负载核酸序列,和(ii)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,其中所述至少一个启动子是四环素(TET)阻遏蛋白(TET<sub>r</sub>)控制的启动子,b.提供被工程化以表达TET<sub>r</sub>蛋白的细胞;以及c.在足以产生病毒条件下使病毒载体与细胞接触。

[0462] 本文公开的抗原可使用本领域中已知的方法制造。例如,制备本文公开的抗原或载体(例如,包括至少一个编码一个或多个抗原的序列的载体)的方法可包括在适用于表达所述抗原或载体的条件下培养宿主细胞,其中所述宿主细胞包含编码所述抗原或载体的至少一种多核苷酸,以及纯化所述抗原或载体。标准纯化方法包括色谱技术、电泳、免疫、沉淀、透析、过滤、浓缩和色谱聚焦技术。

[0463] 宿主细胞可包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、NS0细胞、酵母或HEK293细胞。宿主细胞可用一个或多个多核苷酸转化,所述一个或多个多核苷酸包含至少一个编码本文公开的抗原或载体的核酸序列,任选地其中经分离的多核苷酸还包含可操作地连接到编码抗原或载体的至少一个核酸序列的启动子序列。在某些实施方案中,经分离的多核苷酸可为cDNA。

[0464] VII. 抗原使用和施用

[0465] 可使用疫苗接种方案来给予受试者一种或多种抗原。初免疫和加强免疫疫苗可

用于向受试者给药。初免疫苗可基于C68(例如SEQ ID NO:1或2中所示的序列)或srRNA(例如SEQ ID NO:3或4中所示的序列),并且加强免疫疫苗可基于C68(例如SEQ ID NO:1或2中所示的序列)或srRNA(例如SEQ ID NO:3或4中所示的序列)。每个载体通常包括包含抗原的盒。盒可包括约20种抗原,其由间隔子(例如通常包围每个抗原的天然序列)或其他非天然间隔序列(例如AAY)分开。盒还可包括MHCII抗原,例如破伤风类毒素抗原和PADRE抗原,其可视为通用II类抗原。盒还可包括靶向序列,例如泛素靶向序列。另外,每个疫苗剂量可与检查点抑制剂(CPI)结合(例如同时、之前或之后)施用于受试者。CPI可包括抑制CTLA4、PD1和/或PDL1的那些,例如抗体或其抗原结合部分。此类抗体可包括曲美单抗或德瓦鲁单抗(durvalumab)。

[0466] 初免疫苗可注射(例如肌肉内)于受试者。可使用每剂量双侧注射。例如,可使用一次或多次ChAdV68(C68)注射(例如总剂量 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒);可使用选自0.001至1ug RNA、特别是0.1或1ug范围的低疫苗剂量的一次或多次自我复制RNA(srRNA)注射;或者可使用选自1至100ug RNA、特别是10或100ug范围的高疫苗剂量的一次或多次srRNA注射。

[0467] 可在初免疫苗接种之后注射(例如肌肉内)疫苗加强剂(加强疫苗)。加强疫苗可在初免后约每1、2、3、4、5、6、7、8、9或10周,例如每4周和/或8周施用。可使用每剂量双侧注射。例如,可使用一次或多次ChAdV68(C68)注射(例如总剂量 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒);可使用选自0.001至1ug RNA、特别是0.1或1ug范围的低疫苗剂量的一次或多次自我复制RNA(srRNA)注射;或者可使用选自1至100ugRNA、特别是10或100ug范围的高疫苗剂量的一次或多次srRNA注射。

[0468] 还可向受试者施用抗CTLA-4(例如曲美单抗)。例如,抗CTLA4可在肌肉内疫苗注射(ChAdV68初免或srRNA低剂量)部位附近皮下施用,以确保引流至同一淋巴结。曲美单抗是CTLA-4的选择性人类IgG2 mAb抑制剂。目标抗CTLA-4(曲美单抗)皮下剂量通常是70-75mg(特别是75mg),其剂量范围是例如1-100mg或5-420mg。

[0469] 在某些情况下,可使用抗PD-L1抗体,例如德瓦鲁单抗(MEDI 4736)。德瓦鲁单抗是一种选择性、高亲和力人类IgG1 mAb,其阻断PD-L1结合于PD-1和CD80。德瓦鲁单抗一般每4周以20mg/kg i.v.施用。

[0470] 可在疫苗施用之前、期间和/或之后进行免疫监测。除其他参数外,此类监测可告知安全性和功效。

[0471] 为了进行免疫监测,通常使用PBMC。PBMC可在初免疫苗接种之前和在初免疫苗接种之后(例如4周和8周)分离。PBMC可仅在加强疫苗接种之前和在每次加强疫苗接种之后(例如4周和8周)收集。

[0472] 可评估T细胞反应作为免疫监测方案的一部分。例如,可监测和/或评估本文所述的疫苗组合物刺激免疫应答的能力。如本文所用,“刺激免疫应答”是指免疫应答的任何增加,例如引发免疫应答(例如,在初始受试者中刺激免疫应答的起始的初免疫苗)或加强免疫应答(例如,在对抗原具有预先存在的免疫应答、例如由初免疫苗引发的预先存在的免疫应答的受试者中刺激免疫应答增强的加强疫苗)。可使用本领域中已知的一种或多种方法测量T细胞反应,例如ELISpot、细胞内细胞因子染色、细胞因子分泌和细胞表面捕捉、T细胞增殖、MHC多聚体染色或通过细胞毒性测定。针对疫苗中编码的表位的T细胞反应可通过使用ELISpot测定来测量细胞因子(例如IFN- $\gamma$ )的诱导而从PBMC监测。针对疫苗中编码的表

位的特异性CD4或CD8 T细胞反应可通过使用流式细胞术测量胞内或胞外捕捉的细胞因子(例如IFN- $\gamma$ )的诱导而从PBMC监测。针对疫苗中编码的表位的特异性CD4或CD8 T细胞反应可通过使用MHC多聚体染色测量表达特异性针对表位/MHC I类复合物的T细胞受体的T细胞群体而从PBMC监测。针对疫苗中编码的表位的特异性CD4或CD8 T细胞反应可通过在3H-胸苷、溴脱氧尿苷和羧基荧光素-二乙酸酯-琥珀酰亚胺酯(CFSE)并入后测量T细胞群的离体扩增而从PBMC监测。特异性针对疫苗中编码的表位的源自PBMC的T细胞的抗原识别能力和溶解活性可通过铬释放测定或替代性比色细胞毒性测定来功能性评估。

[0473] 可使用本领域中已知的一种或多种方法,例如用于确定B细胞分化(例如,分化为浆细胞)、B细胞或浆细胞增殖、B细胞或浆细胞活化(例如,共刺激标志物如CD80或CD86的上调)、抗体类别切换和/或抗体产生(例如ELISA)的测定,来测量B细胞反应。

[0474] VIII. 抗原鉴定

[0475] VIII.A. 抗原候选物鉴定

[0476] 已描述关于肿瘤和正常外显子组和转录组的NGS分析的研究方法并且将其应用于抗原鉴定空间。<sup>6,14,15</sup>可考虑在临床环境中针对对抗原鉴定的更大敏感性和特异性的某些优化。这些优化可分为两个领域,即与实验室方法相关的那些优化和与NGS数据分析相关的那些优化。所描述的研究方法还可应用于在其他情形下鉴定抗原,例如鉴定来自感染性疾病生物体的抗原、受试者的感染或受试者的受感染细胞的鉴定。优化实例是本领域技术人员已知的,例如更详细地描述于以下各者的方法:美国专利第10,055,540号、美国申请公开第US20200010849A1号以及国际专利申请公开W0/2018/195357和W0/2018/208856,出于所有目的各自通过引用整体并入本文。

[0477] VIII.B. HLA肽的分离和检测

[0478] 在裂解和溶解组织样品后,使用经典免疫沉淀(IP)方法进行HLA-肽分子的分离(55-58)。澄清的溶解物用于HLA特异性IP。

[0479] 免疫沉淀是使用与珠粒偶联的抗体来进行,其中抗体特异性针对HLA分子。对于泛I类HLA免疫沉淀,使用泛I类CR抗体;对于II类HLA-DR,使用HLA-DR抗体。在过夜温育期间,抗体共价连接到NHS-琼脂糖珠粒。在共价连接后,将珠粒洗涤并等分用于IP。(59,60)免疫沉淀也可用未共价连接到珠粒的抗体来进行。这通常使用涂布有蛋白A和/或蛋白G的琼脂糖或磁性珠粒来完成,所述珠粒将抗体固定于柱。下文列出可用于选择性地富集MHC/肽复合物的一些抗体。

[0480]

| 抗体名称  | 特异性              |
|-------|------------------|
| W6/32 | I类HLA-A、B、C      |
| L243  | II类-HLA-DR       |
| Tu36  | II类-HLA-DR       |
| LN3   | II类-HLA-DR       |
| Tu39  | II类-HLA-DR、DP、DQ |

[0481] 将澄清的组织溶解物添加至抗体珠粒中进行免疫沉淀。在免疫沉淀后,从溶解物去除珠粒并且将溶解物储存用于额外实验,包括额外IP。洗涤IP珠粒以去除非特异性结合并且使用标准技术从珠粒洗脱HLA/肽复合物。使用分子量旋转柱或C18分级分离从肽去除蛋白质组分。所得肽通过SpeedVac蒸发变干并且在一些情况下在MS分析之前储存在-20C

下。

[0482] 干燥的肽在适于反相色谱的HPLC缓冲液中重构并装载于C-18微毛细管HPLC柱上，以便在Fusion Lumos质谱仪(Thermo)中梯度洗脱。在Orbitrap检测器中以高分辨率收集肽质量/电荷(m/z)的MS1谱，接着在所选择的离子的HCD片段化后，在离子阱检测器中收集MS2低分辨率扫描。另外，可使用CID或ETD片段化方法或三种技术的任何组合来获得MS2谱，以达到肽的更大的氨基酸覆盖率。MS2谱也可在Orbitrap检测器中以高分辨率质量精度测量。

[0483] 使用Comet (61,62) 对来自每个分析的MS2谱进行蛋白质数据库搜索，并使用Percolator (63-65) 对肽鉴定进行评分。使用PEAKS studio (Bioinformatics Solutions Inc.) 来进行额外测序，并且可使用其他搜索引擎或测序方法，包括频谱匹配和从头测序(97)。

[0484] VIII.B.1. 支持综合HLA肽测序的MS检测极限研究。

[0485] 使用肽YVYVADVAAK (SEQ ID NO:77)，使用装载于LC柱上的不同量的肽确定检测极限。所测试的肽的量是1pmol、100fmol、10fmol、1fmol和100amol。(表1) 结果展示于图24A和图24B中。这些结果表明，最低检测极限 (LoD) 在埃摩尔范围 ( $10^{-18}$ ) 中，动态范围跨越五个数量级，并且信噪比足以在低飞摩尔范围 ( $10^{-15}$ ) 测序。

[0486] 表1

|        | 肽 m/z   | 装载于柱上    | 1e9 个细胞中的拷贝数/细胞 |
|--------|---------|----------|-----------------|
| [0487] | 566.830 | 1 pmol   | 600             |
|        | 562.823 | 100 fmol | 60              |
|        | 559.816 | 10 fmol  | 6               |
| [0488] | 556.810 | 1 fmol   | 0.6             |
|        | 553.802 | 100 amol | 0.06            |

[0489] IX. 呈递模型

[0490] 呈递模型可用于鉴定在患者中肽呈递的可能性。各种呈递模型是本领域技术人员已知的，例如更详细地描述于美国专利第10,055,540号、美国申请公开第US20200010849A1号和第US20110293637号以及国际专利申请公开W0/2018/195357、W0/2018/208856和W02016187508中的呈递模型，所述文献出于所有目的各自通过引用整体并入本文。

[0491] X. 训练模块

[0492] 训练模块可用于基于训练数据集构建一个或多个呈递模型，所述模型产生肽序列是否会被与所述肽序列相关联的MHC等位基因呈递的可能性。各种训练模块是本领域技术人员已知的，例如更详细地描述于美国专利第10,055,540号、美国申请公开第US20200010849A1号以及国际专利申请公开W0/2018/195357和W0/2018/208856中的呈递模型，所述呈递模型出于所有目的各自通过引用整体并入本文。训练模块可以在独立等位基因(per-allele)基础上构建呈递模型以预测肽的呈递可能性。训练模块也可在存在两个或更多个MHC等位基因的多等位基因环境中构建呈递模型以预测肽的呈递可能性。

[0493] XI. 预测模块

[0494] 预测模块可用于接收序列数据并使用呈递模型选择序列数据中的候选抗原。具体来说，序列数据可以从患者的肿瘤组织细胞、受感染细胞患者或感染性疾病生物体自身

提取的DNA序列、RNA序列和/或蛋白质序列。预测模块可通过将从患者的正常组织细胞提取的序列数据与从患者的肿瘤组织细胞提取的序列数据相比较以鉴定含有一个或多个突变的部分,由此鉴定出呈突变肽序列的新抗原。预测模块可例如通过将从患者的正常组织细胞提取的序列数据与从患者的受感染细胞提取的序列数据相比较以鉴定含有一种或多种感染性疾病生物体相关抗原的部分,由此鉴定出候选抗原,其为病原体衍生肽、病毒衍生肽、细菌衍生肽、真菌衍生肽和寄生虫衍生肽。预测模块可通过将从患者的正常组织细胞提取的序列数据与从患者的肿瘤组织细胞提取的序列数据相比较以鉴定不恰当表达的候选抗原,由此鉴定出与正常细胞或组织相比在肿瘤细胞或癌组织中具有改变表达的候选抗原。预测模块可通过将从患者的正常组织细胞提取的序列数据与从患者的受感染组织细胞提取的序列数据相比较以鉴定表达的候选抗原(例如,鉴定对感染性疾病具特异性的表达的多核苷酸和/或多肽),由此鉴定出与正常细胞或组织相比在受感染细胞或受感染组织中表达的候选抗原。

[0495] 呈递模块可将一个或多个呈递模型应用于经处理的肽序列以估计所述肽序列的呈递可能性。具体来说,预测模块可通过将呈递模型应用于候选抗原来选择可能呈递在肿瘤HLA分子或受感染细胞HLA分子上的一个或多个候选抗原肽序列。在一种实现方式中,呈递模块选出估计呈递可能性超过预定阈值的候选抗原序列。在另一种实现方式中,呈递模型选出N个具有最高估计呈递可能性的候选抗原序列(其中N一般是在疫苗中递送的最大表位数量)。包括选择用于给定患者的候选抗原的疫苗可注射至患者体内以诱发免疫应答。

[0496] XI.B.盒设计模块

[0497] XI.B.1综述

[0498] 盒设计模块可基于选择用于注射至患者体内的候选肽产生疫苗盒序列。各种盒设计模块是本领域技术人员已知的,例如更详细地描述于美国专利第10,055,540号、美国申请公开第US20200010849A1号以及国际专利申请公开W0/2018/195357和W0/2018/208856中的盒设计模块,所述文献出于所有目的各自通过引用整体并入本文。

[0499] 可基于由预测模块确定的与超过预定阈值的呈递可能性相关联的所选肽产生治疗性表位集合,其中所述呈递可能性是由呈递模型确定。然而,应了解,在其他实施方案中,可基于多种方法中的任一种或多种(单独或组合形式),例如基于针对患者的HLAI类或II类等位基因的结合亲和力或预测的结合亲和力、针对患者的HLAI类或II类等位基因的结合稳定性或预测的结合稳定性、随机取样等产生治疗性表位的集合。

[0500] 治疗性表位可对应于自身选择的肽。除所选肽外,治疗性表位还可包括C末端和/或N末端侧接序列。N末端和C末端侧接序列可为治疗性疫苗表位在其源蛋白的背景下的原生N末端和C末端侧接序列。治疗性表位可表示固定长度的表位。治疗性表位可表示可变长度的表位,其中表位的长度可根据例如C-侧接序列或N-侧接序列的长度而改变。例如,C末端侧接序列和N末端侧接序列可各自具有2-5个残基的变化长度,由此产生16种可能的表位选择。

[0501] 盒设计模块也可通过考虑横跨所述盒中一对治疗性表位之间的接合点的接合点表位的呈递来产生盒序列。接合点表位是由于在所述盒中串接治疗性表位和接头序列的过程而在所述盒中产生的新颖非自身但不相关的表位序列。接合点表位的新颖序列不同于所

述盒的治疗性表位本身。

[0502] 盒设计模块可产生降低在患者中呈递接合点表位的可能性的盒序列。具体来说,当将盒注射至患者体内时,接合点表位有可能被患者的I类HLA或II类HLA等位基因呈递,并且分别刺激CD8或CD4T细胞反应。由于T细胞与接合点表位的反应没有治疗益处,并且可能因抗原竞争而减弱针对所述盒中所选治疗性表位的免疫应答,因此此类反应常常是不合需要的。<sup>76</sup>

[0503] 盒设计模块可迭代一个或多个候选盒,并确定与盒序列相关联的接合点表位的呈递评分低于数字阈值的盒序列。接合点表位呈递评分是与所述盒中接合点表位的呈递可能性相关联的量,并且较高的接合点表位呈递评分值指示所述盒的接合点表位将由I类HLA或II类HLA或两者呈递的可能性较高。

[0504] 在一个实施方案中,盒设计模块可确定候选盒序列中与最低接合点表位呈递评分相关联的盒序列。

[0505] 盒设计模块可迭代一个或多个候选盒序列,确定候选盒的接合点表位呈递评分,并且鉴定与低于阈值的接合点表位呈递评分相关联的最佳盒序列。

[0506] 盒设计模块可进一步检查所述一个或多个候选盒序列以鉴定候选盒序列中的接合点表位中的任一个是否是设计使用所述疫苗的给定患者的自身表位。为了实现此目的,盒设计模块针对已知数据库,例如BLAST检查接合点表位。在一个实施方案中,盒设计模块可被配置以设计避免接合点自身表位的盒。

[0507] 盒设计模块可执行蛮力方法并且迭代所有或大部分可能的候选盒序列以选择具有最小接合点表位呈递评分的序列。然而,由于疫苗容量增加,此类候选盒的数量可能极大。例如,对于20个表位的疫苗容量,盒设计模块必须迭代约 $10^{18}$ 个可能的候选盒,才能确定具有最低接合点表位呈递评分的盒。对于盒设计模块在合理的时间量内完成以产生用于患者的疫苗而言,这种确定在计算上可能较为繁琐(就所需的计算处理资源而言)并且有时难以处理。另外,考虑到每个候选盒的可能接合点表位,甚至可能更繁琐。因此,盒设计模块可基于迭代明显少于蛮力方法中的候选盒序列数量的候选盒数量来选择盒序列。

[0508] 盒设计模块可产生随机产生或至少伪随机产生的候选盒子集,并且选择与低于预定阈值的接合点表位呈递评分相关联的候选盒作为盒序列。另外,盒设计模块可从所述子集中选择具有最低接合点表位呈递评分的候选盒作为盒序列。例如,盒设计模块可针对20个所选表位的集合产生约1百万个候选盒的子集,并且选出具有最小接合点表位呈递评分的候选盒。尽管产生随机盒序列的子集并从所述子集中选出具有低接合点表位呈递评分的盒序列可能不如蛮力方法好,但其需要明显较少的计算资源,由此使其实施在技术上是可行的。另外,相对于这种更高效的技术,执行蛮力法可能仅引起接合点表位呈递评分的微小或甚至可忽略的改进,因此,从资源分配的观点看,蛮力法是不值得实施的。盒设计模块可通过将盒的表位序列用非对称旅行商问题(TSP)公式表示来确定改进的盒配置。根据节点列表和每对节点之间的距离,TSP确定与最短总距离相关联的节点的序列以访问每个节点恰好一次并返回至原始节点。例如,鉴于彼此之间距离已知的城市A、B和C,TSP的解决方案产生一个闭合的城市序列,对于所述序列,访问每个城市恰好一次所行进的总距离是可能途径当中最短的。TSP的非对称形式确定当一对节点之间的距离不对称时节点的最佳序列。例如,从节点A行进至节点B的“距离”可以不同于从节点B行进至节点A的“距离”。通过使用

非对称TSP解决改进的最佳盒,盒设计模块可找到使所述盒的表位之间的接合点的呈递评分降低的盒序列。非对称TSP解决方案指示对应于应当在盒中串接表位以使所述盒的所有接合点的接合点表位呈递评分减到最小的次序的治疗性表位序列。相较于随机取样方法,通过这种方法确定的盒序列可产生具有明显较少接合点表位呈递的序列,同时可能需要明显较少的计算资源,尤其是在所产生的候选盒序列数量很大时。不同计算方法和用于优化盒设计的比较的说明性实例更详细地描述于美国专利第10,055,540号、美国申请公开第US20200010849A1号以及国际专利申请公开W0/2018/195357和W0/2018/208856中,所述文献出于所有目的各自通过引用整体并入本文。

#### [0509] XI.B.2共享抗原疫苗序列选择

[0510] 使用本文提供的详细公开内容,本领域技术人员可选择包含在共享抗原疫苗中的共享抗原序列以及用所述疫苗治疗的适当患者。在某些情况下,特定突变和HLA等位基因组合可为优选的(例如,基于可从给定受试者获得的表明各自存在于受试者中的测序数据),并且随后组合在一起使用以鉴定共享新抗原序列。

#### [0511] XIII.示例计算机

[0512] 计算机可用于计算本文所述的方法中的任一者。本领域技术人员将认识到计算机可具有不同架构。计算机的实例是本领域技术人员已知的,例如更详细地描述于美国专利第10,055,540号、美国申请公开第US20200010849A1号以及国际专利申请公开W0/2018/195357和W0/2018/208856中的计算机,所述文献出于所有目的各自通过引用整体并入本文。

#### [0513] XIV.抗原递送载体实例

[0514] 下文是执行本发明的特定实施方案的实例。所述实例仅出于说明性目的提供,并且不旨在以任何方式限制本发明的范围。已作出努力以确保所使用数字的精确性(例如,量、温度等),但一些实验性误差和偏差当然应是允许的。

[0515] 除非另外指明,否则本发明将采用本领域的技能范围内的蛋白质化学、生物化学、重组DNA技术和药理学常规方法实施。在文献中充分解释此类技术。参见例如T.E.Creighton,Proteins:Structures andMolecular Properties(W.H.Freeman and Company,1993);A.L.Lehninger,Biochemistry(Worth Publishers,Inc.,现行版);Sambrook等人,Molecular Cloning:ALaboratory Manual(第2版,1989);MethodsIn Enzymology(S.Colowick和N.Kaplan编,Academic Press,Inc.);Remington's Pharmaceutical Sciences,第18版(Easton,Pennsylvania:Mack Publishing Company,1990);Carey和Sundberg Advanced Organic Chemistry第3版.(Plenum Press)第A卷和第B卷(1992)。

#### [0516] XIV.A.新抗原盒设计

[0517] 可以经由疫苗接种递送刺激相应细胞免疫应答的多个I类MHC限制性肿瘤特异性新抗原(TSNA)。在一个实例中,疫苗盒被工程化而以单一基因产物形式编码多个表位,其中所述表位是嵌入其天然的周围肽序列内或通过非天然接头序列隔开。鉴定出会潜在地影响抗原加工和呈递并因此影响TSNA特异性CD8 T细胞反应的量值和广度的若干设计参数。在本实例中,设计和构建出若干模型盒以评价:(1)是否可针对并入单一表达盒中的多个表位产生稳定T细胞反应;(2)什么使得最佳接头置放于表达盒内的TSNA之间,引起所有表位的

最佳加工和呈递；(3) 所述表位在盒内的相对位置是否影响T细胞反应；(4) 盒内表位的数量是否影响针对个别表位的T细胞反应的量值或质量；(5) 添加细胞靶向序列是否改善T细胞反应。

[0518] 产生两个读出结果以评价抗原呈递和对模型盒内的标志物表位具有特异性的T细胞反应：(1) 基于体外细胞的筛选，其允许通过专门工程化的报告T细胞的活化进行衡量，来评估抗原呈递 (Aarnoudse等人, 2002; Nagai等人, 2012)；以及(2) 使用HLA-A2转基因小鼠 (Vitiello等人, 1991)，通过其相应表位特异性T细胞反应评估盒来源的人源表位的疫苗接种后免疫原性的体内测定 (Comet等人, 2006; Depla等人, 2008; Ishioka等人, 1999)。

[0519] XIV.B. 抗原盒设计评价

[0520] XIV.B.1. 方法与材料

[0521] TCR和盒设计和克隆

[0522] 当通过A\*0201呈递时，所选TCR识别肽NLVPMVATV (SEQ ID NO:78) (PDB#5D2N)、CLGGLTMTV (SEQ ID NO:79) (PDB#3REV)、GILGFVFTL (SEQ ID NO:80) (PDB#10GA)、LLFGYPVYV (SEQ ID NO:81) (PDB#1A07)。构建含有2A肽连接的TCR亚基 ( $\beta$ 接着是 $\alpha$ )、EMCVIRES和2A连接的CD8亚基 ( $\beta$ 接着是 $\alpha$ 和嘌呤霉素抗性基因)的转移载体。对开放阅读框序列进行密码子优化并由GeneArt合成。

[0523] 产生用于体外表位加工和呈递研究的细胞系

[0524] 肽是购自ProImmune或Genscript，在含10mM三(2-羧基乙基)膦(TCEP)的水/DMSO (2:8, v/v)中稀释至10mg/mL。除非另外指出，否则细胞培养基和补充剂是来自Gibco。热灭活胎牛血清(FBS<sub>hi</sub>)是来自Seradigm。QUANTI-Luc底物、吉欧霉素(Zeocin)和嘌呤霉素是来自InvivoGen。将Jurkat-Lucia NFAT细胞(InvivoGen)维持在补充有10%FBS<sub>hi</sub>、丙酮酸钠和100 $\mu$ g/mL吉欧霉素的RPMI 1640中。一旦转导后，这些细胞立即另外接受0.3 $\mu$ g/mL嘌呤霉素。在伊氏培养基(Iscove's Medium, IMDM)加20%FBS<sub>hi</sub>中培养T2细胞(ATCC CRL-1992)。U-87MG(ATCC HTB-14)细胞是维持在补充有10%FBS<sub>hi</sub>的MEM伊格尔培养基(MEM Eagles Medium)中。

[0525] Jurkat-Lucia NFAT细胞含有NFAT诱导型Lucia报告构建体。Lucia基因在通过接合T细胞受体(TCR)激活时，将利用腔肠素的荧光素酶分泌至培养基中。这种荧光素酶可使用QUANTI-Luc荧光素酶检测试剂测量。Jurkat-Lucia细胞经慢病毒转导以表达抗原特异性TCR。HIV源性慢病毒转移载体是从GeneCopoeia获得，并且表达VSV-G的慢病毒辅助质粒(support plasmid) (pCMV-VsvG)、Rev (pRSV-Rev) 和Gag-pol (pCgpV) 是从Cell Design Labs获得。

[0526] 通过使用40 $\mu$ l脂染胺和20 $\mu$ gDNA混合物(以重量计4:2:1:1的转移质粒:pCgpV:pRSV-Rev:pCMV-VsvG)，用脂染胺2000(Thermo Fisher)转染T75烧瓶中50-80%汇合的HEK293细胞，来制备慢病毒。使用Lenti-X系统(Clontech)浓缩8-10mL含病毒的培养基，并且使病毒重悬于100-200 $\mu$ l新鲜培养基中。使用此体积覆盖相等体积的Jurkat-Lucia细胞(在不同实验中使用 $5 \times 10^4$ - $1 \times 10^6$ 个细胞)。在含0.3 $\mu$ g/ml嘌呤霉素的培养基中培养之后，分选细胞以获得克隆性。使用装载肽的T2细胞测试这些Jurkat-LuciaTCR克隆的活性和选择性。

[0527] 体外表位加工和呈递测定

[0528] 常规地使用T2细胞,通过TCR检查抗原识别。T2细胞缺乏用于抗原加工的肽转运蛋白(TAP缺陷型)并且不能在内质网中装载内源性肽以在MHC上呈递。然而,T2细胞可轻易装载有外源肽。将五种标志物肽(NLVPMVATV (SEQ ID NO:78)、CLGGLLTMV (SEQ ID NO:79)、GLCTLVAML (SEQ ID NO:82)、LLFGYPVYV (SEQ ID NO:81)、GILGFVFTL (SEQ ID NO:80))和两种不相关肽(WLSLLVPFV (SEQ ID NO:83)、FLLTRICT (SEQ ID NO:84))装载于T2细胞上。简言之,对T2细胞计数并用IMDM加1%FBShi稀释至 $1 \times 10^6$ 个细胞/毫升。添加肽以产生 $10 \mu\text{g}$ 肽/ $1 \times 10^6$ 个细胞。然后在 $37^\circ\text{C}$ 下温育细胞90分钟。用IMDM加20%FBShi洗涤细胞两次,稀释至 $5 \times 10^5$ 个细胞/毫升并且将 $100 \mu\text{L}$ 涂铺至96孔Costar组织培养板中。对Jurkat-Lucia TCR克隆计数并且在RPMI 1640加10%FBShi中稀释至 $5 \times 10^5$ 个细胞/毫升,并且将 $100 \mu\text{L}$ 添加至T2细胞中。板在 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 下温育过夜。然后以400g将板离心3分钟并且将 $20 \mu\text{L}$ 上清液移至白色平底Greiner板。QUANTI-Luc底物是根据说明书制备的并以每孔 $50 \mu\text{L}$ 添加。在Molecular Devices SpectraMax iE3x上读取荧光素酶表达。

[0529] 为了测试腺病毒盒的标志物表位呈递,使用U-87MG细胞作为替代抗原呈递细胞(APC)并用腺病毒载体转导。收集U-87MG细胞并以 $5 \times 10^5$ 个细胞/ $100 \mu\text{L}$ 涂铺于96孔Costar组织培养板中的培养基中。板在 $37^\circ\text{C}$ 温育约2小时。用MEM加10%FBShi将腺病毒盒稀释至MOI为100、50、10、5、1和0并且将其以每孔 $5 \mu\text{L}$ 添加至U-87MG细胞中。板在 $37^\circ\text{C}$ 下再温育约2小时。对Jurkat-LuciaTCR克隆计数并在RPMI加10%FBShi中稀释至 $5 \times 10^5$ 个细胞/毫升,并且将其以每孔 $100 \mu\text{L}$ 添加至U-87MG细胞中。板然后在 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 下温育约24小时。板以400g离心3分钟并且将 $20 \mu\text{L}$ 上清液移至白色平底Greiner板。QUANTI-Luc底物是根据说明书制备并且以每孔 $50 \mu\text{L}$ 添加。在Molecular Devices SpectraMax iE3x上读取荧光素酶表达。

[0530] 用于免疫原性研究的小鼠品系

[0531] 转基因HLA-A2.1 (HLA-A2Tg)小鼠是从Taconic Labs, Inc获得。这些小鼠携带由嵌合I类分子组成的转基因,所述嵌合I类分子包含人类HLA-A2.1前导序列、 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 结构域以及鼠类H2-Kb  $\alpha 3$ 、跨膜和细胞质结构域(Vitiello等人,1991)。用于这些研究的小鼠是基于C57B1/6背景的野生型BALB/cAnNTac雌性和同型接合HLA-A2.1Tg雄性的第一代后代(F1)。

[0532] 腺病毒载体(Ad5v)免疫接种

[0533] 经由两侧肌肉内注射至胫前肌中对HLA-A2 Tg小鼠免疫接种 $1 \times 10^{10}$ 至 $1 \times 10^6$ 个腺病毒载体病毒颗粒。在免疫接种后12天测量免疫应答。

[0534] 淋巴细胞分离

[0535] 从新鲜收集的经免疫接种小鼠的脾脏和淋巴结分离淋巴细胞。使用GentleMACS组织解离器,根据制造商的说明,在含有10%胎牛血清以及青霉素和链霉素的RPMI (完全RPMI)中解离组织。

[0536] 离体酶联免疫斑点(ELISPOT)分析

[0537] ELISPOT分析是根据ELISPOT统一准则(Janetzki等人,2015),利用小鼠IFN $\gamma$  ELISpotPLUS试剂盒(MABTECH)进行。将 $1 \times 10^5$ 个脾细胞与 $10 \mu\text{M}$ 指定肽一起在包被有IFN $\gamma$ 抗体的96孔板中温育16小时。使用碱性磷酸酶使斑点显色。对反应定时10分钟并通过用自来水流过板来淬灭反应。使用AIDvSpot读取器谱图对斑点计数。对于ELISPOT分析,将饱和度 $>50\%$ 的孔记录为“太多而无法计数”。将重复孔的偏差 $>10\%$ 的样品从分析中排除。然后使用下式针对孔汇合校正斑点计数:斑点计数 $+2 \times (\text{斑点计数} \times \text{汇合}\% / [100\% - \text{汇合}\%])$ 。

通过用抗原刺激的孔减去阴性肽刺激孔中的斑点计数来校正阴性背景。最后,将标记为太多而无法计数的孔设定成最高观测校正值,四舍五入至最接近的百分数。

[0538] 离体细胞内细胞因子染色(ICS)和流式细胞术分析

[0539] 将 $2-5 \times 10^6$ 个细胞/毫升密度的新鲜分离的淋巴细胞与10uM指定肽一起温育2小时。两小时后,添加布雷菲尔德菌素A(brefeldin A)达到5ug/ml浓度并且将细胞与刺激剂一起再温育4小时。刺激后,用可固定的活力染料eFluor780,根据制造商的方案标记活细胞,并用以1:400稀释的抗CD8 APC(克隆53-6.7,BioLegend)染色。对于细胞内染色,使用1:100稀释的抗IFN $\gamma$ PE(克隆XMGI.2,BioLegend)。将样品收集在Attune NxT流式细胞仪(Thermo Scientific)上。使用FlowJo标绘流式细胞术数据并分析。为了评估抗原特异性反应的程度,计算响应于每个肽刺激剂的IFN $\gamma$ 的CD8 $^{+}$ 细胞百分比和总IFN $\gamma$ 细胞数量/ $1 \times 10^6$ 个活细胞。

[0540] XIV.B.2. 抗原盒设计的体外评价

[0541] 作为抗原盒设计评价的实例,开发基于体外细胞的测定以评估在模型疫苗盒内的所选人类表位是否经抗原呈递细胞表达、加工和呈递(图1)。在识别后,被工程化成表达五种对明确表征的肽-HLA组合具有特异性的TCR之一的Jurkat-Lucia报告T细胞变得活化并且将活化T细胞核因子(NFAT)易位至核中,引起荧光素酶报告基因的转录活化。通过生物发光定量个别报告基因CD8 $^{+}$ T细胞系的抗原刺激。

[0542] 通过用表达构建体转导慢病毒来改良个别Jurkat-Lucia报告细胞系,所述表达构建体包括通过P2A核糖体跳跃序列分离以确保等摩尔量翻译产物的抗原特异性TCR $\beta$ 和TCR $\alpha$ 链(Banu等人,2014)。将第二CD8 $\beta$ -P2A-CD8 $\alpha$ 元件添加至慢病毒构建体提供亲本报告细胞系缺乏的CD8辅助受体的表达,因为细胞表面上的CD8对于与目标pMHC分子的结合亲和力至关重要并通过其胞质尾接合增强信号传导(Lyons等人,2006;Yachi等人,2006)。

[0543] 在慢病毒转导后,使Jurkat-Lucia报告基因在嘌呤霉素选择下扩增,经历单细胞荧光辅助细胞分选(FACS),并且测试单克隆群的荧光素酶表达。这得到具有功能性细胞反应的针对特定肽抗原1、2、4和5的稳定转导的报告细胞系。(表2)。

[0544] 表2:体外T细胞活化测定的研究。如通过荧光素酶的诱导所测量的肽特异性T细胞识别指示疫苗盒抗原的有效加工和呈递。

[0545]

|    | 短盒设计           |
|----|----------------|
| 表位 | AAY            |
| 1  | $24.5 \pm 0.5$ |
| 2  | $11.3 \pm 0.4$ |
| 3* | n/a            |
| 4  | $26.1 \pm 3.1$ |
| 5  | $46.3 \pm 1.9$ |

[0546] \*尚未产生的针对表位3的报告T细胞

[0547] 在另一个实例中,将一系列短盒、所有标志物表位并入同一位置(图2A)中并且仅改变分离HLA-A\*0201限制性表位的接头(图2B)。报告T细胞个别地与U-87抗原呈递细胞(APC)混合,所述抗原呈递细胞经表达这些短盒的腺病毒构建体感染,并且相对于未感染的对照测量荧光素酶表达。通过匹配报告T细胞识别模型盒中的全部四个抗原,展示多个抗原

的有效加工和呈递。T细胞反应的量值在很大程度上遵循天然和AAY-接头的类似趋势。从基于RR-接头的盒释放的抗原显示较低荧光素酶诱导(表3)。被设计以破坏抗原加工的DPP-接头制造引起较低表位呈递的疫苗盒(表3)。

[0548] 表3:短盒中接头序列的评价。在体外T细胞活化测定中的荧光素酶诱导指示,除基于DPP的盒外,所有接头均有助于盒抗原的有效释放。仅T细胞表位(无接头)=9AA,天然接头一侧=17AA,天然接头两侧=25AA,非天然接头=AAY、RR、DPP

|        | 短盒设计 |            |            |            |            |            |           |
|--------|------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|
| 表位     | 9AA  | 17AA       | 25AA       | AAY        | RR         | DPP        |           |
| [0549] | 1    | 33.6 ± 0.9 | 42.8 ± 2.1 | 42.3 ± 2.3 | 24.5 ± 0.5 | 21.7 ± 0.9 | 0.9 ± 0.1 |
|        | 2    | 12.0 ± 0.9 | 10.3 ± 0.6 | 14.6 ± 0.4 | 11.3 ± 0.4 | 8.5 ± 0.3  | 1.1 ± 0.2 |
|        | 3*   | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a       |
| [0550] | 4    | 26.6 ± 2.5 | 16.1 ± 0.6 | 16.6 ± 0.8 | 26.1 ± 3.1 | 12.5 ± 0.8 | 1.3 ± 0.2 |
|        | 5    | 29.7 ± 0.6 | 21.2 ± 0.7 | 24.3 ± 1.4 | 46.3 ± 1.9 | 19.7 ± 0.4 | 1.3 ± 0.1 |

[0551] \*尚未产生的针对表位3的报告T细胞

[0552] 在另一个实例中,构建另外一系列的短盒,所述盒除人类和小鼠表位外,还含有定位于所述盒的N或C末端上的靶向序列,例如泛素(Ub)、MHC和Ig-κ信号肽(SP)和/或MHC跨膜(TM)基序。(图3)。当通过腺病毒载体递送至U-87APC时,报告T细胞再次展示多个盒源性抗原的有效加工和呈递。然而,各种靶向特征对于T细胞反应的量值无明显影响(表4)。

[0553] 表4:添加至模型疫苗盒的细胞靶向序列的评价。采用体外T细胞活化测定证实,四个HLA-A\*0201限制性标志物表位从模型盒有效释放并且靶向序列没有明显改善T细胞识别和活化。

[0554]

|    | 短盒设计       |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 表位 | A          | B          | C          | D          | E          | F          | G          | H          | I          | J          |
| 1  | 32.5 ± 1.5 | 31.8 ± 0.8 | 29.1 ± 1.2 | 29.1 ± 1.1 | 28.4 ± 0.7 | 20.4 ± 0.5 | 35.0 ± 1.3 | 30.3 ± 2.0 | 22.5 ± 0.9 | 38.1 ± 1.6 |
| 2  | 6.1 ± 0.2  | 6.3 ± 0.2  | 7.6 ± 0.4  | 7.0 ± 0.5  | 5.9 ± 0.2  | 3.7 ± 0.2  | 7.6 ± 0.4  | 5.4 ± 0.3  | 6.2 ± 0.4  | 6.4 ± 0.3  |
| 3* | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        | n/a        |
| 4  | 12.3 ± 1.1 | 14.1 ± 0.7 | 12.2 ± 0.8 | 13.7 ± 1.0 | 11.7 ± 0.8 | 10.6 ± 0.4 | 11.0 ± 0.6 | 7.6 ± 0.6  | 16.1 ± 0.5 | 8.7 ± 0.5  |
| 5  | 44.4 ± 2.8 | 53.6 ± 1.6 | 49.9 ± 3.3 | 50.5 ± 2.8 | 41.7 ± 2.8 | 36.1 ± 1.1 | 46.5 ± 2.1 | 31.4 ± 0.6 | 75.4 ± 1.6 | 35.7 ± 2.2 |

[0555] \*尚未产生的针对表位3的报告T细胞

[0556] XIV.B.3. 抗原盒设计的体内评价

[0557] 作为抗原盒设计评价的另一个实例,疫苗盒被设计以含有5个已知以HLA-A\*02:01限制性方式刺激CD8 T细胞的明确表征的人类I类MHC表位(图2A、图3、图5A)。为了评价体内免疫原性,将含有这些标志物表位的疫苗盒并入腺病毒载体中并用于感染HLA-A2转基因小鼠(图4)。这种小鼠模型携带的转基因部分由人类HLAA\*0201和小鼠H2-Kb组成,因此编码由人类HLA-A2.1前导序列、连接到鼠类α3的α1和α2结构域、跨膜和细胞质H2-Kb结构域组成的嵌合I类MHC分子(Vitiello等人,1991)。所述嵌合分子允许HLA-A\*02:01限制性抗原呈递,

同时维持CD8辅助受体与MHC上的 $\alpha 3$ 结构域的物种匹配的相互作用。

[0558] 对于短盒,所有标志物表位均产生比已通常报道者强大约10-50倍的T细胞反应,如通过IFN- $\gamma$  ELISPOT所测定(Cornet等人,2006;Depla等人,2008;Ishioka等人,1999)。在评价的所有接头中,各自含有通过天然氨基酸序列侧接的最小表位的25聚体序列多联体产生最大且最广泛的T细胞反应(表5)。细胞内细胞因子染色(ICS)和流式细胞术分析揭示,抗原特异性T细胞反应是源自CD8<sup>+</sup> T细胞。

[0559] 表5:短盒中接头序列的体内评价。ELISPOT数据指示,HLA-A2转基因小鼠在用 $1 \times 10^{11}$ 个腺病毒病毒颗粒感染后17天,针对盒中的所有I类MHC限制性表位产生T细胞反应。

| 表位 | 短盒设计       |             |             |             |             |             |
|----|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|    | 9AA        | 17AA        | 25AA        | AAV         | RR          | DPP         |
| 1  | 2020+/-583 | 2505+/-1281 | 6844+/-956  | 1489+/-762  | 1675+/-690  | 1781+/-774  |
| 2  | 4472+/-755 | 3792+/-1319 | 7629+/-996  | 3851+/-1748 | 4726+/-1715 | 5868+/-1427 |
| 3  | 5830+/-315 | 3629+/-862  | 7253+/-491  | 4813+/-1761 | 6779+/-1033 | 7328+/-1700 |
| 4  | 5536+/-375 | 2446+/-955  | 2961+/-1487 | 4230+/-1759 | 6518+/-909  | 7222+/-1824 |
| 5  | 8800+/-0   | 7943+/-821  | 8423+/-442  | 8312+/-696  | 8800+/-0    | 1836+/-328  |

[0561] 在另一个实例中,构建一系列长疫苗盒并将其并入腺病毒载体中,其紧邻着原始的5个标志物表位含有另外16个具有已知CD8T细胞反应性的HLA-A\*02:01、A\*03:01和B\*44:05表位(图5A、图5B)。这些长盒的尺寸近似地模仿最终临床盒设计,并且仅表位相对于彼此的位置是不同的。对于长疫苗盒与短疫苗盒,CD8T细胞反应在量值和广度方面是相当的,证实(a)添加更多表位不会显著影响针对原始表位集合的免疫应答的量值,和(b)表位在盒中的位置基本上不影响随之而来的针对其的T细胞反应(表6)。

[0562] 表6:有关长盒中表位位置的影响的体内评价。ELISPOT数据指示,对于长疫苗盒与短疫苗盒,HLA-A2转基因小鼠在用 $5 \times 10^{10}$ 腺病毒病毒颗粒感染后17天,产生的T细胞反应的量值相当。

| 表位 | 长盒设计        |            |             |
|----|-------------|------------|-------------|
|    | 标准          | 乱序         | 短           |
| 1  | 863+/-1080  | 804+/-1113 | 1871+/-2859 |
| 2  | 6425+/-1594 | 28+/-62    | 5390+/-1357 |
| 3* | 23+/-30     | 36+/-18    | 0+/-48      |
| 4  | 2224+/-1074 | 2727+/-644 | 2637+/-1673 |
| 5  | 7952+/-297  | 8100+/-0   | 8100+/-0    |

[0564] \*疑似技术误差引起T细胞反应的缺乏。

[0565] XIV.B.4.用于免疫原性和毒理学研究的抗原盒设计

[0566] 总体而言,有关模型盒评价的发现(图2-5,表2-6)证实,对于模型疫苗盒,当采用“串珠(string of beads)”法在基于腺病毒的载体的背景下编码约20个表位时,实现强力的免疫原性。表位通过串接25聚体序列组装,所述序列各自嵌入在两侧上通过其天然、周围肽序列(例如在每一侧上的8个氨基酸残基)侧接的最小CD8<sup>+</sup> T细胞表位(例如9个氨基酸残

基)。如本文所用,“天然”或“原生”侧接序列是指给定表位在所述表位处于其源蛋白内的天然存在环境中的N和/或C末端侧接序列。例如,HCMV pp65 MHC I表位NLVPMVATV (SEQ ID NO:78) 是通过原生5'序列WQAGILAR (SEQ ID NO:85) 侧接于其5'端上并且通过原生3'序列QGQNLKYQ (SEQ ID NO:86) 侧接于其3'端上,由此产生在HCMV pp65源蛋白内发现的25聚体肽WQAGILARNLVPMVATVQGQNLKYQ (SEQ ID NO:87)。天然或原生序列还可指编码通过原生侧接序列侧接的表位的核酸序列。每个25聚体序列是直接连接到随后的25聚体序列。在最小CD8T细胞表位是大于或小于9个氨基酸的实例中,侧接肽长度可以经调整以使得总长度仍是25聚体肽序列。例如,10个氨基酸的CD8T细胞表位可通过8个氨基酸的序列和7个氨基酸侧接。多联体后接着是两个通用的II类MHC表位,包括所述表位是为了刺激CD4 T辅助细胞和改善疫苗盒抗原的总体体内免疫原性。(Alexander等人,1994;Panina-Bordignon等人,1989) II类表位是通过GPGPG氨基酸接头 (SEQ ID NO:56) 连接到最终I类表位。所述两个II类表位也通过GPGPG氨基酸接头 (SEQ ID NO:56) 彼此连接以及通过GPGPG氨基酸接头 (SEQ ID NO:56) 侧接于C末端上。看起来,表位的位置和数量基本上不影响T细胞识别或反应。靶向序列看起来还基本上不影响盒源性抗原的免疫原性。

[0567] 作为另一个实例,基于用模型盒获得的体外和体内数据(图2-5,表2-6),产生已知在非人类灵长类动物(NHP)、小鼠和人类中具有免疫原性的交替明确表征的T细胞表位的盒设计。所述全部嵌入天然25聚体序列中的20个表位之后是存在于所评价的所有模型盒中的两个通用II类MHC表位(图6)。使用此盒设计在多个物种中研究免疫原性以及药理学和毒理学研究。

[0568] XIV.B.5.30、40和50个抗原的抗原盒设计和评价

[0569] 设计具有30(L)、40(XL)或50(XXL)个表位的大抗原盒,各自是25个氨基酸长。表位是用以模拟包括肿瘤抗原的疾病抗原的人类、NHP和小鼠表位的混合。图29说明了来自各种物种的表位的一般组织化。所使用的模型抗原分别对于人类、灵长类动物和小鼠模型表位描述于表32、表33和表34中。表32、表33和表34各自描述表位位置、名称、最小表位描述和MHC类别。表32分别公开了SEQ ID NO 80-82、78-79、88-100、87和101-111,按列的顺序。表33分别公开了SEQ ID NO 112-141,按列的顺序。表34分别公开了SEQ ID NO 72、142-144、73、145-161、75-76和162-177,按列的顺序。

[0570] 将这些盒克隆到如所描述的ChAdV68和甲病毒疫苗载体中以评价较长多表位盒的功效。图30显示,大抗原盒中的每一者从ChAdV载体表达,如通过蛋白质印迹由至少一个预期尺寸的主要条带指示。

[0571] 如所描述对小鼠免疫接种以评价大盒的功效。通过以下分析表位AH1(上图)和SIINFEKL (SEQ ID NO:72) (下图)的T细胞反应:用ChAdV68载体免疫接种之后通过ICS和四聚体染色(分别为图31/表35和图32/表36)和用srRNA载体免疫接种之后通过ICS(图33/表37)。使用表达30(L)、40(XL)或50(XXL)个表位的ChAdV68和srRNA疫苗载体的免疫接种诱发对模型疾病表位的CD8+免疫应答。

[0572] 表32-大盒中的人类表位

| 每个盒中的表位位置 |    |     |                  |                 |                            |      |                 |     |     |
|-----------|----|-----|------------------|-----------------|----------------------------|------|-----------------|-----|-----|
| L         | XL | XXL | 名称               | 最小表位            | 25聚体                       | MHC  | 限制              | 品系  | 物种  |
| 3         | 3  | 3   | 3.5. 流感病毒 M      | GILGFVFTL       | PIISPLITGILGFVFTLTVPSERGL  | I 类  | A*02:01         | 人 类 | 人 类 |
| 6         | 6  | 6   | 6.4. HTLV-1 Tax  | LIIFGPVVY       | HFPGFGQSILIFGPVVYFGDCVQGD  | I 类  | A*02:01         | 人 类 | 人 类 |
| 9         | 9  | 9   | 9.3. EBV BMLF1   | GLCTIVAML       | RMQAIQNAGICTIVAMLEETFWLQ   | I 类  | A*02:01         | 人 类 | 人 类 |
| 12        | 12 | 12  | 12.1. HCMV pp65  | NIYPMVATV       | WQAGILARNIYPMVATVQGGNLRYQ  | I 类  | A*02:01         | 人 类 | 人 类 |
| 15        | 15 | 15  | 15.2. EBV LMP2A  | CLGGILTMV       | RTYGFVFMCLGGILTMVAGAVWLTV  | I 类  | A*02:01         | 人 类 | 人 类 |
| 18        | 18 | 18  | 18. CT83         | NTDNILAVY       | SSSGLINSNTDNILAVYDLSRDILN  | I 类  | A*01:01         | 人 类 | 人 类 |
| 21        | 21 | 21  | 21. MAGEA6       | EVDPIGHVY       | LVFGIELMEVDPIGHVYFATCLGL   | I 类  | B*35:01         | 人 类 | 人 类 |
| 25        | 25 | 25  | 25. CT83         | LIASSILCA       | MINFYLLASSILCALVFWKYRRFQ   | I 类  | A*02:01         | 人 类 | 人 类 |
| 28        | 31 | 31  | 28. FOXE1        | ALFPGAVPAA      | AAAAAAALFPGAVPAAARPPYPGAV  | I 类  | A*02:01         | 人 类 | 人 类 |
| 27        | 35 | 35  | 32. CT83         | VYDLSRDIL       | SNTDNILAVYDLSRDILNFPHSIA   | I 类  | A*24:02         | 人 类 | 人 类 |
| 30        | 38 | 38  | 36. MAGE3/6      | ASSLPTTMNY      | DPIDSPQAGASSLPTTMNYPWISDSY | I 类  | A*01:01         | 人 类 | 人 类 |
|           | 40 | 40  | 40. Influenza HA | PIYVKONTLKAT    | ITYGAPKPYVKONTLKATGMRNVP   | II 类 | DRB1*0101 / 人 类 | 人 类 | 人 类 |
|           | 44 | 44  | 44. CNV pp65     | LPLKMLNIPSNVH   | SITVYALPLKMLNIPSNVHHYPSA   | II 类 | DRB1*0101       | 人 类 | 人 类 |
|           | 47 | 47  | 47. EBV EBNA3A   | PEQWMFQGAPPSDGT | EGPMWVPEQWMFQGAPPSDGTDVYQH | II 类 | DRB1*0102       | 人 类 | 人 类 |
|           | 50 | 50  | 50. CNV pp65     | EHPFTTSQYRIQGL  | RGPOYSEHPFTTSQYRIQGLKYRHH  | II 类 | DRB1*1101       | 人 类 | 人 类 |

[0573]

[0574] 表33-大盒中的NHP表位

| 每个盒中的表位位置 |     |               |                 |                            |     |            |     |     |  |
|-----------|-----|---------------|-----------------|----------------------------|-----|------------|-----|-----|--|
| XL        | XXL | 名称            | 最小表位            | 25聚体                       | MHC | 限制         | 品系  | 物种  |  |
| 1         | 1   | Gag CM9       | CTPYDINQM       | MFQALISEGCTPYDINQMLNVLGIHQ | I类  | Mamu-A*01  | 恒河猴 | NHP |  |
| 4         | 4   | Tat TL8       | TPESANL         | SCSEADATTPESANLGEELSQLY    | I类  | Mamu-A*01  | 恒河猴 | NHP |  |
| 7         | 7   | Env C19       | CAPRGYALL       | WDARFRYCAPRGYALLRCNDTNYS   | I类  | Mamu-A*01  | 恒河猴 | NHP |  |
| 10        | 10  | Poi SV9       | SGPKTNIIV       | AFMLALTDSGPKTNIIVDSQVMGI   | I类  | Mamu-A*01  | 恒河猴 | NHP |  |
| 13        | 13  | Gag LW9       | LSPRTLNAW       | GNVWVHTPLSPRTLNAWVKAEEK    | I类  | Mamu-A*01  | 恒河猴 | NHP |  |
| 16        | 16  | Env LT9       | TPWPNASL        | AFRQVCHTTVPWPNASLTPKVNNET  | I类  | Mamu-A*01  | 恒河猴 | NHP |  |
| 19        | 19  | Ag858         | PNGTHSWEYWGADLN | VFNFPNGTHSWEYWGADLNAMKGD   | I类  | Mamu-DR*V  | 恒河猴 | NHP |  |
| 23        | 23  | HIV-1 Env     | YKTKVVKIEPIGV   | NWVSELYKTKVVKIEPIGVAPTAK   | I类  | Mamu-DR*V  | 恒河猴 | NHP |  |
| 26        | 26  | Gag TE15      | TEEAKQIVQRHLVE  | EKVKTTEEAKQIVQRHLVETGTE    | I类  | Mamu-DRB*  | 恒河猴 | NHP |  |
| 30        | 30  | CF-P-10 36-48 | AGSLQGWRRGAAG   | DQVESTAGSLQGWRRGAAGTAQAA   | I类  | Mafa-DRB1* | 食蟹猴 | NHP |  |
| 34        | 34  | CF-P-10 71-86 | EISTNRQAGVQYSRA | QELDESTNRQAGVQYSRADEEQ     | I类  | Mafa-DRB1* | 食蟹猴 | NHP |  |
| 38        | 38  | Env 338-346   | RPKQAWCWF       | FHSQPINERPKQAWCWFEGGSWEAI  | I类  | Mafa-A1*06 | 食蟹猴 | NHP |  |
| 42        | 42  | Nef 103-111   | RPKVPLRTM       | DDIDEEDDLVGSVVRPKVPLRTMS   | I类  | Mafa-A1*06 | 食蟹猴 | NHP |  |
| 45        | 45  | Gag 386-394   | GPRKPKCW        | PFAAQDIRGPRKPKCWNCSEKSHS   | I类  | Mafa-A1*06 | 食蟹猴 | NHP |  |
| 48        | 48  | Nef LT9       | LNWADKET        | RLLTARGLLNWADKETRTPKAKA    | I类  | Mafa-B*104 | 食蟹猴 | NHP |  |

[0575]

[0576] 表34-大盒中的小鼠表位

[0577]

80

[0579]

| 抗原数量 | 抗原                       | 平均值   | 标准偏差  | p 值   | N |
|------|--------------------------|-------|-------|-------|---|
| 20   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 5.308 | 0.660 | n/a   | 8 |
| 30   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 4.119 | 1.019 | 0.978 | 8 |
| 40   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 6.324 | 0.954 | 0.986 | 8 |
| 50   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 8.169 | 1.469 | 0.751 | 8 |
| 20   | AH1                      | 6.405 | 2.664 | n/a   | 8 |
| 30   | AH1                      | 4.373 | 1.442 | 0.093 | 8 |
| 40   | AH1                      | 4.126 | 1.135 | 0.050 | 8 |
| 50   | AH1                      | 4.216 | 0.808 | 0.063 | 8 |

[0580] 表36:经ChAd大盒处理的小鼠中对于AH1和SIINFEKL (SEQ ID NO:72) 抗原的平均四聚体+细胞。数据呈现为占总CD8细胞的百分比。显示了通过ANOVA以及图基检验获得的每组的平均值和标准偏差以及p值。所有p值均与MAG 20-抗原盒进行比较。

[0581]

| 抗原数量 | 抗原                       | 平均值    | 标准偏差  | p 值   | N |
|------|--------------------------|--------|-------|-------|---|
| 20   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 10.314 | 2.384 | n/a   | 8 |
| 30   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 4.551  | 2.370 | 0.003 | 8 |
| 40   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 5.186  | 3.254 | 0.009 | 8 |
| 50   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 14.113 | 3.660 | 0.072 | 8 |
| 20   | AH1                      | 6.864  | 2.207 | n/a   | 8 |
| 30   | AH1                      | 4.713  | 0.922 | 0.036 | 8 |
| 40   | AH1                      | 5.393  | 1.452 | 0.223 | 8 |
| 50   | AH1                      | 5.860  | 1.041 | 0.543 | 8 |

[0582] 表37:经SAM大盒处理的小鼠中响应于AH1和SIINFEKL (SEQ ID NO:72) 肽的平均IFNg+细胞。数据呈现为占总CD8细胞的百分比。显示了通过ANOVA以及图基检验获得的每组的平均值和标准偏差以及p值。所有p值均与MAG 20-抗原盒进行比较。

[0583]

| 抗原数量 | 抗原                       | 平均值   | 标准偏差  | p 值 | N |
|------|--------------------------|-------|-------|-----|---|
| 20   | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 1.843 | 0.422 | n/a | 8 |

[0584]

|    |                          |       |       |          |   |
|----|--------------------------|-------|-------|----------|---|
| 30 | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 2.112 | 0.522 | 0.879    | 7 |
| 40 | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 1.754 | 0.978 | 0.995    | 7 |
| 50 | SIINFEKL (SEQ ID NO: 72) | 1.409 | 0.766 | 0.606    | 8 |
| 20 | AH1                      | 3.050 | 0.909 | n/a      | 8 |
| 30 | AH1                      | 0.618 | 0.427 | 1.91E-05 | 7 |
| 40 | AH1                      | 1.286 | 0.284 | 0.001    | 7 |
| 50 | AH1                      | 1.309 | 1.149 | 0.001    | 8 |

[0585] XV.ChAd抗原盒递送载体

[0586] XV.A.ChAd抗原盒递送载体构建

[0587] 在一个实例中,将黑猩猩腺病毒(ChAd)工程化成用于抗原盒的递送载体。在另一个实例中,基于缺失E1(nt457至3014)和E3(nt 27,816-31,332)序列的AC\_000011.1(来自专利US 6083716的序列2)合成全长ChAdV68载体。插入处于CMV启动子/增强子控制下的报告基因代替缺失的E1序列。将此克隆转染至HEK293细胞中不会产生感染性病毒。为了确认野生型C68病毒的序列,从ATCC获得分离株VR-594,传代,并且然后独立地测序(SEQ ID NO:10)。当将AC\_000011.1序列与野生型ChAdV68病毒的ATCCVR-594序列(SEQ ID NO:10)相比较时,鉴定出6个核苷酸差异。在一个实例中,基于相应ATCCVR-594核苷酸在五个位置被取代的AC\_000011.1产生经修饰的ChAdV68载体(ChAdV68.5WTnt SEQ ID NO:1)。

[0588] 在另一个实例中,基于缺失E1(nt 577至3403)和E3(nt 27,816-31,332)序列并且相应ATCC VR-594核苷酸在四个位置被取代的AC\_000011.1产生经修饰的ChAdV68载体。插入处于CMV启动子/增强子控制下的GFP报告基因(ChAdV68.4WTnt.GFP;SEQ ID NO:11)或模型新抗原盒(ChAdV68.4WTnt.MAG25mer;SEQ ID NO:12)代替缺失的E1序列。

[0589] 在另一个实例中,基于缺失E1(nt 577至3403)和E3(nt 27,125-31,825)序列并且相应ATCC VR-594核苷酸在五个位置被取代的AC\_000011.1产生经修饰的ChAdV68载体。插入处于CMV启动子/增强子控制下的GFP报告基因(ChAdV68.5WTnt.GFP;SEQ ID NO:13)或模型新抗原盒(ChAdV68.5WTnt.MAG25mer;SEQ ID NO:2)代替缺失的E1序列。

[0590] 相关载体在下文描述:

[0591] -全长ChAdV68序列“ChAdV68.5WTnt”(SEQ ID NO:1);相应ATCC VR-594核苷酸在五个位置被取代的AC\_000011.1序列。

[0592] -ATCC VR-594C68(SEQ ID NO:10);独立测序;全长C68

[0593] -ChAdV68.4WTnt.GFP(SEQ ID NO:11);缺失E1(nt577至3403)和E3(nt 27,816-31,332)序列;相应ATCC VR-594核苷酸在四个位置被取代;插入处于CMV启动子/增强子控制下的GFP报告基因代替缺失的E1的AC\_000011.1

[0594] -ChAdV68.4WTnt.MAG25mer(SEQ ID NO:12);缺失E1(577至3403)和E3(nt27,816-31,332)序列;相应ATCCVR-594核苷酸在四个位置经取代;插入处于CMV启动子/增强子控制下的模型新抗原盒代替缺失的E1的AC\_000011.1

[0595] -ChAdV68.5WTnt.GFP(SEQ ID NO:13);缺失E1(nt 577至3403)和E3(nt 27,125-31,825)序列;相应ATCC VR-594核苷酸在五个位置被取代;插入处于CMV启动子/增强子控制下的GFP报告基因代替缺失的E1的AC\_000011.1

[0596] XV.B.ChAd抗原盒递送载体测试

[0597] XV.B.1.ChAd载体评价方法和材料

[0598] 使用脂染胺转染HEK293A细胞

[0599] 使用以下方案,制备ChAdV68构建体(ChAdV68.4WTnt.GFP、ChAdV68.5WTnt.GFP、ChAdV68.4WTnt.MAG25mer和ChAdV68.5WTnt.MA(325mer)的DNA并将其转染至HEK293A细胞中。

[0600] 用PacI消化10μg质粒DNA以释放病毒基因组。然后使用GeneJet DNA清除微柱(Thermo Fisher)根据制造商对长DNA片段的说明来纯化DNA,并且在20ul经预加热的水中洗脱;在洗脱步骤之前将柱在37度下静置0.5-1小时。

[0601] 在转染前,将HEK293A细胞以 $10^6$ 个细胞/孔的细胞密度引入6孔板中,保持14-18小时。用每孔1ml新鲜培养基(含青霉素/链霉素和谷氨酸的DMEM-10%hiFBS)覆盖细胞。在根据制造商的方案,用微升体积(2-4 $\mu$ l)脂染胺2000两次转染中使用每孔1-2 $\mu$ g的纯化DNA。将0.5ml含有转染混合物的OPTI-MEM培养基添加至每个孔中的1ml标准生长培养基中并在细胞上保持过夜。

[0602] 经转染的细胞培养物在37℃下温育至少5-7天。如果在转染后第7天未见到病毒蚀斑,则将细胞以1:4或1:6拆分,并且在37℃下温育以监测蚀斑的产生。或者,收集经转染的细胞并进行3个冷冻和解冻循环,并且使用细胞溶解产物感染HEK293A细胞并温育细胞直至观测到病毒蚀斑。

[0603] 使用磷酸钙将ChAdV68转染至HEK293A细胞中并产生第三代病毒原液

[0604] 使用以下方案,制备ChAdV68构建体(ChAdV68.4WTnt.GFP、ChAdV68.5WTnt.GFP、ChAdV68.4WTnt.MAG25mer、ChAdV68.5WTnt.MAG25mer)的DNA并将其转染至HEK293A细胞中。

[0605] 在转染前一天,将HEK293A细胞以 $10^6$ 个细胞/孔接种于6孔板的5%BS/DMEM/1XP/S、1XGlutamax中。每次转染需要两个孔。在转染前二至四小时,将培养基更换成新鲜培养基。用PacI使ChAdV68.4WTnt.GFP质粒线性化。然后,用酚氯仿提取经线性化的DNA并使用十分之一体积的3M乙酸钠pH 5.3和两体积的100%乙醇使其沉淀。通过以12,000 $\times$ g离心5分钟使沉淀的DNA成粒,然后用70%乙醇洗涤1次。将团粒空气干燥并重悬于50 $\mu$ L无菌水中。使用NanoDrop™(ThermoFisher)测定DNA浓度并将体积调整至5 $\mu$ gDNA/50 $\mu$ L。

[0606] 将169 $\mu$ L无菌水添加至微量离心管中。然后将5 $\mu$ L 2M  $\text{CaCl}_2$ 添加至水并通过移液轻轻地混合。将50 $\mu$ L DNA滴加至 $\text{CaCl}_2$ 水溶液。然后添加26微升2M  $\text{CaCl}_2$ 并通过用微量移液管移液两次轻轻地混合。这种最终溶液应由在250 $\mu$ L 0.25M  $\text{CaCl}_2$ 中的5 $\mu$ g DNA组成。然后制备含有250 $\mu$ L 2XHBS(Hepes缓冲溶液)的第二管。使用连接到Pipet-Aid空气的2mL无菌移液管缓慢鼓泡通过2XHBS溶液。同时,以逐滴方式添加于0.25M  $\text{CaCl}_2$ 溶液中的DNA溶液。在添加最终DNA液滴之后,继续鼓泡约5秒。然后在室温下温育溶液达20分钟,然后添加至293A细胞中。将250 $\mu$ L DNA/磷酸钙溶液滴加至前一天以 $10^6$ 个细胞/孔接种于6孔板中的293A细胞单层中。将细胞放回恒温箱中并温育过夜。24小时后更换培养基。72小时后,将细胞以1:6拆分至6孔板中。每天通过光学显微镜检查监测细胞单层的细胞病变效应(CPE)的迹象。转染后7-10天,观测到病毒蚀斑并通过用移液管移取孔中的培养基以使细胞升高来收集细胞单层。将收集的细胞和培养基转移至50mL离心管中,接着进行三轮冷冻解冻(在-80℃和37℃下)。随后的溶解产物,称为初代病毒原液,通过在桌上型离心机(4300Xg)上全速离心来澄清并使用一部分溶解产物(10-50%)感染T25烧瓶中的293A细胞。将感染的细胞温育48小时,然后在完全CPE下收集细胞和培养基。再次收集细胞,冷冻解冻并澄清,然后使用此第二代病毒原液感染以每个烧瓶 $1.5 \times 10^7$ 个细胞接种的T150烧瓶。一旦在72小时实现完全CPE后,就以与先前病毒原液相同的方式收集并处理培养基和细胞以产生第三代原液。

[0607] 在293F细胞中的制造

[0608] 在8%CO<sub>2</sub>的恒温箱中,在293FreeStyleT™(ThermoFisher)培养基中生长的293F细胞中产生ChAdV68病毒。感染当天,将细胞稀释至 $10^6$ 个细胞/毫升,并具有98%活力,并且在每个生产周期于1L摇瓶(Corning)中使用400mL。每次感染使用靶MOI>3.3的4mL第三代病毒原液。将细胞温育48-72小时,直至通过锥虫蓝测量到活力<70%。然后,通过全速桌上型离

离心机离心来收集经感染细胞并在1XPBS中洗涤,再离心,并且然后使其重悬于20mL的10mM Tris pH 7.4中。通过冷冻解冻3次将细胞团粒溶解并通过以4,300Xg离心5分钟使其澄清。

[0609] 通过CsCl离心纯化

[0610] 通过CsCl离心使病毒DNA纯化。执行两次不连续梯度操作。第一次是从细胞组分中纯化出病毒并且第二次是从细胞组分进一步优化分离并且将缺陷性粒子与感染性粒子分离。

[0611] 将10mL的1.2 (26.8g CsCl溶解于92mL的10mM Tris pH 8.0中)CsCl添加至异质同晶聚合物管中。然后,使用移液管递送至管底部,小心地添加8mL的1.4CsCl (53g CsCl溶解于87mL的10mM Tris pH 8.0中)。将澄清的病毒小心地铺在所述1.2层的顶部上。必要时,再添加10mM Tris以使各管平衡。然后将所述管置放于SW-32Ti旋转器中并在10℃下离心2小时30分钟。然后将所述管移至层流柜中并且使用18号针和10mL注射器抽吸病毒带。应避免取出污染性宿主细胞DNA和蛋白质。然后用10mM Tris pH 8.0将所述病毒带稀释至少2倍并如前所述铺在如上文所描述的不连续梯度上。如前所述进行操作,然而,此时进行所述操作过夜。次日,小心抽吸病毒带以避免抽吸出任何缺陷性粒子带。然后使用Slide-a-Lyzer™盒 (Pierce) 针对ARM缓冲液 (20mM Tris pH 8.0、25mM NaCl、2.5%甘油) 透析病毒。进行此操作3次,每次更换缓冲液保持1小时。然后将病毒等分以在-80℃下储存。

[0612] 病毒测定

[0613] 基于 $1.1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒 (VP) 的消光系数相当于在OD<sub>260nm</sub>下的吸光度值1,通过使用OD<sub>260</sub>测定来确定VP浓度。在病毒溶解缓冲液 (0.1% SDS、10mM Tris pH 7.4、1mM EDTA) 中制备腺病毒的两种稀释液 (1:5和1:10)。一式两份测量所述两种稀释液的OD并通过用OD<sub>260</sub>值乘以稀释因子乘以 $1.1 \times 10^{12}$ VP来测量每毫升VP浓度。

[0614] 利用病毒原液的限制性稀释测定来计算感染单位 (IU) 滴度。病毒起初在DMEM/5% NS/1XPS中100倍稀释并且随后,使用10倍稀释法稀释至 $1 \times 10^{-7}$ 。然后,将100μL这些稀释液添加至在之前至少一小时以 $3 \times 10^5$ 个细胞/孔接种于24孔板中的293A细胞中。一式两份地执行此操作。板在37℃下在CO<sub>2</sub> (5%) 温育箱中温育48小时。然后用1×PBS洗涤细胞,并且然后用100%冷甲醇 (-20℃) 固定。板然后在-20℃温育最少20分钟。用1XPBS洗涤各孔,然后在室温下在1XPBS/0.1% BSA中封闭1小时。添加兔抗Ad抗体 (Abcam, Cambridge, MA) 于封闭缓冲液中的1:8,000稀释液 (每孔0.25mL) 并在室温下温育1小时。用每孔0.5mL PBS洗涤各孔4次。每孔添加1000倍稀释的HRP缀合的山羊抗兔抗体 (Bethyl Labs, Montgomery Texas) 并温育1小时,然后进行最后一轮洗涤。进行5次PBS洗涤并使用含0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的Tris缓冲生理食盐水中的二氨基联苯胺四盐酸盐 (Diaminobenzidine tetrahydrochloride, DAB) 底物 (0.67mg/mL DAB于50mM Tris pH 7.5、150mM NaCl) 使所述板显色。使各孔显色5分钟,然后计数。使用产生每个视野4-40个经染色细胞的稀释液,在10X下对细胞计数。所用视野是0.32mm<sup>2</sup>栅格,相当于在24孔板上每个视野有625个栅格。可通过每个栅格中经染色细胞的数量乘以每个视野的栅格数量乘以稀释因子10来确定每毫升中感染性病毒的数量。类似地,当用GFP表达细胞操作时,可使用荧光而非衣壳染色来确定每毫升中GFP表达病毒粒子的数量。

[0615] 免疫接种

[0616] 经两侧肌肉内注射向C57BL/6J雌性小鼠和Balb/c雌性小鼠注射 $1 \times 10^8$ 个ChAdV68.5WTnt.MAG25mer病毒颗粒(VP), 体积为100uL(每条腿50uL)。

[0617] 脾细胞解离

[0618] 将每只小鼠的脾脏和淋巴结汇集于3mL完全RPMI (RPMI、10%FBS、青霉素/链霉素) 中。使用gentleMACS解离器(Miltenyi Biotec), 遵循制造商的方案进行机械解离。经由40微米过滤器过滤解离的细胞并用ACK溶解缓冲液(150mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、10mM  $\text{KHCO}_3$ 、0.1mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ) 溶解红细胞。再次经由30微米过滤器过滤细胞并且然后使其重悬于完全RPMI中。在Attune NxT流式细胞仪(Thermo Fisher) 上使用碘化丙锭染色对细胞计数以排除死亡和凋亡的细胞。然后将细胞调整至适当活细胞浓度以供后续分析。

[0619] 离体酶联免疫斑点(ELISPOT) 分析

[0620] ELISPOT分析是根据ELISPOT统一准则{DOI:10.1038/nprot.2015.068}, 利用小鼠IFN $\gamma$  ELISpotPLUS试剂盒(MABTECH) 进行。将 $5 \times 10^4$ 个脾细胞与10uM指定肽一起在包被有IFN $\gamma$ 抗体的96孔板中温育16小时。使用碱性磷酸酶使斑点显色。对反应定时10分钟并通过用自来水流过板终止反应。使用AID vSpot读取器谱图对斑点计数。对于ELISPOT分析, 将饱和度 $>50\%$ 的孔记录为“太多而无法计数”。将重复孔的偏差 $>10\%$ 的样品从分析中排除。然后, 使用下式, 针对孔汇合校正斑点计数: 斑点计数 $+2 \times (\text{斑点计数} \times \text{汇合}\% / [100\% - \text{汇合}\%])$ 。通过用抗原刺激的孔减去阴性肽刺激孔中的斑点计数来校正阴性背景。最后, 将标记为太多而无法计数的孔设定成最高观测校正值, 四舍五入至最接近的百分数。

[0621] XV.B.2. 在DNA转染后ChAdV68病毒递送粒子的制造

[0622] 在一个实例中, 将ChAdV68.4WTnt.GFP(图7) 和ChAdV68.5W Tnt.GFP(图8) DNA转染至HEK293A细胞中并且在转染后7-10天观测病毒复制(病毒蚀斑)。使用光学显微镜检查(图7A和图8A) 和荧光显微镜检查(图7B-C和图8B-C) 观测ChAdV68病毒蚀斑。GFP表示产毒ChAdV68病毒递送粒子的产生。

[0623] XV.B.3. ChAdV68病毒递送粒子扩增

[0624] 在一个实例中, 使ChAdV68.4WTnt.GFP、ChAdV68.5WTnt.GFP和ChAdV68.5WTnt.MAG25mer病毒在HEK293F细胞中扩增并且在转染后18天, 制备纯化的病毒原液(图9)。定量经纯化ChAdV68病毒原液中的病毒颗粒数并与使用相同方案制造的5型腺病毒(Ad5) 和ChAdVY25(密切相关的ChAdV; Dicks, 2012, PloS ONE 7, e40385) 病毒原液进行比较。ChAdV68病毒滴度与Ad5和ChAdVY25相当(表7)。

[0625] 表7. 在293F悬浮细胞中产生腺病毒载体

|        |                        |                                   |
|--------|------------------------|-----------------------------------|
| [0626] | 构建体                    | 平均VP/单元 $\pm$ SD                  |
|        | Ad5-载体(多载体)            | $2.96\text{e}4 \pm 2.26\text{e}4$ |
|        | Ad5-GFP                | $3.89\text{e}4$                   |
|        | chAdY25-GFP            | $1.75\text{e}3 \pm 6.03\text{e}1$ |
|        | ChAdV68.4WTnt.GFP      | $1.2\text{e}4 \pm 6.5\text{e}3$   |
|        | ChAdV68.5WTnt.GFP      | $1.8\text{e}3$                    |
|        | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer | $1.39\text{e}3 \pm 1.1\text{e}3$  |

[0627] \*SD仅在执行多个生产周期情况下报道

[0628] XV.B.4. 评价在肿瘤模型中的免疫原性

[0629] 在小鼠免疫原性研究中评价表达小鼠肿瘤抗原的C68载体以证实C68载体引起T细胞反应。在C57BL/6J雌性小鼠中测量针对I类MHC表位SIINFEKL (SEQ ID NO:72)的T细胞反应并且在Balb/c小鼠中测量针对I类MHC表位AH1-A5 (Slansky等人,2000,Immunity13:529-538)的T细胞反应。如图15中所示,在用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer免疫接种小鼠之后测量相对于对照的强烈的T细胞反应。当对C57BL/6J或Balb/c小鼠免疫接种ChAdV68.5WTnt.MAG25mer时,在免疫接种之后10天,在ELISpot测定中分别观测到每 $10^6$ 个脾细胞8957个或4019个斑点形成细胞(SFC)的平均细胞免疫应答。

[0630] 还在评估ChAdV和抗CTLA4抗体的共同施用的CT26肿瘤模型中评估肿瘤浸润性淋巴细胞。小鼠被植入CT26肿瘤细胞并且在植入7天后用ChAdV疫苗免疫接种并用抗CTLA4抗体(克隆9D9)或IgG处理作为对照。在免疫接种12天后分析肿瘤浸润性淋巴细胞。使用gentleMACS解离器(Miltenyi Biotec)和小鼠肿瘤解离试剂盒(Miltenyi Biotec)解离来自每个小鼠的肿瘤。经由30微米过滤器过滤解离细胞并使其重悬于完全RPMI中。在Attune NxT流式细胞仪(Thermo Fisher)上使用碘化丙锭染色对细胞计数以排除死亡和凋亡的细胞。然后将细胞调整至适当活细胞浓度以供后续分析。通过MHC-四聚体复合物鉴定抗原特异性细胞并用抗CD8和活力标志物共同染色。在初次免疫接种12天后收集肿瘤。

[0631] 肿瘤内的抗原特异性CD8<sup>+</sup>T细胞分别在经ChAdV、抗CTLA4和ChAdV+抗CTLA4处理的组中包含占总活细胞群的3.3%、2.2%或8.1%的中值(图41和表40)。用抗CTLA与活性ChAdV免疫接种的组合处理相比于单独ChAdV和单独抗CTLA4两者导致抗原特异性CD8<sup>+</sup>T细胞频率统计显著增加,从而说明抗CTLA4在与ChAdV68疫苗共同施用增加肿瘤内的浸润性T细胞数目。

[0632] 表40-CT26肿瘤中的四聚体+浸润性CD8<sup>+</sup>T细胞频率

|        | 处理                                      | 四聚体+中值% |
|--------|-----------------------------------------|---------|
| [0633] | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (ChAdV)          | 3.3     |
|        | 抗 CTLA4                                 | 2.2     |
|        | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (ChAdV) +抗 CTLA4 | 8.1     |

[0634] XVI. 甲病毒抗原盒递送载体

[0635] KVI.A. 甲病毒递送载体评价的材料和方法

[0636] 体外转录以产生RNA

[0637] 对于体外测试:通过用PmeI限制性消化使质粒DNA线性化,遵循制造商的方案(GeneJet DNA净化试剂盒,Thermo)进行柱纯化并用作模板。根据制造商的方案,使用RiboMAX大规模RNA生产系统(Promega),利用m<sup>7</sup>G帽类似物(Promega)进行体外转录。根据制造商的方案,使用RNeasy试剂盒(Qiagen)纯化mRNA。

[0638] 对于体内研究:产生RNA并且由TriLink Biotechnologies纯化并用Enzymatic Cap1封端。

[0639] RNA转染

[0640] 转染前约16小时,HEK293A细胞对于96孔以 $6 \times 10^4$ 个细胞/孔接种并且对于24孔以 $2 \times 10^5$ 个细胞/孔接种。使用MessengerMAX脂染胺(Invitrogen)并遵循制造商的方案,用mRNA转染细胞。对于96孔,每孔使用0.15 $\mu$ L脂染胺和10ng mRNA,并且对于24孔,每孔使用0.75 $\mu$ L脂染胺和150ng mRNA。GFP表达mRNA(TriLinkBiotechnologies)用作转染对照。

[0641] 荧光素酶测定

[0642] 使用ONE-Glo荧光素酶测定(Promega),遵循制造商的方案,在每种条件下于白色壁96孔板中一式三份进行荧光素酶报告基因测定。使用SpectraMax测量发光。

[0643] qRT-PCR

[0644] 在转染后2小时,用新鲜培养基冲洗经转染的细胞并且更换培养基以去除任何未经转染的mRNA。然后,在各种时间点,将细胞收集于RLT plus溶解缓冲液(Qiagen)中,使用QiaShredder(Qiagen)均质化并使用RNeasy试剂盒(Qiagen)提取RNA,所有操作均遵循制造商的方案。使用Nanodrop(Thermo Scientific)量化总RNA。每次反应使用20ng总RNA,使用Quantitect Probe One-Step RT-PCR试剂盒(Qiagen)在qTower<sup>3</sup>(Analytik Jena)上根据制造商的方案进行qRT-PCR。对于每个探针,一式三份地操作每个样品。肌动蛋白或GusB用作参考基因。定制引物/探针是由IDT产生(表8)。

[0645] 表8.qPCR引物/探针

[0646]

| 目标        |      |                                                 | SEQ ID NO: |
|-----------|------|-------------------------------------------------|------------|
| Luci      | 引物 1 | GTGGTGTGCAGCGAGAATAG                            | 178        |
|           | 引物 2 | CGCTCGTTGTAGATGTCGTTAG                          | 179        |
|           | 探针   | /56-FAM/TTGCAGTTC/ZEN/TTCATGCCCCGTGTTG/3IABkFQ/ | 180        |
| GusB      | 引物 1 | GTTTTTGATCCAGACCCAGATG                          | 181        |
|           | 引物 2 | GCCCATATTTCAGAGCGAGTA                           | 182        |
|           | 探针   | /56-FAM/TGCAGGGTT/ZEN/TCACCAGGATCCAC/3IABkFQ/   | 183        |
| ActB      | 引物 1 | CCTTGACATGCCGGAG                                | 184        |
|           | 引物 2 | ACAGAGCCTCGCCTTTG                               | 185        |
|           | 探针   | /56-FAM/TCATCCATG/ZEN/GTGAGCTGGCGG/3IABkFQ/     | 186        |
| MAG-25 聚体 | 引物 1 | CTGAAAGCTCGGTTTGCTAATG                          | 187        |
| 集合 1      | 引物 2 | CCATGCTGGAAGAGACAATCT                           | 188        |
|           | 探针   | /56-FAM/CGTTTCTGA/ZEN/TGGCGCTGACCGATA/3IABkFQ/  | 189        |
| MAG-25 聚体 | 引物 1 | TATGCCTATCCTGTCTCCTCTG                          | 190        |
| 集合 2      | 引物 2 | GCTAATGCAGCTAAGTCCTCTC                          | 191        |
|           | 探针   | /56-FAM/TGTTTACCC/ZEN/TGACCGTGCCTTCTG/3IABkFQ/  | 192        |

[0647] B16-OVA肿瘤模型

[0648] 在C57BL/6J小鼠左下方侧腹部中注射10<sup>5</sup>个B16-OVA细胞/动物。在免疫接种之前,使肿瘤生长3天。

[0649] CT26肿瘤模型

[0650] 在Balb/c小鼠左下方侧腹部中注射 $10^6$ 个CT26细胞/动物。在免疫接种之前,使肿瘤生长7天。

[0651] 免疫接种

[0652] 对于srRNA疫苗,经两侧肌肉内注射向小鼠注射10 $\mu$ gRNA,体积100 $\mu$ L(每条腿50 $\mu$ L)。对于Ad5疫苗,经两侧肌肉内注射向小鼠注射 $5 \times 10^{10}$ 个病毒颗粒(VP),体积100 $\mu$ L(每条腿50 $\mu$ L)。每周2次,经由腹膜内注射向动物注射250 $\mu$ g剂量的抗CTLA-4(克隆9D9, BioXcell)、抗PD-1(克隆RMP1-14, BioXcell)或抗IgG(克隆MPC-11, BioXcell)。

[0653] 体内生物发光成像

[0654] 在每个时间点,经由腹膜内注射向小鼠注射150mg/kg荧光素底物并且在注射后10-15分钟,使用IVIS体内成像系统(PerkinElmer)测量生物发光。

[0655] 脾细胞解离

[0656] 将每只小鼠的脾脏和淋巴结汇集于3mL完全RPMI(RPMI、10%FBS、青霉素/链霉素)中。使用gentleMACS解离器(Miltenyi Biotec),遵循制造商的方案进行机械解离。经由40微米过滤器过滤解离的细胞并用ACK溶解缓冲液(150mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、10mM  $\text{KHCO}_3$ 、0.1mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ )溶解红细胞。再次经由30微米过滤器过滤细胞并且然后使其重悬于完全RPMI中。在Attune NxT流式细胞仪(Thermo Fisher)上使用碘化丙锭染色对细胞计数以排除死亡和凋亡的细胞。然后将细胞调整至适当活细胞浓度以供后续分析。

[0657] 离体酶联免疫斑点(ELISPOT)分析

[0658] ELISPOT分析是根据ELISPOT统一准则{DOI:10.1038/nprot.2015.068},利用小鼠IFN $\gamma$  ELISpotPLUS试剂盒(MABTECH)进行。将 $5 \times 10^4$ 个脾细胞与10 $\mu$ M指定肽一起在包被有IFN $\gamma$ 抗体的96孔板中温育16小时。使用碱性磷酸酶使斑点显色。对反应定时10分钟并通过用自来水流过板终止反应。使用AID vSpot读取器谱图对斑点计数。对于ELISPOT分析,将饱和度 $>50\%$ 的孔记录为“太多而无法计数”。将重复孔的偏差 $>10\%$ 的样品从分析中排除。然后,使用下式,针对孔汇合校正斑点计数:斑点计数 $+2 \times (\text{斑点计数} \times \text{汇合}\% / [100\% - \text{汇合}\%])$ 。通过用抗原刺激的孔减去阴性肽刺激孔中的斑点计数来校正阴性背景。最后,将标记为太多而无法计数的孔设定成最高观测校正值,四舍五入至最接近的百分数。

[0659] XVI.B.甲病毒载体

[0660] XVI.B.1.甲病毒载体体外评价

[0661] 在本发明的一个实现方式中,由基于委内瑞拉马脑炎(Venezuelan Equine Encephalitis, VEE)(Kinney, 1986, Virology 152:400-413)的自我复制RNA(srRNA)载体产生用于抗原表达系统的RNA甲病毒骨架。在一个实例中,编码位于26S亚基因组启动子3'端的VEE结构蛋白的序列缺失(VEE序列7544至11,175缺失;编号基于Kinney等人1986;SEQ ID NO:6)并且用抗原序列(SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:4)或荧光素酶报告基因(例如VEE-荧光素酶,SEQ ID NO:15)替换(图10)。由srRNADNA载体体外转录RNA,将其转染至HEK293A细胞中并测量荧光素酶报告基因表达。此外,用编码荧光素酶的(非复制性)mRNA转染以供比较。当比较23小时测量值与2小时测量值时,对于VEE-荧光素酶srRNA观测到srRNA报告基因信号有约30,000倍增加(表9)。相比之下,在相同时间段内,mRNA报告基因展现 $<10$ 倍的信号增加(表9)。

[0662] 表9:来自VEE自我复制载体的荧光素酶的表达随时间增加。在96孔中用每孔

10ngVEE-荧光素酶srRNA或10ng非复制性荧光素酶mRNA(TriLink L-6307) 转染HEK293A细胞。在转染后各种时间测量发光。荧光素酶表达以相对发光单位(RLU) 报道。每个数据点是3个转染孔的平均值 $\pm$ SD。

[0663]

| 构建体   | 时间点(小时) | 平均 RLU      | 标准偏差<br>(三重复孔) |
|-------|---------|-------------|----------------|
| mRNA  | 2       | 878.6666667 | 120.7904522    |
| mRNA  | 5       | 1847.333333 | 978.515372     |
| mRNA  | 9       | 4847        | 868.3271273    |
| mRNA  | 23      | 8639.333333 | 751.6816702    |
| SRRNA | 2       | 27          | 15             |
| SRRNA | 5       | 4884.333333 | 2955.158935    |
| SRRNA | 9       | 182065.5    | 16030.81784    |
| SRRNA | 23      | 783658.3333 | 68985.05538    |

[0664] 在另一个实例中,通过使用定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR) 测量编码荧光素酶的srRNA(VEE-荧光素酶) 或编码多表位盒的srRNA(VEE-MAG25mer) 转染之后的RNA水平来直接验证srRNA的复制。对于VEE-荧光素酶srRNA观测到约150倍的RNA增加(表10), 而对于VEE-MAG25mer srRNA观测到30-50倍的RNA增加(表11)。这些数据证实,当转染至细胞中时, VEE srRNA载体复制。

[0665] 表10:VEE-荧光素酶srRNA转染的细胞中RNA复制的直接测量。用VEE-荧光素酶srRNA(150ng/孔,24孔) 转染HEK293A细胞并且在转染后各种时间,通过qRT-PCR定量RNA水平。基于肌动蛋白参考基因使每个测量值归一化并且呈递相对于2小时时间点的倍数变化。

[0666]

| 时间点(小时) | 荧光素酶 Ct | 肌动蛋白 Ct | dCt   | Ref dCt | ddCt  | 相对倍数变化 |
|---------|---------|---------|-------|---------|-------|--------|
| 2       | 20.51   | 18.14   | 2.38  | 2.38    | 0.00  | 1.00   |
| 4       | 20.09   | 18.39   | 1.70  | 2.38    | -0.67 | 1.59   |
| 6       | 15.50   | 18.19   | -2.69 | 2.38    | -5.07 | 33.51  |
| 8       | 13.51   | 18.36   | -4.85 | 2.38    | -7.22 | 149.43 |

[0667] 表11:VEE-MAG25mer srRNA转染的细胞中RNA复制的直接测量。用VEEMAG25mer srRNA(150ng/孔,24孔) 转染HEK293细胞并且在转染后各种时间,通过qRT-PCR定量RNA水平。基于GusB参考基因使每个测量值归一化并且呈递相对于2小时时间点的倍数变化。图上的不同线表示2个不同的qPCR引物/探针集,所述两个集合均检测srRNA的表位盒区。

[0668]

| 引物/探针 | 时间点(小时) | Ct    | GusB Ct | dCt   | Ref dCt | ddCt  | 相对倍数变化 |
|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|--------|
| 集合1   | 2       | 18.96 | 22.41   | -3.45 | -3.45   | 0.00  | 1.00   |
| 集合1   | 4       | 17.46 | 22.27   | -4.81 | -3.45   | -1.37 | 2.58   |
| 集合1   | 6       | 14.87 | 22.04   | -7.17 | -3.45   | -3.72 | 13.21  |
| 集合1   | 8       | 14.16 | 22.19   | -8.02 | -3.45   | -4.58 | 23.86  |
| 集合1   | 24      | 13.16 | 22.01   | -8.86 | -3.45   | -5.41 | 42.52  |
| 集合1   | 36      | 13.53 | 22.63   | -9.10 | -3.45   | -5.66 | 50.45  |
| 集合2   | 2       | 17.75 | 22.41   | -4.66 | -4.66   | 0.00  | 1.00   |
| 集合2   | 4       | 16.66 | 22.27   | -5.61 | -4.66   | -0.94 | 1.92   |
| 集合2   | 6       | 14.22 | 22.04   | -7.82 | -4.66   | -3.15 | 8.90   |

|     |    |       |       |       |       |       |       |
|-----|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 集合2 | 8  | 13.18 | 22.19 | -9.01 | -4.66 | -4.35 | 20.35 |
| 集合2 | 24 | 12.22 | 22.01 | -9.80 | -4.66 | -5.13 | 35.10 |
| 集合2 | 36 | 13.08 | 22.63 | -9.55 | -4.66 | -4.89 | 29.58 |

[0669] XVI.B.2. 甲病毒载体的体内评价

[0670] 在另一个实例中,在体内评价VEE-荧光素酶报告基因表达。对小鼠注射10 $\mu$ g包封于脂质纳米粒子(MC3)中的VEE-荧光素酶srRNA并且在注射后24小时和48小时以及7天和14天使其成像以测定生物发光信号。在注射后24小时检测到荧光素酶信号并且其随时间增加,并且在srRNA注射后7天出现峰值(图11)。

[0671] XVI.B.3. 甲病毒载体肿瘤模型评价

[0672] 在一个实现方式中,为了确定VEE srRNA载体是否在体内引导抗原特异性免疫应答,产生表达2种不同I类MHC小鼠肿瘤表位SIINFEKL(SEQ ID NO:72)和AH1-A5的VEE srRNA载体(VEE-UbAAY,SEQ ID NO:14)(Slansky等人,2000,Immunity 13:529-538)。利用B16-OVA黑色素瘤细胞系表达SFL(SIINFEKL(SEQ ID NO:72))表位,并且AH1-A5(SPSYAYHQF(SEQ ID NO:73);Slansky等人,2000,Immunity)表位诱导T细胞靶向由CT26结肠癌细胞系表达的相关表位(AH1/SPSYVYHQF(SEQ ID NO:193);Huang等人,1996,Proc Natl Acad Sci USA93:9730-9735)。在一个实例中,对于体内研究,通过使用T7聚合酶(TriLink Biotechnologies)体外转录来产生VEEUbAAY srRNA并且将其包封于脂质纳米粒子(MC3)中。

[0673] 在用MC3配制的VEE-UbAAY srRNA免疫接种带有B16-OVA肿瘤的小鼠之后两周,观测到相对于对照,靶向SFL的强烈抗原特异性T细胞反应。在一个实例中,在用SFL肽刺激之后,在ELISpot测定中测量到每10<sup>6</sup>个脾细胞3835个(中值)斑点形成细胞(SFC)(图12A,表12)并且如通过五聚体染色所测量,1.8%(中值)的CD8T细胞具有SFL抗原特异性(图12B,表12)。在另一个实例中,共施用抗CTLA-4单克隆抗体(mAb)和VEE srRNA疫苗引起总体T细胞反应的中度增加,并且在ELISpot测定中测量到每10<sup>6</sup>个脾细胞的4794.5个(中值)SFC(图12A,表12)。

[0674] 表12.在带有B16-OVA肿瘤的C57BL/6J小鼠中VEE srRNA免疫接种后14天ELISPOT和MHCI-五聚体染色测定的结果。

[0675]

| 组      | 小鼠 | SFC/1e6<br>个脾细胞 | 五聚体阳性<br>(CD8 的百<br>分比) | 组               | 小鼠 | SFC/1e6<br>个脾细胞 | 五聚体阳性<br>(CD8 的百<br>分比) |
|--------|----|-----------------|-------------------------|-----------------|----|-----------------|-------------------------|
| 对照     | 1  | 47              | 0.22                    | Vax             | 1  | 6774            | 4.92                    |
|        | 2  | 80              | 0.32                    |                 | 2  | 2323            | 1.34                    |
|        | 3  | 0               | 0.27                    |                 | 3  | 2997            | 1.52                    |
|        | 4  | 0               | 0.29                    |                 | 4  | 4492            | 1.86                    |
|        | 5  | 0               | 0.27                    |                 | 5  | 4970            | 3.7                     |
|        | 6  | 0               | 0.25                    |                 | 6  |                 | 4.13                    |
|        | 7  | 0               | 0.23                    |                 | 7  | 3835            | 1.66                    |
|        | 8  | 87              | 0.25                    |                 | 8  | 3119            | 1.64                    |
| aCTLA4 | 1  | 0               | 0.24                    | Vax +<br>aCTLA4 | 1  | 6232            | 2.16                    |
|        | 2  | 0               | 0.26                    |                 | 2  | 4242            | 0.82                    |
|        | 3  | 0               | 0.39                    |                 | 3  | 5347            | 1.57                    |
|        | 4  | 0               | 0.28                    |                 | 4  | 6568            | 2.33                    |
|        | 5  | 0               | 0.28                    |                 | 5  | 6269            | 1.55                    |
|        | 6  | 0               | 0.28                    |                 | 6  | 4056            | 1.74                    |
|        | 7  | 0               | 0.31                    |                 | 7  | 4163            | 1.14                    |
|        | 8  | 6               | 0.26                    |                 | 8  | 3667            | 1.01                    |

[0676] \*应注意,从Vax组中小鼠#6得到的结果由于三重复孔之间变化较大而从分析中排除。

[0677] 在另一个实现方式中,为反映临床方法,在B16-OVA和CT26小鼠肿瘤模型中进行异源初免/加强免疫,其中带有肿瘤的小鼠先用表达相同抗原盒的腺病毒载体(Ad5-UbAAY)免疫接种,接着在Ad5-UbAAY初免之后14天,用VEE-UbAAYsrRNA疫苗加强免疫。在一个实例中,通过Ad5-UbAAY疫苗诱发抗原特异性免疫应答,由此在ELISpot测定中测量到每 $10^6$ 个脾细胞7330个(中值)SFC(图13A,表13)并且通过五聚体染色测量到2.9%(中值)的CD8 T细胞靶向SFL抗原(图13C,表13)。在另一个实例中,在VEE-UbAAYsrRNA加强免疫之后2周,B16-OVA模型中仍维持T细胞反应,并且在ELISpot测定中测量到每 $10^6$ 个脾细胞3960个(中值)SFL特异性SFC(图13B,表13)并且通过五聚体染色测量到3.1%(中值)的CD8T细胞靶向SFL抗原(图13D,表13)。

[0678] 表13:用Ad5疫苗初免和srRNA加强免疫进行异源初免/加强免疫之后B16-OVA小鼠的免疫监测。

[0679] 第14天

[0682]

| 组          | 小鼠 | SFC/1e6<br>个脾细胞 | 五聚体阳性<br>(CD8 的百分比) | 组                      | 小鼠 | SFC/1e6<br>个脾细胞 | 五聚体阳性<br>(CD8 的百分比) |
|------------|----|-----------------|---------------------|------------------------|----|-----------------|---------------------|
| 对照         | 1  | 0               | 0.10                | Vax                    | 1  | 8514            | 1.87                |
|            | 2  | 0               | 0.09                |                        | 2  | 7779            | 1.91                |
|            | 3  | 0               | 0.11                |                        | 3  | 6177            | 3.17                |
|            | 4  | 46              | 0.18                |                        | 4  | 7945            | 3.41                |
|            | 5  | 0               | 0.11                |                        | 5  | 8821            | 4.51                |
|            | 6  | 16              | 0.11                |                        | 6  | 6881            | 2.48                |
|            | 7  | 0               | 0.24                |                        | 7  | 5365            | 2.57                |
|            | 8  | 37              | 0.10                |                        | 8  | 6705            | 3.98                |
| aCT<br>LA4 | 1  | 0               | 0.08                | Vax<br>+<br>aCT<br>LA4 | 1  | 9416            | 2.35                |
|            | 2  | 29              | 0.10                |                        | 2  | 7918            | 3.33                |
|            | 3  | 0               | 0.09                |                        | 3  | 10153           | 4.50                |
|            | 4  | 29              | 0.09                |                        | 4  | 7212            | 2.98                |
|            | 5  | 0               | 0.10                |                        | 5  | 11203           | 4.38                |
|            | 6  | 49              | 0.10                |                        | 6  | 9784            | 2.27                |

[0683]

|  |   |    |      |  |   |      |      |
|--|---|----|------|--|---|------|------|
|  | 7 | 0  | 0.10 |  | 8 | 7267 | 2.87 |
|  | 8 | 31 | 0.14 |  |   |      |      |

[0684] 第28天

[0687]

| 组          | 小鼠 | SFC/1e6<br>个脾细胞 | 五聚体阳性<br>(CD8 的百分比) | 组                      | 小鼠 | SFC/1e6<br>个脾细胞 | 五聚体阳性<br>(CD8 的百分比) |
|------------|----|-----------------|---------------------|------------------------|----|-----------------|---------------------|
| 对照         | 2  | 0               | 0.17                | Vax                    | 1  | 5033            | 2.61                |
|            | 4  | 0               | 0.15                |                        | 2  | 3958            | 3.08                |
|            | 6  | 20              | 0.17                |                        | 4  | 3960            | 3.58                |
| aCT<br>LA4 | 1  | 7               | 0.23                | Vax<br>+<br>aCT<br>LA4 | 4  | 3460            | 2.44                |
|            | 2  | 0               | 0.18                |                        | 5  | 5670            | 3.46                |
|            | 3  | 0               | 0.14                |                        |    |                 |                     |

[0688] 在另一个实现方式中,在Ad5-UbAAY初免和VEE-UbAAYsrRNA加强免疫之后,在CT26小鼠模型中观测到类似结果。在一个实例中,在Ad5-UbAAY初免(第14天)之后观测到AH1抗原特异性反应并且在ELISpot测定中测量到每 $10^6$ 个脾细胞平均5187个SFC(图14A,表14)并且在VEE-UbAAY srRNA加强免疫(第28天)之后于ELISpot测定中测量到每 $10^6$ 个脾细胞平均3799个SFC(图14B,表14)。

[0689] 表14. 在CT26肿瘤小鼠模型中异源初免/加强免疫之后的免疫监测。

| 第 12 天     |    |              | 第 21 天     |    |              |
|------------|----|--------------|------------|----|--------------|
| 组          | 小鼠 | SFC/1e6 个脾细胞 | 组          | 小鼠 | SFC/1e6 个脾细胞 |
| 对照         | 1  | 1799         | 对照         | 9  | 167          |
|            | 2  | 1442         |            | 10 | 115          |
|            | 3  | 1235         |            | 11 | 347          |
| aPD1       | 1  | 737          | aPD1       | 8  | 511          |
|            | 2  | 5230         |            | 11 | 758          |
|            | 3  | 332          | Vax        | 9  | 3133         |
| Vax        | 1  | 6287         |            | 10 | 2036         |
|            | 2  | 4086         |            | 11 | 6227         |
| Vax + aPD1 | 1  | 5363         | Vax + aPD1 | 8  | 3844         |
|            | 2  | 6500         |            | 9  | 2071         |
|            |    |              |            |    |              |
|            |    |              |            | 11 | 4888         |

[0692] XVII.ChAdV/srRNA组合肿瘤模型评价

[0693] 在鼠类CT26肿瘤模型中评价使用ChAdV68和自我复制RNA (srRNA) 的各种给药方案。

[0694] XVII.A ChAdV/srRNA组合肿瘤模型评价方法和材料

[0695] 肿瘤注射

[0696] 对Balb/c小鼠注射CT26肿瘤细胞系。肿瘤细胞注射之后7天,将小鼠随机分成不同研究组 (28-40只小鼠/组) 并开始治疗。在Balb/c小鼠左下方侧腹部中注射 $10^6$ 个CT26细胞/动物。在免疫接种之前,使肿瘤生长7天。研究组详细地描述于表15中。

[0697] 表15-ChAdV/srRNA组合肿瘤模型评价研究组

[0698]

| 组 | N  | 处理         | 剂量      | 体积       | 时程                   | 途径 |
|---|----|------------|---------|----------|----------------------|----|
| 1 | 40 | ChAdV68 对照 | 1e11 vp | 2x 50 uL | 第 0 天                | IM |
|   |    | srRNA 对照   | 10 ug   | 50 uL    | 第 14 天、第 28 天、第 42 天 | IM |
|   |    | 抗 PD1      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)       | IP |
| 2 | 40 | ChAdV68 对照 | 1e11 vp | 2x 50 uL | 第 0 天                | IM |
|   |    | srRNA 对照   | 10 ug   | 50 uL    | 第 14 天、第 28 天、第 42 天 | IM |
|   |    | 抗 IgG      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)       | IP |
| 3 | 28 | ChAdV68 疫苗 | 1e11 vp | 2x 50 uL | 第 0 天                | IM |
|   |    | srRNA 疫苗   | 10 ug   | 50 uL    | 第 14 天、第 28 天、第 42 天 | IM |
|   |    | 抗 PD1      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)       | IP |
| 4 | 28 | ChAdV68 疫苗 | 1e11 vp | 2x 50 uL | 第 0 天                | IM |
|   |    | srRNA 疫苗   | 10 ug   | 50 uL    | 第 14 天、第 28 天、第 42 天 | IM |
|   |    | 抗 IgG      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)       | IP |
| 5 | 28 | srRNA 疫苗   | 10 ug   | 50 uL    | 第 0 天、第 28 天、第 42 天  | IM |
|   |    | ChAdV68 疫苗 | 1e11 vp | 2x 50 uL | 第 14 天               | IM |
|   |    | 抗 PD1      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)       | IP |
| 6 | 28 | srRNA 疫苗   | 10 ug   | 50 uL    | 第 0 天、第 28 天、第 42 天  | IM |

[0699]

|   |    |            |         |          |                            |    |
|---|----|------------|---------|----------|----------------------------|----|
|   |    |            |         |          | 第 42 天                     |    |
|   |    | ChAdV68 疫苗 | 1e11 vp | 2x 50 uL | 第 14 天                     | IM |
|   |    | 抗 IgG      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)             | IP |
| 7 | 40 | srRNA 疫苗   | 10 ug   | 50 uL    | 第 0 天、第 14 天、第 28 天        | IM |
|   |    | 抗 PD1      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)             | IP |
| 8 | 40 | srRNA 疫苗   | 10 ug   | 50 uL    | 第 0 天、第 14 天、第 28 天、第 42 天 | IM |
|   |    | 抗 IgG      | 250 ug  | 100 uL   | 2 次/周(第 0 天起始)             | IP |

[0700] 免疫接种

[0701] 对于srRNA疫苗,经两侧肌肉内注射对小鼠注射10 ug VEE-MAG25mersrRNA,体积100 $\mu$ L(每条腿50uL)。对于C68疫苗,经两侧肌肉内注射对小鼠注射 $1 \times 10^{11}$ 个ChAdV68.5WTnt.MAG25mer病毒颗粒(VP),体积100uL(每条腿50uL)。每周2次,经由腹膜内注射对动物注射250ug剂量的抗PD-1(克隆RMP1-14,BioXcell)或抗IgG(克隆MPC-11,BioXcell)。

[0702] 脾细胞解离

[0703] 将每只小鼠的脾脏和淋巴结汇集于3mL完全RPMI(RPMI、10%FBS、青霉素/链霉素)中。使用gentleMACS解离器(Miltenyi Biotec),遵循制造商的方案进行机械解离。经由40微米过滤器过滤解离的细胞并用ACK溶解缓冲液(150mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、10mM  $\text{KHCO}_3$ 、0.1mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ )溶解红细胞。再次经由30微米过滤器过滤细胞并且然后使其重悬于完全RPMI中。

在AttuneNxt流式细胞仪(ThermoFisher)上使用碘化丙锭染色对细胞计数以排除死亡和凋亡的细胞。然后将细胞调整至适当活细胞浓度以供后续分析。

[0704] 离体酶联免疫斑点(ELISPOT)分析

[0705] ELISPOT分析是根据ELISPOT统一准则{DOI:10.1038/nprot.2015.068},利用小鼠IFN $\gamma$  ELISpotPLUS试剂盒(MABTECH)进行。将 $5 \times 10^4$ 个脾细胞与10 $\mu$ M指定肽一起在包被有IFN $\gamma$ 抗体的96孔板中温育16小时。使用碱性磷酸酶使斑点显色。对反应定时10分钟并通过用自来水流过板终止反应。使用AID vSpot读取器谱图对斑点计数。对于ELISPOT分析,将饱和度 $>50\%$ 的孔记录为“太多而无法计数”。将重复孔的偏差 $>10\%$ 的样品从分析中排除。然后,使用下式,针对孔汇合校正斑点计数:斑点计数 $+2 \times (\text{斑点计数} \times \text{汇合}\% / [100\% - \text{汇合}\%])$ 。通过用抗原刺激的孔减去阴性肽刺激孔中的斑点计数来校正阴性背景。最后,将标记为太多而无法计数的孔设定成最高观测校正值,四舍五入至最接近的百分数。

[0706] XVII.B在CT26肿瘤模型中ChAdV/srRNA组合的评价

[0707] 在CT26小鼠肿瘤模型中评价ChAdV68.5WTnt.MAG25mer/VEE-MAG25mer srRNA异源初免/加强免疫或VEE-MAG25mer srRNA同源初免/加强免疫疫苗的免疫原性和功效。对Balb/c小鼠注射CT26肿瘤细胞系。注射肿瘤细胞后7天,将小鼠随机分成不同研究组并开始治疗。研究组详细地描述于表15中并且较粗略地描述于表16中。

[0708] 表16-初免/加强免疫研究组

| 组 | 初免                              | 加强免疫                            |
|---|---------------------------------|---------------------------------|
| 1 | 对照                              | 对照                              |
| 2 | 对照 + 抗 PD-1                     | 对照 + 抗 PD-1                     |
| 3 | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer          | VEE-MAG25mer srRNA              |
| 4 | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer + 抗 PD-1 | VEE-MAG25mer srRNA + 抗 PD-1     |
| 5 | VEE-MAG25mer srRNA              | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer          |
| 6 | VEE-MAG25mer srRNA + 抗 PD-1     | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer + 抗 PD-1 |
| 7 | VEE-MAG25mer srRNA              | VEE-MAG25mer srRNA              |
| 8 | VEE-MAG25mer srRNA + 抗 PD-1     | VEE-MAG25mer srRNA + 抗 PD-1     |

[0710] 在初免疫疫苗接种之后14天收集脾脏进行免疫监测。一周两次获取肿瘤和体重测量值并监测存活情况。在所有活性疫苗组中观测到强烈的免疫应答。

[0711] 在第一次免疫接种之后14天,在ELISpot测定中,在分别免疫接种ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(ChAdV/第3组)、ChAdV68.5WTnt.MAG25mer+抗PD-1(ChAdV+PD-1/第4组)、VEEMAG25mer srRNA(srRNA/第5组与第7组的组合的中值)或VEEMAG25mer srRNA+抗PD-1(srRNA+PD-1/第6组与第8组的组合的中值)的小鼠中观测到每 $10^6$ 个脾细胞10,630个、12,976个、3319个或3745个斑点形成细胞(SFC)的中值细胞免疫应答(图16和表17)。相比之下,疫苗对照(第1组)或疫苗对照与抗PD-1的组合(第2组)分别展现每 $10^6$ 个脾细胞296个或285个SFC的中值细胞免疫应答。

[0712] 表17-在CT26肿瘤模型中的细胞免疫应答

|        | 处理                                          | 中值 SFC/10 <sup>6</sup> 个<br>脾细胞 |
|--------|---------------------------------------------|---------------------------------|
|        | 对照                                          | 296                             |
| [0713] | PD1                                         | 285                             |
|        | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (ChAdV)              | 10630                           |
|        | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer + PD1 (ChAdV + PD-1) | 12976                           |
|        | VEE-MAG25mer srRNA (srRNA)                  | 3319                            |
|        | VEE-MAG25mer srRNA + PD-1 (srRNA + PD1)     | 3745                            |

[0714] 与 ELISpot 数据一致, 在第一次免疫接种之后 14 天, 免疫接种 ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (ChAdV/第3组)、ChAdV68.5WTnt.MAG25mer+抗PD-1 (ChAdV+PD-1/第4组)、VEEMAG25mer srRNA (srRNA/第5组与第7组的组合的中值) 或 VEEMAG25mer srRNA+抗PD-1 (srRNA+PD-1/第6组与第8组的组合的中值) 的小鼠中分别有 5.6%、7.8%、1.8% 或 1.9% 的 CD8<sup>+</sup> T 细胞 (中值) 在细胞内细胞因子染色 (ICS) 分析中展现抗原特异性反应 (图 17 和表 18)。免疫接种疫苗对照或疫苗对照与抗PD-1 的组合的小鼠分别显示 0.2% 和 0.1% 的抗原特异性 CD8 反应。

[0715] 表 18- 在 CT26 肿瘤模型中的 CD8<sup>+</sup> T 细胞反应

|        | 处理                                          | 中值 CD8 IFN- $\gamma$ 阳性<br>百分比 |
|--------|---------------------------------------------|--------------------------------|
|        | 对照                                          | 0.21                           |
| [0716] | PD1                                         | 0.1                            |
|        | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (ChAdV)              | 5.6                            |
|        | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer + PD1 (ChAdV + PD-1) | 7.8                            |
|        | VEE-MAG25mer srRNA (srRNA)                  | 1.8                            |
|        | VEE-MAG25mer srRNA + PD-1 (srRNA + PD1)     | 1.9                            |

[0717] 在 CT26 结肠肿瘤模型中测量所有组的肿瘤生长情况, 并且到开始治疗后 21 天 (注射 CT-26 肿瘤细胞之后 28 天), 出现肿瘤生长。在开始治疗后 21 天, 基于较大肿瘤尺寸 (> 2500mm<sup>3</sup>) 处死小鼠; 因此, 仅呈现前 21 天以避免分析偏差。ChAdV68.5WTnt.MAG25mer 初免/VEEMAG25mer srRNA 加强免疫 (第 3 组)、ChAdV68.5WTnt.MAG25mer 初免/VEE-MAG25mer srRNA 加强免疫+抗PD-1 (第 4 组)、VEE-MAG25mer srRNA 初免/ChAdV68.5WTnt.MAG25mer 加强免疫 (第 5 组)、VEEMAG25mer srRNA 初免/ChAdV68.5WTnt.MAG25mer 加强免疫+抗PD-1 (第 6 组)、VEE-MAG25mer srRNA 初免/VEE-MAG25mer srRNA 加强免疫 (第 7 组) 和 VEE-MAG25mer srRNA 初免/VEE-MAG25mer srRNA 加强免疫+抗PD-1 (第 8 组) 在 21 天时的平均肿瘤体积分别为 1129、848、2142、1418、2198 和 1606mm<sup>3</sup> (图 18 和表 19)。疫苗对照或疫苗对照与抗PD-1 的组合的平均肿瘤体积分别为 2361 或 2067mm<sup>3</sup>。基于这些数据, 用 ChAdV68.5WTnt.MAG25mer/VEE-MAG25mer srRNA (第 3 组)、ChAdV68.5WTnt.MAG25mer/VEE-MAG25mer srRNA+抗PD-1 (第 4 组)、VEE-MAG25mer srRNA/ChAdV68.5WTnt.MAG25mer+抗PD-1 (第 6 组) 和 VEE-MAG25mer srRNA/VEE-MAG25mer srRNA+抗PD-1 (第 8 组) 的疫苗治疗在 21 天时引起肿瘤生长减慢, 明显不同于对照 (第 1 组)。

[0718] 表 19- 第 21 天测量的 CT26 模型的肿瘤尺寸

|        | 处理                | 肿瘤尺寸(mm <sup>3</sup> ) | SEM |
|--------|-------------------|------------------------|-----|
| [0719] | 对照                | 2361                   | 235 |
|        | PD1               | 2067                   | 137 |
| [0720] | chAdV/srRNA       | 1129                   | 181 |
|        | chAdV/srRNA + PD1 | 848                    | 182 |
|        | srRNA/chAdV       | 2142                   | 233 |
|        | srRNA/chAdV + PD1 | 1418                   | 220 |
|        | srRNA             | 2198                   | 134 |
|        | srRNA + PD1       | 1606                   | 210 |

[0721] 在CT-26肿瘤模型中,在开始治疗后,监测存活情况35天(注射CT-26肿瘤细胞之后42天)。在小鼠疫苗接种4个测试组合之后,观测到存活率提高。在疫苗接种之后,利用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初免/VEE-MAG25mer srRNA加强免疫与抗PD-1的组合(第4组;相对于对照组1,  $P < 0.0001$ )、VEE-MAG25mer srRNA初免/VEE-MAG25mer srRNA加强免疫与抗PD-1的组合(第8组;相对于对照组1,  $P = 0.0006$ )、ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初免/VEE-MAG25mer srRNA加强免疫(第3组;相对于对照组1,  $P = 0.0003$ )和VEE-MAG25mer srRNA初免/ChAdV68.5WTnt.MAG25mer加强免疫与抗PD-1的组合(第6组;相对于对照组1,  $P = 0.0016$ )的小鼠的存活率分别为64%、46%、41%和36%(图19和表20)。其余治疗组[VEE-MAG25mer srRNA初免/ChAdV68.5WTnt.MAG25mer加强免疫(第5组)、VEE-MAG25mer srRNA初免/VEE-MAG25mer srRNA加强免疫(第7组)和单独抗PD-1(第2组)]的存活率与对照组1无明显不同( $\leq 14\%$ )。

[0722] 表20-CT26模型中的存活率

|        | 时间<br>点 | 对<br>照 | PD<br>1 | chAdV<br>/<br>srRNA | chAdV/<br>srRNA +<br>PD1 | srRNA<br>/<br>chAdV | srRNA/<br>chAdV +<br>PD1 | srRN<br>A | srRNA +<br>PD1 |
|--------|---------|--------|---------|---------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|-----------|----------------|
| [0723] | 0       | 100    | 100     | 100                 | 100.00                   | 100.00              | 100                      | 100       | 100            |
|        | 21      | 96     | 100     | 100                 | 100                      | 100                 | 95                       | 100       | 100            |
|        | 24      | 54     | 64      | 91                  | 100                      | 68                  | 82                       | 68        | 71             |
|        | 28      | 21     | 32      | 68                  | 86                       | 45                  | 68                       | 21        | 64             |
|        | 31      | 7      | 14      | 41                  | 64                       | 14                  | 36                       | 11        | 46             |
|        | 35      | 7      | 14      | 41                  | 64                       | 14                  | 36                       | 11        | 46             |

[0724] 总之,相对于对照,ChAdV68.5WTnt.MAG25mer和VEEMAG25mer srRNA引起针对由疫苗编码的小鼠肿瘤抗原的强烈T细胞反应。向带有肿瘤的小鼠施用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初免和VEEMAG25mer srRNA加强免疫并且共施用或不共施用抗PD-1、施用VEEMAG25mer srRNA初免和ChAdV68.5WTnt.MAG25mer加强免疫与抗PD-1的组合或施用作为同源初免加强免疫的VEE-MAG25mer srRNA与抗PD-1的组合使存活率提高。

[0725] XVIII.非人类灵长类动物研究

[0726] 在非人类灵长类动物(NHP)中评价使用ChAdV68和自我复制RNA(srRNA)的各种给药方案。

[0727] 材料和方法

[0728] 向每个NHP中肌肉内注射初免疫苗以起始研究(疫苗初免)。还向每个NHP中肌肉内注射一种或多种加强免疫疫苗(疫苗加强免疫)。根据表格中概述的组施用每剂两侧注射液

并且在下文概述。

[0729] 免疫接种

[0730] 对Mamu-A\*01印度恒河猴两侧免疫接种以LNP-1或LNP-2配制的 $1 \times 10^{12}$ 个ChAdV68.5WTnt.MAG25mer病毒颗粒(每侧注射 $5 \times 10^{11}$ 个病毒颗粒)、30 $\mu$ g VEE-MAG25MER srRNA、100 $\mu$ g VEE-MA G25mer srRNA或300ug VEE-MAG25mer srRNA。在初免疫疫苗接种后指定时间时,经肌肉内施用30ug、100ug或300ug VEE-MA G25mer srRNA的疫苗加强免疫。

[0731] 免疫监测

[0732] 在初免疫疫苗接种后指定时间时,使用淋巴细胞分离培养基(Lymphocyte Separation Medium, LSM; MP Biomedicals)和LeucoSep分离管(Greiner Bio-One)分离PBMC并使其重悬于含有10%FBS和青霉素/链霉素的RPMI中。在AttuneNxT流式细胞仪(ThermoFisher)上使用碘化丙锭染色对细胞计数以排除死亡和凋亡的细胞。然后将细胞调整至适当活细胞浓度以供后续分析。对于研究中的每只猴,使用ELISpot或流式细胞术方法测量T细胞反应。通过使用离体酶联免疫斑点(ELISpot)分析测量例如IFN- $\gamma$ 的细胞因子的诱导来监测PBMC中针对疫苗中编码的6个不同恒河猴Mamu-A\*01的I类表位的T细胞反应。ELISpot分析是根据ELISPOT统一准则{DOI:10.1038/nprot.2015.068},利用猴IFNg ELISpotPLUS试剂盒(MABTECH)进行。将200,000个PBMC与10uM指定肽一起在包被有IFNg抗体的96孔板中温育16小时。使用碱性磷酸酶使斑点显色。对反应定时10分钟并通过用自来水流过板终止反应。使用AID vSpot读取器谱图对斑点计数。对于ELISPOT分析,将饱和度>50%的孔记录为“太多而无法计数”。将重复孔的偏差>10%的样品从分析中排除。然后,使用下式,针对孔汇合校正斑点计数:斑点计数+2 $\times$ (斑点计数 $\times$ 汇合%/[100%-汇合%])。通过用抗原刺激的孔减去阴性肽刺激孔中的斑点计数来校正阴性背景。最后,将标记为太多而无法计数的孔设定成最高观测校正值,四舍五入至最接近的百分数。

[0733] 通过使用流式细胞术测量例如IFN- $\gamma$ 的细胞内细胞因子的诱导来监测PBMC中针对疫苗中编码的6个不同恒河猴Mamu-A\*01的I类表位的特异性CD4和CD8 T细胞反应。由两种方法得到的结果指示,以抗原特异性方式诱导针对表位的细胞因子。

[0734] 恒河猴中的免疫原性

[0735] 本研究被设计用于(a)评价30 $\mu$ g和100 $\mu$ g剂量VEE-MAG25mersrRNA以同源初免/加强免疫形式与ChAdV68.5WTnt.MAG25mer的组合的免疫原性和初步安全性;(b)比较在使用LNP1相对LNP2的脂质纳米粒子中VEE-MAG25mer srRNA的免疫应答;(c)评价针对VEE-MAG25mer srRNA和ChAdV68.5WTnt.MAG25mer免疫接种的T细胞反应的动力学。

[0736] 所述研究组是在Mamu-A\*01印度恒河猴中进行以展示免疫原性。用于本研究中的选择抗原仅在恒河猴中识别到,具体来说,具有Mamu-A\*01I类MHC单倍型的抗原。将Mamu-A\*01印度恒河猴随机分成不同研究组(6只恒河猴/组)并且经两侧IM注射施用编码包括多个Mamu-A\*01限制性表位的模型抗原的ChAdV68.5WTnt.MAG25mer或VEEMAG25mer srRNA载体。研究组如下所述。

[0737] 表21:印度恒河猴中的非GLP免疫原性研究

| 组 | 初免                                           | 加强免疫 1                                    | 加强免疫 2                                       |
|---|----------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------|
| 1 | VEE-MAG25mer<br>srRNA<br>-LNP1(30 $\mu$ g)   | VEE-MAG25mer srRNA<br>-LNP1 (30 $\mu$ g)  | VEE-MAG25mer<br>srRNA<br>-LNP1 (30 $\mu$ g)  |
| 2 | VEE-MAG25mer<br>srRNA<br>-LNP1 (100 $\mu$ g) | VEE-MAG25mer srRNA<br>-LNP1 (100 $\mu$ g) | VEE-MAG25mer<br>srRNA<br>-LNP1 (100 $\mu$ g) |
| 3 | VEE-MAG25mer<br>srRNA<br>-LNP2 (100 $\mu$ g) | VEE-MAG25mer srRNA<br>-LNP2 (100 $\mu$ g) | VEE-MAG25mer<br>srRNA<br>-LNP2 (100 $\mu$ g) |
| 4 | ChAdV68.5WTnt.<br>MAG25mer                   | VEE-MAG25mer srRNA<br>-LNP1 (100 $\mu$ g) | VEE-MAG25mer<br>srRNA<br>-LNP1 (100 $\mu$ g) |

[0739] 在免疫接种之前以及在初始免疫接种之后第1周、第2周、第3周、第4周、第5周、第6周、第8周、第9周和第10周收集PBMC以供免疫监测。

[0740] 结果

[0741] 在免疫接种之前以及在初始免疫接种之后第1周、第2周、第3周、第4周、第5周、第6周、第8周、第9周和第10周针对六种不同Mamu-A\*01限制性表位测量外周血液单核细胞(PBMC)的抗原特异性细胞免疫应答。动物在第4周和第8周接受30 $\mu$ g或100 $\mu$ g剂量并以LNP1或LNP2配制的VEE-MAG25mer srRNA的加强免疫接种,如表21中所描述。标绘在每个免疫监测时间点下针对全部六个表位的组合免疫应答(图20A-D和表22-25)。

[0742] 在初始VEE-MAG25mer srRNA-LNP1(30 $\mu$ g)初次免疫接种之后第1周、第2周、第3周、第4周、第5周、第6周、第8周、第9周或第10周在所有测量下观测到组合的抗原特异性免疫应答,分别为每10<sup>6</sup>个PBMC 170、14、15、11、7、8、14、17、12个SFC(六个表位组合)(图20A)。在初始VEE-MAG25mer srRNA-LNP1(100 $\mu$ g)初次免疫接种之后第1周、第2周、第3周、第4周、第5周、第6周、第8周、第9周或第10周在所有测量下观测到组合的抗原特异性免疫应答,分别为每10<sup>6</sup>个PBMC 108、-3、14、1、37、4、105、17、25个SFC(六个表位组合)(图20B)。在初始VEE-MAG25mer srRNA-LNP2(100 $\mu$ g)初次免疫接种之后第1周、第2周、第3周、第4周、第5周、第6周、第8周、第9周或第10周在所有测量下观测到组合的抗原特异性免疫应答,分别为每10<sup>6</sup>个PBMC -17、38、14、-2、87、21、104、129、89个SFC(六个表位组合)(图20C)。负值是每个表位/动物的相对于放血前值的归一化结果。

[0743] 在初始ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初次免疫接种之后第1周、第2周、第3周、第4周、第5周、第6周、第8周、第9周或第10周在所有测量下观测到组合的抗原特异性免疫应答,分别为每10<sup>6</sup>个PBMC 1218、1784、1866、973、1813、747、797、1249和547个SFC(六个表位组合)(图20D)。免疫应答显示出预期的型态,其中在初次免疫接种之后约2-3周测量到峰值免疫应答,接着在4周后免疫应答缩减。在用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初始免疫接种之后5周(即,在用VEEMAG25mer srRNA第一加强免疫之后1周)测量到每10<sup>6</sup>个PBMC 1813个SFC的组合的抗原特异性细胞免疫应答(六个表位组合)。在用VEEMAG25mer srRNA第一加强免疫之后1周(第5周)测量到的免疫应答与针对ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初次免疫接种(第3周)测量到的峰值免疫应答相当(图20D)。分别在用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初始免疫接种之后9周(即,用VEE-MAG25mer srRNA第二加强免疫之后1周)测量到每10<sup>6</sup>个PBMC 1249个SFC的组合的抗原特异性细胞免疫应答(六个表位组合)。在用VEE-MAG25mer srRNA第二加强免疫之

后1周(第9周)测量到的免疫应答比即将加强免疫接种之前测量到的免疫应答高约2倍(图20D)。

[0744] 表22:对于VEE-MAG25mer srRNA-LNP1 (30 $\mu$ g) (第1组)的每个表位每10<sup>6</sup>个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数 $\pm$ SEM

| 周  | 抗原              |                 |                |               |                 |                 |
|----|-----------------|-----------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------|
|    | Env CL9         | Env TL9         | Gag CM9        | Gag LW9       | Pol SV9         | Tat TL8         |
| 1  | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0     | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0       |
| 2  | 39.7 $\pm$ 22.7 | 35.4 $\pm$ 25.1 | 3.2 $\pm$ 3.6  | 33 $\pm$ 28.1 | 30.9 $\pm$ 20.3 | 28.3 $\pm$ 17.5 |
| 3  | 2 $\pm$ 2.4     | 0.2 $\pm$ 1.8   | 1.8 $\pm$ 2.4  | 3.7 $\pm$ 1.9 | 1.7 $\pm$ 2.8   | 4.9 $\pm$ 2.3   |
| 4  | 1 $\pm$ 1.8     | 0.3 $\pm$ 1.2   | 5.5 $\pm$ 3.6  | 2.3 $\pm$ 2.2 | 5.7 $\pm$ 2.7   | 0.8 $\pm$ 0.8   |
| 5  | 0.5 $\pm$ 0.9   | 1.4 $\pm$ 3.8   | 3.1 $\pm$ 1.6  | 2.3 $\pm$ 2.7 | 1.9 $\pm$ 2     | 1.4 $\pm$ 1.2   |
| 6  | 1.9 $\pm$ 1.8   | -0.3 $\pm$ 3    | 1.7 $\pm$ 1.2  | 1.4 $\pm$ 1.4 | 0.8 $\pm$ 1.1   | 1.1 $\pm$ 1     |
| 8  | -0.4 $\pm$ 0.8  | -0.9 $\pm$ 2.9  | 0.5 $\pm$ 1.3  | 3 $\pm$ 1.1   | 2.2 $\pm$ 2.1   | 3.7 $\pm$ 2     |
| 9  | 1 $\pm$ 1.7     | 1.2 $\pm$ 4.2   | 7.2 $\pm$ 3.9  | 0.5 $\pm$ 0.7 | 1.6 $\pm$ 3     | 3 $\pm$ 1       |
| 10 | 3.8 $\pm$ 1.8   | 11 $\pm$ 5      | -1.1 $\pm$ 1.1 | 1.9 $\pm$ 0.9 | 1.3 $\pm$ 1.6   | 0.2 $\pm$ 0.5   |

[0746] 表23:对于VEE-MAG25mer srRNA-LNP1 (100 $\mu$ g) (第2组)的每个表位每10<sup>6</sup>个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数 $\pm$ SEM

| 周  | 抗原             |                 |                |                 |               |                |
|----|----------------|-----------------|----------------|-----------------|---------------|----------------|
|    | Env CL9        | Env TL9         | Gag CM9        | Gag LW9         | Pol SV9       | Tat TL8        |
| 1  | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0     | 0 $\pm$ 0      |
| 2  | 7.9 $\pm$ 17.2 | 23.2 $\pm$ 17.4 | 11.4 $\pm$ 4.9 | 41.7 $\pm$ 16.5 | 15 $\pm$ 13.5 | 8.9 $\pm$ 6.2  |
| 3  | -3.1 $\pm$ 4.6 | -7.2 $\pm$ 6.5  | 2.3 $\pm$ 2.3  | -0.3 $\pm$ 2.7  | 2.7 $\pm$ 5.1 | 2.2 $\pm$ 1.4  |
| 4  | 1.9 $\pm$ 3.8  | -6.2 $\pm$ 7.6  | 10.5 $\pm$ 4.1 | 1.2 $\pm$ 2.9   | 5.6 $\pm$ 4.9 | 1.1 $\pm$ 0.8  |
| 5  | -2.6 $\pm$ 7   | -8 $\pm$ 5.9    | 1.5 $\pm$ 1.7  | 6.4 $\pm$ 2.3   | 0.7 $\pm$ 4.3 | 3.3 $\pm$ 1.3  |
| 6  | 6.3 $\pm$ 6.3  | 4.4 $\pm$ 8.3   | 6.6 $\pm$ 4.4  | 5.2 $\pm$ 5.2   | 3.9 $\pm$ 5   | 10.8 $\pm$ 6.9 |
| 8  | -3.6 $\pm$ 7.2 | -6.8 $\pm$ 7.3  | -0.8 $\pm$ 1.2 | 3.4 $\pm$ 4.2   | 6.4 $\pm$ 7.5 | 5.7 $\pm$ 2.7  |
| 9  | 8.1 $\pm$ 2.4  | 20.6 $\pm$ 23.4 | 18.9 $\pm$ 5.7 | 8.1 $\pm$ 8.9   | 9 $\pm$ 11.2  | 40 $\pm$ 17.6  |
| 10 | 3.1 $\pm$ 8    | -3.9 $\pm$ 8.5  | 3.3 $\pm$ 1.8  | 0.6 $\pm$ 2.9   | 7.4 $\pm$ 6.4 | 6.1 $\pm$ 2.5  |

[0748] 表24:对于VEE-MAG25mer srRNA-LNP2 (100 $\mu$ g) (第3组)的每个表位每10<sup>6</sup>个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数 $\pm$ SEM

| 周  | 抗原              |                |                 |                 |                 |                 |
|----|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|    | Env CL9         | Env TL9        | Gag CM9         | Gag LW9         | Pol SV9         | Tat TL8         |
| 1  | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0      | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0       | 0 $\pm$ 0       |
| 2  | -5.9 $\pm$ 3.8  | -0.3 $\pm$ 0.5 | -0.5 $\pm$ 1.5  | -5.7 $\pm$ 6.1  | -1 $\pm$ 1.3    | -3.2 $\pm$ 5.5  |
| 3  | 0.7 $\pm$ 5.2   | 3.4 $\pm$ 2.4  | 4.2 $\pm$ 4.6   | 18.3 $\pm$ 15.5 | 11.9 $\pm$ 5.1  | -0.4 $\pm$ 8.2  |
| 4  | -3.8 $\pm$ 5.5  | 2.3 $\pm$ 1.8  | 11.3 $\pm$ 6.1  | -3.1 $\pm$ 5.6  | 8.5 $\pm$ 4     | -1.5 $\pm$ 6.1  |
| 5  | -3.7 $\pm$ 5.7  | -0.1 $\pm$ 0.7 | -0.2 $\pm$ 1.6  | 3.4 $\pm$ 8.5   | 3 $\pm$ 3.1     | -4.6 $\pm$ 5    |
| 6  | 12.3 $\pm$ 15   | 7.8 $\pm$ 4.9  | 24.7 $\pm$ 19.8 | 23.2 $\pm$ 22.5 | 18.7 $\pm$ 15.8 | 0.5 $\pm$ 6.2   |
| 8  | 5.9 $\pm$ 12.3  | -0.1 $\pm$ 0.7 | -0.5 $\pm$ 1.3  | 8.8 $\pm$ 14.4  | 8.7 $\pm$ 8     | -1.3 $\pm$ 4    |
| 9  | 16.1 $\pm$ 13.4 | 16.5 $\pm$ 4   | 22.9 $\pm$ 4.2  | 13 $\pm$ 13.2   | 16.4 $\pm$ 7.8  | 19.6 $\pm$ 9.2  |
| 10 | 29.9 $\pm$ 21.8 | 22 $\pm$ 19.5  | 0.5 $\pm$ 2.6   | 22.2 $\pm$ 22.6 | 35.3 $\pm$ 15.8 | 19.4 $\pm$ 17.3 |

[0751] 表25:对于ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初免的每个表位每10<sup>6</sup>个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数 $\pm$ SEM

| 周  | 抗原          |             |             |           |            |             |
|----|-------------|-------------|-------------|-----------|------------|-------------|
|    | Env CL9     | Env TL9     | Gag CM9     | Gag LW9   | Pol SV9    | Tat TL8     |
| 1  | 178±68.7    | 206.5±94.8  | 221.2±120   | 15.4±16.7 | 33.3±25.9  | 563.5±174.4 |
| 2  | 311.2±165.5 | 278.8±100.9 | 344.6±110.8 | 46.3±13.5 | 181.6±76.8 | 621.4±220.9 |
| 3  | 277.3±101.1 | 359.6±90.5  | 468.2±106.6 | 41.7±11.1 | 169.8±57.8 | 549.4±115.7 |
| 4  | 140±46.5    | 169.6±46.8  | 239.4±37    | 26.5±11.4 | 75±31.6    | 322.2±50.7  |
| 5  | 155.6±62.1  | 406.7±96.4  | 542.7±143.3 | 35.1±16.6 | 134.2±53.7 | 538.5±91.9  |
| 6  | 78.9±42.5   | 95.5±29.4   | 220.9±75.3  | -1.4±5.3  | 43.4±19.6  | 308.1±42.6  |
| 8  | 88.4±30.4   | 162.1±30.3  | 253.4±78.6  | 21.4±11.2 | 53.7±22.3  | 217.8±45.2  |
| 9  | 158.5±69    | 322.3±87.2  | 338.2±137.1 | 5.6±12.4  | 109.2±17.9 | 314.8±43.4  |
| 10 | 97.3±32.5   | 133.2±27    | 154.9±59.2  | 10±6      | 26±16.7    | 125.5±27.7  |

## [0753] 结果

[0754] 用ChAdV68.5-WTnt.MAG25mer免疫接种Mamu-A\*01印度恒河猴。在免疫接种之前以及在初始免疫接种之后第4周、第5周、第6周、第7周、第8周、第10周、第11周、第12周、第13周、第14周、第15周、第16周、第17周、第18周、第19周、第20周、第21周、第22周、第23周或第24周针对六种不同Mamu-A\*01限制性表位测量外周血液单核细胞(PBMC)的抗原特异性细胞免疫应答(图21和表27)。动物在第4周、第12周和第20周接受使用LNP2制剂的VEE-MAG25mer srRNA加强免疫接种。在用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初始免疫接种之后第4周、第5周、第6周、第7周、第8周、第10周、第11周、第12周、第13周、第14周、第15周、第16周、第17周、第18周、第19周、第20周、第21周、第22周、第23周或第24周测量到每 $10^6$ 个PBMC 1750、4225、1100、2529、3218、1915、1708、1561、5077、4543、4920、5820、3395、2728、1996、1465、4730、2984、2828或3043个SFC的組合的抗原特异性免疫应答(六个表位組合)(图21)。在用VEE-MAG25mer srRNA第二加强免疫接种之后1周(第13周)测量到的免疫应答比在即将加强免疫接种之前(第12周)测量到的免疫应答高约3倍。在用VEE-MAG25mer srRNA第三加强免疫接种之后1周(第21周)测量到的免疫应答比在即将加强免疫接种之前(第20周)测量到的免疫应答高约3倍,类似于针对第二加强免疫观测到的应答。

[0755] Mamu-A\*01印度恒河猴也用使用两种不同LNP制剂(LNP1和LNP2)的VEE-MAG25mer srRNA免疫接种。在免疫接种之前以及在初始免疫接种之后第4周、第5周、第6周、第7周、第8周、第10周、第11周、第12周、第13周、第14周或第15周针对六种不同Mamu-A\*01限制性表位测量外周血液单核细胞(PBMC)的抗原特异性细胞免疫应答(图22和图23,表28和表29)。动物在第4周和第12周接受使用相应LNP1或LNP2制剂的VEE-MAG25mer srRNA加强免疫接种。在用VEEMAG25mer srRNA-LNP2免疫接种之后第4周、第5周、第7周、第8周、第10周、第11周、第13周、第14周、第15周测量到每 $10^6$ 个PBMC 168、204、103、126、140、145、330、203和162个SFC的組合的抗原特异性免疫应答(六个表位組合)(图22)。在用VEE-MAG25mer srRNA-LNP1免疫接种之后第4周、第5周、第7周、第8周、第10周、第11周、第12周、第13周、第14周、第15周测量到每 $10^6$ 个PBMC 189、185、349、437、492、570、233、886、369和381个SFC的組合的抗原特异性免疫应答(六个表位組合)(图23)。

[0756] 表27:对于用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer初免疫苗接种(第1组)的每个表位每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数±SEM

| 周      | 抗原      |             |              |              |            |             |              |
|--------|---------|-------------|--------------|--------------|------------|-------------|--------------|
|        | Env CL9 | Env TL9     | Gag CM9      | Gag LW9      | Pol SV9    | Tat TL8     |              |
| [0757] | 4       | 173±41.6    | 373.5±87.3   | 461.4±74.2   | 38.4±26.1  | 94.5±26     | 609.2±121.9  |
|        | 5       | 412.7±138.4 | 987.8±283.3  | 1064.4±266.9 | 85.6±31.2  | 367.2±135.2 | 1306.8±332.8 |
|        | 6       | 116.2±41.2  | 231.1±46.3   | 268.3±90.7   | 86.1±42    | 174.3±61    | 223.9±38.1   |
|        | 7       | 287.4±148.7 | 588.9±173.9  | 693.2±224.8  | 92.1±33.5  | 172.9±55.6  | 694.6±194.8  |
|        | 8       | 325.4±126.6 | 735.8±212    | 948.9±274.5  | 211.3±62.7 | 179.1±50    | 817.3±185.2  |
|        | 10      | 312±129.7   | 543.2±188.4  | 618.6±221.7  | -5.7±4.1   | 136.5±51.3  | 309.9±85.6   |
| [0758] | 11      | 248.5±81.1  | 348.7±129.8  | 581.1±205.5  | -3.1±4.4   | 119±51.2    | 413.7±144.8  |
|        | 12      | 261.9±68.2  | 329.9±83     | 486.5±118.6  | -1.2±5.1   | 132.8±31.8  | 350.9±69.3   |
|        | 13      | 389.3±167.7 | 1615.8±418.3 | 1244.3±403.6 | 1.3±8.1    | 522.5±155   | 1303.3±385.6 |
|        | 14      | 406.3±121.6 | 1616±491.7   | 1142.3±247.2 | 6.6±11.1   | 322.7±94.1  | 1048.6±215.6 |
|        | 15      | 446.8±138.7 | 1700.8±469.1 | 1306.3±294.4 | 43±24.5    | 421.2±87.9  | 1001.5±236.4 |
|        | 16      | 686.8±268.8 | 1979.5±541.7 | 1616.8±411.8 | 2.4±7.8    | 381.9±116.4 | 1152.8±352.7 |
|        | 17      | 375.8±109.3 | 1378.6±561.2 | 773.1±210.3  | -1.4±4.3   | 177.6±93.7  | 691.7±245    |
|        | 18      | 255.9±99.7  | 1538.4±498.1 | 498.7±152.3  | -5.3±3.3   | 26.2±13.4   | 413.9±164.8  |
|        | 19      | 133±62.6    | 955.9±456.8  | 491.1±121.8  | -5.7±4.1   | 50.3±25.4   | 371.2±123.7  |
|        | 20      | 163.7±55.8  | 641.7±313.5  | 357.9±91.1   | 2.6±7.5    | 41.4±24.2   | 257.8±68.9   |
|        | 21      | 319.9±160.5 | 2017.1±419.9 | 1204.8±335.2 | -3.7±5.1   | 268.1±109.6 | 924.1±301    |
|        | 22      | 244.7±105.6 | 1370.9±563.5 | 780.3±390    | -3.6±5.1   | 118.2±68.1  | 473.3±249.3  |
|        | 23      | 176.7±81.8  | 1263.7±527.3 | 838.6±367.9  | -5.7±4.1   | 73.6±49     | 480.9±163.9  |
|        | 24      | 236.5±92    | 1324.7±589.3 | 879.7±321    | -0.4±5.7   | 104±53.1    | 498±135.8    |

[0759] 表28:对于用VEE-MAG25mer srRNA-LNP2 (300μg) 初免疫苗接种(第2组)的每个表位每10<sup>6</sup>个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数±SEM

|        |    |            |           |           |           |           |           |
|--------|----|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| [0760] | 周  | 抗原         |           |           |           |           |           |
|        |    | Env CL9    | Env TL9   | Gag CM9   | Gag LW9   | Pol SV9   | Tat TL8   |
|        | 4  | 46±27.1    | 18.4±6.8  | 58.3±45.8 | 29.9±20.8 | 4.9±2.3   | 10.7±4    |
|        | 5  | 85.4±54    | 5.2±5.8   | 52.4±51.2 | 34.5±35   | 11.8±12.2 | 14.4±7.9  |
|        | 7  | 18.6±32.5  | 1.9±1.7   | 59.4±55.7 | 9.3±10.7  | 3.3±3     | 10.7±6.1  |
|        | 8  | 36.6±39.4  | 6.3±3.9   | 48.7±39.9 | 13.5±8.8  | 3.8±3.6   | 17.2±9.7  |
|        | 10 | 69.1±59.1  | 4.4±1.9   | 39.3±38   | 14.7±10.8 | 4.4±5.3   | 8.5±5.3   |
|        | 11 | 43±38.8    | 22.6±21.1 | 30.2±26.2 | 3.3±2.2   | 5.8±3.5   | 40.3±25.5 |
|        | 13 | 120.4±78.3 | 68.2±43.9 | 54.2±36.8 | 21.8±7.4  | 17.7±6.1  | 47.4±27.3 |
|        | 14 | 76±44.8    | 28±19.5   | 65.9±64.3 | -0.3±1.3  | 2.5±2     | 31.1±26.5 |
|        | 15 | 58.9±41.4  | 19.5±15.1 | 55.4±51   | 2.5±2     | 5.5±3.6   | 20.1±15.7 |

[0761] 表29:对于用VEE-MAG25mer srRNA-LNP1 (300μg) 初免疫苗接种(第3组)的每个表位每10<sup>6</sup>个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数±SEM

| 周  | 抗原        |           |             |           |             |             |
|----|-----------|-----------|-------------|-----------|-------------|-------------|
|    | Env CL9   | Env TL9   | Gag CM9     | Gag LW9   | Pol SV9     | Tat TL8     |
| 4  | 19.5±8.7  | 13.3±13.1 | 16.5±15.3   | 10.5±7.3  | 35.9±24.8   | 92.9±91.6   |
| 5  | 87.9±43.9 | 12.7±11.7 | 37.2±31.9   | 21.1±23.8 | 13.2±13.7   | 12.6±13.7   |
| 7  | 21.1±13.3 | 48.8±48.4 | 51.7±39.5   | 9.1±10.5  | 58.6±55.8   | 159.4±159   |
| 8  | 47.7±21.7 | 66.4±52.2 | 59.8±57.4   | 49.4±28   | 79.4±63     | 133.8±132.1 |
| 10 | 49±30.2   | 42.2±41.1 | 139.3±139.3 | 51.6±51.2 | 78.2±75.8   | 131.7±131.6 |
| 11 | 42±26.8   | 20.9±21.4 | 177.1±162   | -6.3±4.3  | 104.3±104.1 | 231.5±230.1 |
| 12 | 40.2±19   | 20.3±11.9 | 42.2±46.7   | 3.7±6.7   | 57±44.7     | 70±69.2     |

|        |    |           |           |             |          |             |             |
|--------|----|-----------|-----------|-------------|----------|-------------|-------------|
| [0763] | 13 | 81.2±48.9 | 38.2±37.6 | 259.4±222.2 | -4±4.1   | 164.1±159.3 | 347.3±343.5 |
|        | 14 | 34.5±31.8 | 5.3±11.6  | 138.6±137.3 | -4.7±5.2 | 52.3±52.9   | 142.6±142.6 |
|        | 15 | 49±24     | 6.7±9.8   | 167.1±163.8 | -6.4±4.2 | 47.8±42.3   | 116.6±114.5 |

[0764] srRNA剂量范围研究

[0765] 在本发明的一个实现方式中,可在MamuA01印度恒河猴中进行srRNA剂量范围研究以鉴定用于进行NHP免疫原性研究的srRNA剂量。在一个实例中,可通过IM注射向MamuA01印度恒河猴施用编码包括多个Mamu A01限制性表位的模型抗原的srRNA载体。在另一个实例中,可靠近IM疫苗注射部位SC施用抗CTLA-4单克隆抗体以靶向一组动物中的疫苗引流淋巴结。可在初始疫苗接种之后每2周收集PBMC以供免疫监测。研究组描述于下文中(表30)。

[0766] 表30:印度恒河猴中的非GLP RNA剂量范围研究

| [0767] | 组 | 初免                         | 加强免疫 1                     | 加强免疫 2                     |
|--------|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|        | 1 | srRNA-LNP (低剂量)            | srRNA-LNP (低剂量)            | srRNA-LNP (低剂量)            |
|        | 2 | srRNA-LNP (中剂量)            | srRNA-LNP (中剂量)            | srRNA-LNP (中剂量)            |
|        | 3 | srRNA-LNP (高剂量)            | srRNA-LNP (高剂量)            | srRNA-LNP (高剂量)            |
|        | 4 | srRNA-LNP (高剂量) + 抗-CTLA-4 | srRNA-LNP (高剂量) + 抗-CTLA-4 | srRNA-LNP (高剂量) + 抗-CTLA-4 |

[0768] \*有待以高剂量≤300μg测定的srRNA的剂量范围。

[0769] 印度恒河猴中的免疫原性研究

[0770] 在MamuA01印度恒河猴(NHP)中进行疫苗研究以说明使用抗原载体的免疫原性。图34说明疫苗接种策略。三组NHP经免疫接种ChAdV68.5-WTnt.MAG25mer并且免疫接种检查点抑制剂抗CTLA-4抗体伊匹单抗(第5组和第6组)或不免疫接种检查点抑制剂(第4组)。所述抗体经静脉内(第5组)或皮下(第6组)施用。三角形指示第0周和第32周的ChAdV68疫苗接种(1e12 vp/动物)。圆形表示第0周、第4周、第12周、第20周、第28周和第32周的甲病毒疫苗接种。

[0771] 呈现了在经免疫接种的NHP中对于单独ChAdV-MAG免疫接种(图35和表31A)、ChAdV-MAG免疫接种与IV递送的检查点抑制剂(图36和表31B),以及ChAdV-MAG免疫接种与SC递送的检查点抑制剂(图37和表31C)的CD8+抗表位反应的时程。结果表明,ChAdV68载体有效引发灵长类动物中的CD8+反应,甲病毒载体有效加强ChAdV68疫苗初免反应,检查点抑制剂无论IV还是SC递送均放大初免和加强免疫应答,并且在疫苗接种后再施用ChAdV载体以有效加强免疫应答。

[0772] 表31A:用ChAdV-MAG给药的恒河猴中的CD8+抗表位反应(第4组)。显示了平均SFC/1e6个脾细胞+/-标准误差

| 周  | 抗原           |              |              |            |             |              |
|----|--------------|--------------|--------------|------------|-------------|--------------|
|    | Env CL9      | Env TL9      | Gag CM9      | Gag LW9    | Pol SV9     | Tat TL8      |
| 4  | 173±41.6     | 373.5±87.3   | 461.4±74.2   | 38.4±26.1  | 94.5±26     | 609.2±121.9  |
| 5  | 412.7±138.4  | 987.8±283.3  | 1064.4±266.9 | 85.6±31.2  | 367.2±135.2 | 1306.8±332.8 |
| 6  | 116.2±41.2   | 231.1±46.3   | 268.3±90.7   | 86.1±42    | 174.3±61    | 223.9±38.1   |
| 7  | 287.4±148.7  | 588.9±173.9  | 693.2±224.8  | 92.1±33.5  | 172.9±55.6  | 694.6±194.8  |
| 8  | 325.4±126.6  | 735.8±212    | 948.9±274.5  | 211.3±62.7 | 179.1±50    | 817.3±185.2  |
| 10 | 312±129.7    | 543.2±188.4  | 618.6±221.7  | -5.7±4.1   | 136.5±51.3  | 309.9±85.6   |
| 11 | 248.5±81.1   | 348.7±129.8  | 581.1±205.5  | -3.1±4.4   | 119±51.2    | 413.7±144.8  |
| 12 | 261.9±68.2   | 329.9±83     | 486.5±118.6  | -1.2±5.1   | 132.8±31.8  | 350.9±69.3   |
| 13 | 389.3±167.7  | 1615.8±418.3 | 1244.3±403.6 | 1.3±8.1    | 522.5±155   | 1303.3±385.6 |
| 14 | 406.3±121.6  | 1616±491.7   | 1142.3±247.2 | 6.6±11.1   | 322.7±94.1  | 1048.6±215.6 |
| 15 | 446.8±138.7  | 1700.8±469.1 | 1306.3±294.4 | 43±24.5    | 421.2±87.9  | 1001.5±236.4 |
| 16 | 686.8±268.8  | 1979.5±541.7 | 1616.8±411.8 | 2.4±7.8    | 381.9±116.4 | 1152.8±352.7 |
| 17 | 375.8±109.3  | 1378.6±561.2 | 773.1±210.3  | -1.4±4.3   | 177.6±93.7  | 691.7±245    |
| 18 | 255.9±99.7   | 1538.4±498.1 | 498.7±152.3  | -5.3±3.3   | 26.2±13.4   | 413.9±164.8  |
| 19 | 133±62.6     | 955.9±456.8  | 491.1±121.8  | -5.7±4.1   | 50.3±25.4   | 371.2±123.7  |
| 20 | 163.7±55.8   | 641.7±313.5  | 357.9±91.1   | 2.6±7.5    | 41.4±24.2   | 257.8±68.9   |
| 21 | 319.9±160.5  | 2017.1±419.9 | 1204.8±335.2 | -3.7±5.1   | 268.1±109.6 | 924.1±301    |
| 22 | 244.7±105.6  | 1370.9±563.5 | 780.3±390    | -3.6±5.1   | 118.2±68.1  | 473.3±249.3  |
| 23 | 176.7±81.8   | 1263.7±527.3 | 838.6±367.9  | -5.7±4.1   | 73.6±49     | 480.9±163.9  |
| 24 | 236.5±92     | 1324.7±589.3 | 879.7±321    | -0.4±5.7   | 104±53.1    | 498±135.8    |
| 25 | 136.4±52.6   | 1207.1±501.6 | 924±358.5    | 6.2±10.5   | 74.1±34.4   | 484.6±116.7  |
| 26 | 278.2±114.4  | 1645±661.7   | 1170.2±469.9 | -2.9±5.7   | 80.6±55.8   | 784.4±214.1  |
| 27 | 159±56.8     | 961.7±547.1  | 783.6±366.4  | -5±4.3     | 63.6±27.5   | 402.9±123.4  |
| 28 | 189.6±75.7   | 1073.1±508.8 | 668.3±312.5  | -5.7±4.1   | 80.3±38.3   | 386.4±122    |
| 29 | 155.3±69.1   | 1102.9±606.1 | 632.9±235    | 34.5±24.2  | 80±35.5     | 422.5±122.9  |
| 30 | 160.2±59.9   | 859±440.9    | 455±209.1    | -3±5.3     | 60.5±28.4   | 302.7±123.2  |
| 31 | 122.2±49.7   | 771.1±392.7  | 582.2±233.5  | -5.7±4.1   | 55.1±27.3   | 295.2±68.3   |
| 32 | 119.3±28.3   | 619.4±189.7  | 566±222.1    | -3.7±5.1   | 21.9±4.5    | 320.5±76.4   |
| 33 | 380.5±122    | 1636.1±391.4 | 1056.2±205.7 | -5.7±4.1   | 154.5±38.5  | 988.4±287.7  |
| 34 | 1410.8±505.4 | 972.4±301.5  | 319.6±89.6   | -4.8±4.2   | 141.1±49.8  | 1375.5±296.7 |
| 37 | 130.8±29.2   | 500±156.9    | 424.9±148.9  | -3.5±4.7   | 77.7±24.6   | 207.1±42.4   |
| 38 | 167.7±54.8   | 1390.8±504.7 | 830.4±329.1  | -5.5±4.1   | 111.8±43.2  | 516±121.7    |

[0773]

[0774] 表31B: 用ChAdV-MAG加IV递送的抗CTLA4抗体(伊匹单抗)给药的恒河猴中的CD8+抗表位反应(第5组). 显示了平均SFC/1e6个脾细胞+/-标准误差

[0775]

| 周  | 抗原               |                  |                  |                 |                  |                  |
|----|------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
|    | Env CL9          | Env TL9          | Gag CM9          | Gag LW9         | Pol SV9          | Tat TL8          |
| 4  | 1848.1±43<br>2.2 | 1295.7±479.<br>7 | 1709.8±416.<br>9 | 513.7±219.<br>8 | 838.5±221.1      | 2514.6±246.<br>5 |
| 5  | 1844.1±41<br>0.2 | 2367.5±334.<br>4 | 1983.1±370.<br>7 | 732.1±249.<br>4 | 1429.7±275.<br>3 | 2517.7±286.<br>5 |
| 6  | 822.4±216.<br>7  | 1131.2±194.<br>7 | 796.8±185.8      | 226.8±70        | 802.2±101.4      | 913.5±222.7      |
| 7  | 1147.2±33<br>2.9 | 1066±311.2       | 1149.8±467.<br>3 | 267.4±162.<br>6 | 621.5±283.2      | 1552.2±395.<br>1 |
| 8  | 1192.7±18<br>8.8 | 1461.5±237.<br>7 | 1566.9±310.<br>5 | 522.5±118.<br>6 | 662.3±142.4      | 1706±216.7       |
| 10 | 1249±220.<br>3   | 1170.6±227.<br>7 | 1297.3±264.<br>7 | -0.3±4.4        | 551.8±90.5       | 1425.3±142.<br>6 |
| 11 | 934.2±221.<br>7  | 808±191.3        | 1003.1±293.<br>4 | 1.9±4.3         | 364.2±76.6       | 1270.8±191.<br>6 |
| 12 | 1106.2±21<br>6.6 | 896.7±190.7      | 1020.1±243.<br>3 | 1.3±3.9         | 436.6±90         | 1222±155.4       |
| 13 | 2023.8±55<br>6.3 | 3696.7±1.7       | 2248.5±436.<br>4 | -4.5±3.5        | 2614±406.1       | 3700±0           |
| 14 | 1278.7±24<br>0   | 2639.5±387       | 1654.6±381.<br>1 | -6±2.1          | 988.8±197.9      | 2288.3±298.<br>7 |
| 15 | 1458.9±28<br>1.8 | 2932.5±488.<br>7 | 1893.4±499       | 74.6±15.6       | 1657.8±508.<br>9 | 2709.1±428.<br>7 |
| 16 | 1556.8±24<br>3   | 2143.8±295.<br>2 | 2082.8±234.<br>2 | -5.8±2.5        | 1014.6±161.<br>4 | 2063.7±86.7      |
| 17 | 1527±495.<br>1   | 2213±677.1       | 1767.7±391.<br>8 | 15.1±5.9        | 633.8±133.9      | 2890.8±433.<br>9 |
| 18 | 1068.2±27<br>9.9 | 1940.9±204.<br>1 | 1114.1±216.<br>1 | -5.8±2.5        | 396.6±77.6       | 1659.4±171.<br>7 |
| 19 | 760.7±362.<br>2  | 1099.5±438.<br>4 | 802.7±192.5      | -2.4±3.3        | 262.2±62.2       | 1118.6±224.<br>2 |
| 20 | 696.3±138.<br>2  | 954.9±198        | 765.1±248.4      | -1.4±4.4        | 279.6±89.3       | 1139±204.5       |
| 21 | 1201.4±32<br>7.9 | 3096±1.9         | 1901±412.1       | -5.8±2.5        | 1676.3±311.<br>5 | 2809.3±195.<br>8 |
| 22 | 1442.5±50<br>8.3 | 2944.7±438.<br>6 | 1528.4±349.<br>6 | 2.8±5.1         | 940.7±160.5      | 2306.3±218.<br>6 |

[0776]

|   |            |             |             |           |             |             |
|---|------------|-------------|-------------|-----------|-------------|-------------|
| 2 | 1400.4±50  | 2757.1±452. | 1604.2±450. | -5.1±2.3  | 708.1±162.6 | 2100.4±362. |
| 3 | 2.2        | 9           | 1           |           |             | 9           |
| 2 | 1351±585.  | 2264.5±496  | 1080.6±253. | 0.3±6.5   | 444.2±126.4 | 1823.7±306. |
| 4 | 1          |             | 8           |           |             | 5           |
| 2 | 1211.5±50  | 2160.4±581. | 970.8±235.9 | 2.5±3.8   | 450.4±126.9 | 1626.2±261. |
| 5 | 5.2        | 8           |             |           |             | 3           |
| 2 | 1443±492.  | 2485±588    | 1252.5±326. | -0.2±6    | 360.2±92.3  | 2081.9±331. |
| 6 | 5          |             | 4           |           |             | 1           |
| 2 | 896.2±413. | 1686±559.5  | 751±192.1   | -3.7±2.5  | 247.4±82.8  | 1364.1±232  |
| 7 | 3          |             |             |           |             |             |
| 2 | 1147.8±45  | 1912.1±417. | 930.3±211.4 | -5.8±2.5  | 423.9±79.6  | 1649.3±315  |
| 8 | 6.9        | 1           |             |           |             |             |
| 2 | 1038.5±43  | 1915.2±626. | 786.8±205.9 | 23.5±8.3  | 462.8±64    | 1441.5±249. |
| 9 | 1.9        | 1           |             |           |             | 7           |
| 3 | 730.5±259. | 1078.6±211. | 699.1±156.2 | -4.4±2.7  | 234.4±43.9  | 1160.6±112. |
| 0 | 3          | 5           |             |           |             | 6           |
| 3 | 750.4±328. | 1431±549.9  | 650.6±141.1 | -5.2±3    | 243.4±56.4  | 868.9±142.8 |
| 1 | 3          |             |             |           |             |             |
| 3 | 581.4±227. | 1326.6±505. | 573.3±138   | -3.2±4.2  | 160.8±49.2  | 936.4±110.4 |
| 2 | 7          | 2           |             |           |             |             |
| 3 | 2198.4±40  | 3093.4±123. | 2391.8±378. | 7.1±8.5   | 1598.1±343. | 2827.5±289. |
| 3 | 3.8        | 3           | 4           |           | 1           | 5           |
| 3 | 2654.3±33  | 2709.9±204. | 1297.5±291. | 0.4±4.2   | 1091.8±242. | 1924±245.7  |
| 4 | 7          | 3           | 4           |           | 9           |             |
| 3 | 846.8±301. | 1706.9±196  | 973.6±149.3 | 50.5±45.2 | 777.3±140.2 | 1478.8±94.3 |
| 7 | 7          |             |             |           |             |             |

[0777] 表31C:用chAd-MAG加SC递送的抗CTLA4抗体(伊匹单抗)给药的恒河猴中的CD8+抗原表位反应(第6组)。显示了平均SFC/1e6个脾细胞+/-标准误差

[0778]

| 周  | 抗原           |              |              |            |              |              |
|----|--------------|--------------|--------------|------------|--------------|--------------|
|    | Env CL9      | Env TL9      | Gag CM9      | Gag LW9    | Pol SV9      | Tat TL8      |
| 4  | 598.3±157.4  | 923.7±306.8  | 1075.6±171.8 | 180.5±74.1 | 752.3±245.8  | 1955.3±444.4 |
| 5  | 842.2±188.5  | 1703.7±514.2 | 1595.8±348.4 | 352.7±92.3 | 1598.9±416.8 | 2163.7±522.1 |
| 6  | 396.4±45.3   | 728.3±232.7  | 503.8±151.9  | 282±69     | 463.1±135.7  | 555.2±191.5  |
| 7  | 584.2±177    | 838.3±254.9  | 1013.9±349.4 | 173.6±64.3 | 507.4±165.7  | 1222.8±368   |
| 8  | 642.9±134    | 1128.6±240.6 | 1259.1±163.8 | 366.1±72.8 | 726.7±220.9  | 1695.6±359.4 |
| 10 | 660.4±211.4  | 746.9±222.7  | 944.8±210.2  | -1.2±1.9   | 523.4±230.7  | 787.3±308.3  |
| 11 | 571.2±162    | 609.4±194.3  | 937.9±186.5  | -8.9±2.3   | 511.6±229.6  | 1033.3±315.7 |
| 12 | 485.3±123.7  | 489.4±142.7  | 919.3±214.1  | -8.9±2.3   | 341.6±139.4  | 1394.7±432.1 |
| 13 | 986.9±154.5  | 2811.9±411.3 | 1687.7±344.3 | -4.1±5.1   | 1368.5±294.2 | 2751±501.9   |
| 14 | 945.9±251.4  | 2027.7±492.8 | 1386.7±326.7 | -5.7±2.8   | 708.9±277.1  | 1588.2±440.1 |
| 15 | 1075.2±322.4 | 2386±580.7   | 1606.3±368.1 | -5.4±3.2   | 763.3±248.8  | 1896.5±507.8 |
| 16 | 1171.8±341.6 | 2255.1±439.6 | 1672.2±342.3 | -7.8±2.4   | 1031.6±228.8 | 1896.4±419.9 |
| 17 | 1118.2±415.4 | 2156.3±476   | 1345.3±377.7 | -1.1±6.7   | 573.7±118.8  | 1614.4±382.3 |
| 18 | 861.3±313.8  | 2668.2±366.8 | 1157.2±259.6 | -8.9±2.3   | 481.2±164    | 1725.8±511.4 |
| 19 | 719.2±294.2  | 1447.2±285   | 968±294.5    | -2.2±4.6   | 395.6±106.1  | 1199.6±289.2 |

[0779]

|    |              |              |              |          |              |              |
|----|--------------|--------------|--------------|----------|--------------|--------------|
| 20 | 651.6±184    | 1189.8±242.8 | 947.4±249.8  | -8.9±2.3 | 355±106.3    | 1234.7±361.7 |
| 21 | 810.3±301.9  | 2576.2±283.7 | 1334±363.1   | -8.9±2.3 | 892.2±305    | 1904.4±448.1 |
| 22 | 775±196.4    | 2949±409.7   | 1421.8±309.7 | 38±27.8  | 577±144.2    | 2330.6±572.3 |
| 23 | 584.9±240.2  | 1977.9±361.4 | 1209.8±405.1 | -7.3±3.2 | 273.7±93.3   | 1430.6±363.9 |
| 24 | 485.4±194.4  | 1819.8±325.5 | 837.2±261.4  | -3.4±4.1 | 234.4±71.1   | 943.9±243.3  |
| 25 | 452.3±175    | 2072±405.7   | 957.1±293.1  | -8.9±2.3 | 163±43.2     | 1341.2±394.7 |
| 26 | 517.9±179.1  | 2616±567.5   | 1126.6±289   | -8.3±2.3 | 199.9±89.2   | 1615.7±385.6 |
| 27 | 592.8±171.7  | 1838.3±372.4 | 749.3±170.4  | -7.3±2.5 | 325.5±98.7   | 1110.7±308.8 |
| 28 | 793±228.5    | 1795.4±332.3 | 1068.7±210.3 | 2.5±4.1  | 553.1±144.3  | 1480.8±357.1 |
| 29 | 661.8±199.9  | 2140.6±599.3 | 1202.7±292.2 | -8.7±2.8 | 558.9±279.2  | 1424.2±408.6 |
| 30 | 529.1±163.3  | 1528.2±249.8 | 840.5±218.3  | -8.9±2.3 | 357.7±149.4  | 1029.3±335   |
| 31 | 464.8±152.9  | 1332.2±322.7 | 726.3±194.3  | -8.9±2.3 | 354.3±158.6  | 884.4±282    |
| 32 | 612.9±175.3  | 1584.2±390.2 | 1058.3±219.8 | -8.7±2.8 | 364.6±149.8  | 1388.8±467.3 |
| 33 | 1600.2±416.7 | 2597.4±367.9 | 2086.4±414.8 | -6.3±3.3 | 893.8±266    | 2490.6±416.4 |
| 34 | 2814.6±376.2 | 2713.6±380.8 | 1888.8±499.4 | -7.5±3.1 | 1288.9±438.9 | 2428.1±458.9 |
| 37 | 1245.9±471.7 | 1877.7±291.2 | 1606.6±441.9 | 14.2±13  | 1227.5±348.1 | 1260.7±342   |

[0780] 印度恒河猴中的记忆表型分析

[0781] 恒河猴经免疫接种具有或不具有抗CTLA4的ChAdV68.5WTnt.MAG25mer/VEE-MAG25mer srRNA异源初免/加强免疫方案,并且再次用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer加强。在最终ChAdV68施用后11个月评估各组(研究第18个月)。ELISpot如所描述进行。图38和表38显示了在免疫接种前(左图)和免疫接种后18个月(右图)如通过ELISpot所测量的对六种不同Mamu-A\*01限制性表位的细胞反应。对限制性表位的反应的检测表明,抗原特异性记忆反应由ChAdV68/samRNA疫苗方案产生。

[0782] 为了评估记忆,使用双色Mamu-A\*01四聚体标记监测识别在疫苗中编码的4种不同恒河猴Mamu-A\*01I类表位的CD8+T细胞,其中每个抗原由独特的双阳性组合表示,并允许鉴定单个样品内的所有4个抗原特异性群体。通过用细胞表面标志物CD45RA和CCR7共同染色来进行记忆细胞表型分析。图39和表39显示了识别四种不同Mamu-A\*01限制性表位的记忆T细胞的组合四聚体染色和CD45RA/CCR7共同染色的结果。T细胞表型也通过流式细胞术评估。图40显示了在研究第18个月时四个Mamu-A\*01四聚体+CD8+T细胞群体的总和内记忆细胞类型的分布。记忆细胞表征如下:CD45RA+CCR7+=初始,CD45RA+CCR7-=效应(Teff),CD45RA-CCR7+=中央记忆(Tcm),CD45RA-CCR7-=效应记忆(Tem)。总体而言,结果表明,在最后一次加强免疫之后至少一年检测到记忆反应,从而表明持久的免疫性,包括效应、中央记忆和效应记忆群体。

[0783] 表38在初免前和记忆评估时间点(18个月)时每个动物每10<sup>6</sup>个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数。

[0784]

| 动物 | 初免前基线   |         |         |         |         |         | 18个月    |         |         |         |         |         |
|----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|    | Tat TL8 | Gag CM9 | Env TL9 | Env CL9 | Gag LW9 | Pol SV9 | Tat TL8 | Gag CM9 | Env TL9 | Env CL9 | Gag LW9 | Pol SV9 |
| 1  | 1.7     | 0.0     | 0.0     | 5.0     | 0.0     | 13.7    | 683.0   | 499.2   | 1100.3  | 217.5   | 47.7    | 205.3   |
| 2  | 0.0     | 0.0     | 0.0     | 0.2     | 0.1     | 0.0     | 773.4   | ND      | 1500.0  | 509.3   | 134.5   | 242.5   |
| 3  | 0.0     | 0.0     | 6.7     | 6.8     | 10.2    | 3.3     | 746.3   | 167.5   | 494.1   | 402.8   | 140.6   | 376.0   |
| 4  | 0.0     | 0.0     | 0.0     | 0.0     | 0.0     | 0.0     | 47.6    | 1023.9  | 85.1    | 44.2    | 44.2    | 47.6    |
| 5  | 15.3    | 6.7     | 18.6    | 15.6    | 5.2     | 12.1    | 842.4   | 467.7   | 1500.0  | 805.9   | 527.8   | 201.8   |
| 6  | 3.1     | 0.0     | 0.0     | 15.5    | 6.9     | 5.3     | 224.3   | 720.3   | 849.0   | 296.9   | 32.4    | 121.9   |

[0785] ND=由于技术排除未测定

[0786] 表39来自存活CD8+细胞的Mamu-A\*01四聚体阳性百分比

| 动物 | Tat TL8 | Gag CM9 | Env TL9 | Env CL9 |
|----|---------|---------|---------|---------|
| 1  | 0.42    | 0.11    | 0.19    | 0.013   |
| 2  | 0.36    | 0.048   | 0.033   | 0.00834 |
| 3  | 0.97    | 0.051   | 0.35    | 0.048   |
| 4  | 0.46    | 0.083   | 0.17    | 0.028   |
| 5  | 0.77    | 0.45    | 0.14    | 0.2     |
| 6  | 0.71    | 0.16    | 0.17    | 0.04    |

[0788] 印度恒河猴中的非GLP RNA剂量范围研究(较高剂量)

[0789] 本研究被设计用于(a)评价300μg剂量VEE-MAG25mer srRNA以同源初免/加强免疫或异源初免/加强免疫形式与ChAdV68.5WTnt.MAG25mer的组合的免疫原性;(b)比较在使用300μg剂量LNP1对LNP2的脂质纳米粒子中VEE-MAG25mer srRNA的免疫应答;以及(c)评价针对VEE-MAG25mer srRNA和ChAdV68.5WTnt.MAG25mer免疫接种的T细胞反应的动力学。

[0790] 所述研究组是在Mamu-A\*01印度恒河猴中进行以证实免疫原性。在例如恒河猴的非人类灵长类动物物种中的疫苗免疫原性是在人类中疫苗效力的最佳预测指标。此外,用于本研究中的选择抗原仅在恒河猴中识别到,具体来说,那些具有Mamu-A\*01I类MHC单倍型的抗原。将Mamu-A\*01印度恒河猴随机分成不同研究组(6只恒河猴/组)并且经两侧IM注射施用编码包括多个Mamu-A\*01限制性抗原的模型抗原的ChAdV68.5-WTnt.MAG25mer或VEE-MAG25mer srRNA。研究组如下所述。

[0791] 对于第1组(异源初免/加强免疫),在免疫接种之前以及在初始免疫接种之后第4周、第5周、第6周、第7周、第8周、第10周、第11周、第12周、第13周、第14周、第15周、第16周、第17周、第18周、第19周、第20周、第21周、第22周、第23周或第24周收集PBMC以供免疫监测。对于第2组和第3组(同源初免/加强免疫),在免疫接种之前以及在初始免疫接种之后第4周、第5周、第7周、第8周、第10周、第11周、第12周、第13周、第14周或第15周收集PBMC以供免疫监测。

[0792] 表26:印度恒河猴中的非GLP免疫原性研究

| 组 | 初免                                | 加强免疫 1                            | 加强免疫 2                            | 加强免疫 3                            |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | ChAdV68.5WTnt.MAG25mer            | VEE-MAG25mer srRNA -LNP2 (300 μg) | VEE-MAG25mer srRNA -LNP2 (300 μg) | VEE-MAG25mer srRNA -LNP2 (300 μg) |
| 2 | VEE-MAG25mer srRNA -LNP2 (300 μg) | VEE-MAG25mer srRNA -LNP2 (300 μg) | VEE-MAG25mer srRNA -LNP2 (300 μg) |                                   |
| 3 | VEE-MAG25mer srRNA -LNP1 (300 μg) | VEE-MAG25mer srRNA -LNP1 (300 μg) | VEE-MAG25mer srRNA -LNP1 (300 μg) |                                   |

[0794] XIX. 鉴定MHC/肽靶反应性T细胞和TCR

[0795] 针对一个或多个抗原/HLA肽对,包括本文所述的任何抗原,例如肿瘤相关抗原或

感染性疾病相关抗原,鉴定靶反应性T细胞和TCR。

[0796] 可从患者的血液、淋巴结或肿瘤中分离出T细胞。可例如通过分选抗原-MHC四聚体结合细胞或通过分选在T细胞和抗原脉冲的抗原呈递细胞的体外共培养物中刺激的活化细胞来富集T细胞的抗原特异性T细胞。本领域中已知用于抗原特异性T细胞鉴定的各种试剂,包括载有抗原的四聚体和其他基于MHC的试剂。

[0797] 可通过抗原特异性T细胞的TCR的单细胞测序来鉴定与抗原相关的 $\alpha$ - $\beta$ (或 $\gamma$ - $\delta$ ) TCR二聚体。或者,可进行抗原特异性T细胞的整体TCR测序,并且可使用本领域中已知的TCR配对方法确定具有高匹配概率的 $\alpha$ - $\beta$ 对。

[0798] 或者或另外,可经由体外引发来自健康供体的初始T细胞来获得抗原特异性T细胞。从PBMC、淋巴结或脐带血中获得的T细胞可经抗原脉冲的抗原呈递细胞反复刺激,从而引发经历抗原的T细胞分化。然后可类似于上文针对来自患者的抗原特异性T细胞所述来鉴定TCR。

[0799] XX.ChAdV68载体中的E4缺失展现提高的生产能力

[0800] 选择ChAdV68腺病毒载体的克隆以提高病毒生产能力。在蚀斑分离过程中选择表达模型TSNA盒MAG的快速生长/适合的ChAdV68病毒并且如下所述进行分析。

[0801] 材料和方法

[0802] ChAdV68蚀斑分离

[0803] 制备ChAdV68-MAG病毒的系列稀释液(从 $10^{-2}$ 至 $10^{-9}$ ),并且将100uL涂铺于以 $1e6$ 个细胞/60mm板接种的HEK293A(ThermoFisher目录号R70507)细胞上。感染后24小时,去除培养基,并用DMEM/1.25%琼脂糖覆盖受感染细胞,并且使蚀斑生长10-15天。在此期间,挑取72个病毒蚀斑。将病毒在0.5mL DMEM/5%FBS培养基中洗脱过夜,并且将一半洗脱液(0.25mL)用于重新感染以 $1e5$ 个细胞/孔接种于24孔板的293A细胞。病毒经扩增并感染至293A细胞上。选择快速生长的克隆用于在400mL 293F(ThermoFisher目录号A14528)悬浮培养物中产生病毒。通过2X CsCl梯度纯化来纯化病毒,并且通过3轮透析将其配制至ARM缓冲液(25mMNaCl、20mM Tris pH 8.0、2.5%甘油)中。病毒颗粒滴度通过在56C下0.1%SDS裂解后在260nm处的吸光度测定。感染滴度使用抗衣壳免疫染色测定确定。

[0804] 下一代测序

[0805] 使用QiAmp病毒DNA试剂盒(Qiagen)从纯化的病毒纯化DNA,并且使用Illumina平台进行NGS。

[0806] 克隆生产能力的MOI评价

[0807] 使用纯化的病毒以0.1IU的MOI设置受控感染并温育96小时。在细胞溶解产物中测量感染单位。将产量与非蚀斑选择病毒(池)进行比较。

[0808] 免疫接种

[0809] 向Balb/c雌性小鼠注射ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(SEQ ID NO:2)或ChAdV68-MAG-E4缺失(SEQ ID NO:57;“MAG E4 $\delta$ ”和“ChAdV68-MAG-E4”)的 $1 \times 10^9$ 或 $1 \times 10^{10}$ 个病毒颗粒(VP),体积为100uL,双侧肌肉内注射(每条腿50uL)。

[0810] 将Mamu-A\*01印度恒河猴用 $1 \times 10^{12}$ 个病毒颗粒( $5 \times 10^{11}$ 个病毒颗粒/注射)的ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(“ChAdV68-CMV-MAG;”SEQ ID NO:2;无E4缺失或TET反应元件)或ChAdV68-E4d-CMT-MAG(SEQ ID NO:71;E4缺失和CMT TET反应元件[参见下文])以双侧肌肉

内注射在股四头肌中免疫。在注射当天,也向恒河猴施用50mg抗CTLA4抗体(伊匹单抗)SC。

**ChAdV68-E4d-CMT-MAG; SEQ ID NO: 71**

CATCATCAATAATATACCTCAAACCTTTTTGTGCGCGTTAATATGCAAATG  
AGGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGGATGA  
GCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTTGATGACGTGGTTGCGA  
GGAGGAGCCAGTTTGCAAGTCTCTGTGGGAAAAGTGACGTCAAACGA  
GGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTCTCTGACAG  
GAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGGGCCATTTTCG  
CGCGAAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAATTTTCGCGTTTAT  
GGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGACTTTGACCGATTAC  
GTGGGGGTTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAATTTCCGCGTACGGTG  
TCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCTGATCGCCAGGGTATTT  
AAACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGA  
AGAGTTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGATCTACACTTTGAAAGTAG  
GGATAACAGGGTAATGACATTGATTATTGACTAGTTGTTAATAGTAATCA  
ATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATA  
ACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCC  
ATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTT  
TCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCACTTGGC  
AGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATG  
ACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGA  
CTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGT  
GATGCGGTTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTTGACTC  
ACGGGGATTTCOAAGTCTCCACCCCATGACGTCAATGGGAGTTTTGTTT  
TGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAATAACCCCGCC  
CCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATA  
AGCAGAGCTCTCCCTATCAGTGATAGAGATCTCCCTATCAGTGATAGAG  
ATCGTCGACGAGCTCGTTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAACGCCA  
TCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACAGCGATCGCGCCACCATGGC  
CGGGATGTTCCAGGCACTGTCCGAAGGCTGCACACCCTATGATATTAAC  
CAGATGCTGAATGTCCTGGGAGACCACCAGGTCTCTGGCCTGGAGCAG  
CTGGAGAGCATCATCAACTTCGAGAAGCTGACCGAGTGGACAAGCTCC  
AATGTGATGCCTATCCTGTCCCCACTGACCAAGGGCATCCTGGGCTTCG  
TGTTTACCCTGACAGTGCCTTCTGAGCGGGGCCTGTCTTGATCAGCGA  
GGCAGACGCAACCACACCAGAGTCCGCCAATCTGGGCGAGGAGATCC  
TGCTCAGCTGTACCTGTGGCCCCGGGTGACATATCACTCCCCTTCTTA  
CGCCTATCACCAGTTCGAGCGGAGAGCCAAGTACAAGAGACACTTCCC  
AGGCTTTGGCCAGTCTCTGCTGTTTCGGCTACCCCGTGACGTGTTCCGC  
GATTGCGTGCAGGGCGACTGGGATGCCATCCGGTTTAGATACTGCGCAC  
CACCTGGATATGCACTGCTGAGGTGTAACGACACCAATTATTCGCCCT  
GCTGGCAGTGGGCGCCCTGGAGGGCCCTCGCAATCAGGATTGGCTGGG  
CGTGCCAAGGCAGCTGGTGACACGCATGCAGGCCATCCAGAACGCAG  
GCCTGTGCACCCTGGTGGCAATGCTGGAGGAGACAATCTTCTGGCTGC  
AGGCCTTTCTGATGGCCCTGACCGACAGCGGCCCAAGACAAACATCA  
TCGTGGATTCCCAGTACGTGATGGGCATCTCCAAGCCTTCTTTCCAGGA  
GTTTGTGGACTGGGAGAACGTGAGCCCAGAGCTGAATTCACCGATCA  
GCCATTCTGGCAGGCAGGAATCCTGGCAAGGAACCTGGTGCCTATGGT  
GGCCACAGTGCAGGGCCAGAATCTGAAGTACCAGGGCCAGAGCCTGG  
TCATCAGCGCCTCCATCATCGTGTTTAACTGCTGGAGCTGGAGGGCGA  
CTATCGGGACGATGGCAACGTGTGGGTGCACACCCCACTGAGCCCCAG  
AACACTGAACGCCTGGGTGAAGGCCGTGGAGGAGAAGAAGGGCATCC

[0811]

[0812]

CAGTGCACCTGGAGCTGGCCTCCATGACCAATATGGAGCTGATGTCTAG  
CATCGTGCACCAGCAGGTGAGGACATACGGACCCGTGTTTCATGTGCCT  
GGGAGGCCTGCTGACCATGGTGGCAGGAGCCGTGTGGCTGACAGTGC  
GGGTGCTGGAGCTGTTTCAGAGCCGCCAGCTGGCCAACGATGTGGTGC  
TGCAGATCATGGAGCTGTGCGGAGCAGCCTTTCGCCAGGTGTGCCACA  
CCACAGTGCCATGGCCCAATGCCTCCCTGACCCCCAAGTGGAACAATG  
AGACAACACAGCCTCAGATCGCCAACGTAGCGTGTACGACTTCTTCG  
TGTGGCTGCACTACTATAGCGTGAGGGATACCCTGTGGCCCCGCGTGAC  
ATACCACATGAATAAGTACGCCTATCACATGCTGGAGAGGCGCGCCAAG  
TATAAGAGAGGCCCTGGCCCAGGCGCAAAGTTTGTGGCAGCATGGACC  
CTGAAGGCCGCGCGGCCGCCCCGGCCCCGGCCAGTATATCAAGGCTAAC  
AGTAAGTTCATTGGAATCACAGAGCTGGGACCCGGACCTGGATAATGA  
GTTTAAACTCCCATTAAATGTGAGGGTTAATGCTTCGAGCAGACATGA  
TAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAA  
AAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACC  
ATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTTCATTTAT  
GTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAAA  
CCTCTACAAATGTGGTAAAATAACTATAACGGTCCTAAGGTAGCGAGTG  
AGTAGTGTTCTGGGGCGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAATAACT  
GAAATCTGTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCGGCT  
CCTTTGAGGGAGGGGTATTTCAGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTCCCCCTC  
CTGGGCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGCGCCG  
GCCCCGTGCAGCCCGCGAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAG  
CTCTTCGTGCTTGGACGCAGCTGCCGCCGAGCTGCTGCATCTGCCGC  
CAGCGCCGTGCGCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACTCT  
GGTGGCCAACTCGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGAGGA  
GAAGCTGTTGCTGCTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGCGCCT  
GGGCGAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGACGCGGG  
CCGCGGTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAATAAATAA  
ACGGAGACGGTTGTTGATTTTAACACAGAGTCTGAATCTTTATTTGATT  
TTTCGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATCATTGAGCACC  
CGGTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTTGGATGTTGAGG  
TACATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGCAGG  
GCCTCGTGCTCGGGGGTGGTGTGTAATCACCCAGTCATAGCAGGGG  
CGCAGGGCATGGTGTGACAATATCTTTGAGGAGGAGACTGATGGCC  
ACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTACAAATCTGTTGAGCTGGGAG  
GGATGCATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATCTTGGCCTGGATCTTGAGA  
TTGGCGATGTTACCGCCCAGATCCCGCCTGGGGTTCATGTTGTGCAGGA  
CCACCAGCACGGTGTATCCGGTGCACCTTGGGGAATTTATCATGCAACTT  
GGAAGGGAAGGCGTGAAAGAATTTGGCGACGCCCTTTGTGCCCCGCCA  
GGTTTTCCATGCACTCATCCATGATGATGGCGATGGGCCCGTGGGCGGC  
GGCCTGGGCAAAGACGTTTTCGGGGGTCCGACACATCATAGTTGTGGTC  
CTGGGTGAGGTCATCATAGGCCATTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTG  
CCGGAAGTGGGGGACAAAGGTTCCCTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCC  
TCACAGATCTGCATCTCCAGGCTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATG  
TCCACCTGCGGGGCGATAAAGAACACGGTTTCCGGGGCGGGGGAGAT  
GAGCTGGGCGGAAAGCAAGTTCCGGAGCAGCTGGGACTTCCCGCAGC  
CGGTGGGGCCGTAGATGACCCCGATGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGA  
GGGAGAGACAGCTGCCGTCTCCCGGAGGAGGGGGGGCCACCTCGTTC  
ATCATCTCGCGCACGTGCATGTTCTCGCGCACCAAGTTCCGCCAGGAGG

[0813]

CGCTCTCCCCCAGGGATAGGAGCTCCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTTC  
AGCGGCTTGAGTCCGTCGGCCATGGGCATTTTGGAGAGGGTTTGTTGC  
AAGAGTTCCAGGCGGTCCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCT  
CGATCCAGCAGACCTCCTCGTTTTCGCGGGTTGGGACGGCTGCGGGAGT  
AGGGCACCAGACGATGGGCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCCTTC  
CAGGGTCGCAGCGTCCGCGTCAGGGTGGTCTCCGTCACGGTGAAGGG  
GTGCGCGCCGGGCTGGGCGCTTGCGAGGGTGCGCTTCAGGCTCATCCG  
GCTGGTCGAAAACCGCTCCCGATCGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAGGTA  
GCAATTGACCATGAGTTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTG  
GCGCGGAGCTTACCTTTGGAAGTCTGCCCCGAGGCGGGACAGAGGAG  
GGACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGGGCGAGGAAGACGGACTCGGGGG  
CGTAGGCGTCCGCGCCGCACTGGGCGCAGACGGTCTCGCACTCCACGA  
GCCAGGTGAGGTCGGGCTGGTTCGGGGTCAAAAACCAAGTTTCCCGCCG  
TTCTTTTTGATGCGTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCCCCG  
CTGGGTGACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCCGTAGACCGACTTTATGGG  
CCGGTCCTCGAGCGGTGTGCCGCGGTCCCTCCTCGTAGAGGAACCCCGC  
CCACTCCGAGACGAAAGCCCGGGTCCAGGCCAGCACGAAGGAGGCCA  
CGTGGGACGGGTAGCGGTTCGTTGTCCACCAGCGGGTCCACCTTTTCCA  
GGGTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGAAGGTGATTG  
GCTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGCCGGGGGGGTAT  
AAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTTCCGGATCGCTGT  
CCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCTCGAAGGCGGGCA  
TGACCTCGGCACTCAGGTTGTGAGTTTCTAGAAACGAGGAGGATTTGA  
TATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTCAAGAGCCCCCTCGTCCATCTG  
GTCAGAAAAGACGATCTTTTTGTTGTGCGAGCTTGGTGGCGAAGGAGCC  
GTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTTGGCGATGGAGCGCATGGTCTGGTT  
TTTTTCCTTGTCGGCGCGCTCCTTGGCGCGCATGTTGAGCTGCACGTAC  
TCGCGCGCCACGCACTTCCATTCCGGGAAGACGGTGGTTCAGCTCGTCG  
GGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGATTATGCAGGGTGATGAGGTCC  
ACACTGGTGGCCACCTCGCCGCGCAGGGGCTCATAGTCCAGCAGAGG  
CGTCCGCCCTTGCGCGAGCAGAAGGGGGGCGAGGGGGTCCAGCATGAC  
CTCGTCCGGGGGGGTCCGCATCGATGGTGAAGATGCCGGGCAGGAGGTC  
GGGGTCAAAGTAGCTGATGGAAGTGGCCAGATCGTCCAGGGCAGCTTG  
CCATTGCGGCACGGCCAGCGCGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTGCC  
CCAGGGCATGGGATGGGTAAGCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTC  
GTAGACGTAGAGGGGCTCCTCGAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCA  
GCGCCCCCGCGGATGCTGGCGCGCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGA  
GGGGGCGAGGAGCCCCGGGCCAGGTTGGTGGCGACTGGGCTTTTCGG  
CGCGGTAGACGATCTGGCGGAAAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGG  
TGGGCCTTTGGAAGATGTTGAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGT  
CGCGGATGAAGTGGGCGTAGGAGTCTTGACGCTTGGCGACGAGCTCGG  
CGGTGACTAGGACGTCCAGAGCGCAGTAGTTCGAGGGTCTCCTGGATGA  
TGTCATACTTGAGCTGTCCCTTTTGTTCACAGCTCGCGGTTGAGAAG  
GAACTCTTCGCGGTCCTTCCAGTACTCTTCGAGGGGGGAACCCGTCCTG  
ATCTGCACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAACTGGTTGACGGCCTTGTA  
GGCGCAGCAGCCCTTCTCCACGGGGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCTT  
GCGCAGGGAGGTGTGCGTGAGGGCGAAAGTGTCCTGACCATGACCT  
TGAGGAACTGGTGCTTGAAGTCGATATCGTCGCAGCCCCCTGCTCCC  
AGAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTGAGGCGGGGTGGGCAAAGCG  
AAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCGCGCGGGGCATAAAGTTG

[0814]

CGAGTGATGCGGAAAGGTTGGGGCACCTCGGCCCGGTTGTTGATGACC  
TGGGCGGCGAGCACGATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTTGTGGCCACG  
ATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGGCAGTTTC  
TTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTTCGCTGAGCCCGTGCTGC  
TCGAGCGCCCACTCGGCGAGATGGGGGTTGGCGCGGAGGAAGGAAGT  
CCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGCAGACGGTCCCGGTACTGACG  
GAACTGCTGCCCCGACGGCCATTTTTTCGGGGGTGACGCAGTAGAAGGT  
GCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCTGGAGGGCGAGATC  
GAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTCGTCCCCGGAGAGTTTCATGACCA  
GCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACCCCATCCAGGTGTAGG  
TTTCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTTCGGTGCGAGGATGCGAGC  
CGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCCACCAATTGGAGGAATGGCTGT  
TGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCGCCGAACACTCGTGCT  
TGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCTCGCAACGCTGCACGGGATGCA  
CGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTCTTTGACGAGGAATTTCACTG  
GGAAGTGGAGTCGTGGCGCCTGCATCTCGTGCTGTACTACGTCTGGT  
GGTCGGCCTGGCCCTCTTCTGCCTCGATGGTGGTCATGCTGACGAGCCC  
GCGCGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCGCGAGCGGGTTCGGAGAGCGA  
GGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCCAGGGTCTTGAGACGCTGC  
GGAGTCAGGTCACTGGGCAGCGGCGCGCGCGGTTGACTTGACAGGAG  
TTTTTCCAGGGCGCGCGGGAGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGC  
GCCATTGGTGGCGACGTCGATGGCTTGACAGGGTCCCGTGCCCCCTGGGG  
TGTGACCACCGTCCCCCGTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGGCGACGGGGG  
CGGTGCCTCTTCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGG  
GGCAGGGGCGGCTCGGGGCCCCGAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGT  
CGGCGCCGCGCGCGGGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCGGAGAAGACTG  
GCGTGAGCGACGACGCGACGGTTGACGTCCTGGATCTGACGCCTCTGG  
GTGAAGGCCACGGGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTTCGAC  
AGAATCAATCTCGGTATCGTTGACGGCGGCCTGCCGCAGGATCTCTTGC  
ACGTGCCCCGAGTTGTCTTGGTAGGCGATCTCGGTCATGAACTGCTCG  
ATCTCCTCCTCTTGAAGGTCTCCGCGGCCGCGCGCTCCACGGTGGCC  
GCGAGGTGCTTGGAGATGCGGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCATG  
CCCGCCTCGTTCCAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGATCG  
CGGGCGCGCATGACCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGT  
GAAGACCGCGTAGTTGCAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGT  
GGCGATGTGCTCGGTGACGAAGAAATACATGATCCAGCGCGGAGCGG  
CATCTCGCTGACGTCGCCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTAA  
AAGTCCACGGCGAAGTTGAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACGGT  
CAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCGCAC  
CTCGCGCTCGAAGGCCCGGGAGTTCTTCCACTTCTCTTCTTCTCTCC  
TCCACTAACATCTCTTCTACTTCTCTCTCAGGCGGCAGTGGTGGCGGGG  
GAGGGGGCCTGCGTCGCCGGCGGCGCACGGGCAGACGGTTCGATGAAG  
CGCTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGCATGGTCTCGGTGACGGCG  
CGCCCGTCTCGCGGGGCGCGCAGCGTGAAGACGCCGCGCGCATCTCC  
AGGTGGCCGGGGGGTCCCCGTTGGGCAGGGAGAGGGCGCTGACGAT  
GCATCTTATCAATTGCCCCGTAGGGACTCCGCGCAAGGACCTGAGCGTC  
TCGAGATCCACGGGATCTGAAAACCGCTGAACGAAGGCTTCGAGCCA  
GTCGCAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACGGTTTCTTCTGGCGGGTTCATG  
TTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGTGTGATGAAGTTGAAATA  
GGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGGAGCACCAGGTCTTTGG

[0815]

GCCCCGGCTTGCTGGATGCGCAGACGGTCGGCCATGCCCCAGGCGTGGT  
CCTGACACCTGGCCAGGTCCCTTGATAGTAGTCCTGCATGAGCCGCTCCAC  
GGGCACCTCCTCCTCGCCCCGCGGGCCGTGCATGCGCGTGAGCCCGAA  
GCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCAGGTGCGCGACGACGCGCTCGG  
CGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGTGAGGGTGGTCTGGAAGTCATCAA  
AGTCGACGAAGCGGTGGTAGGCTCCGGTGTTGATGGTGTAGGAGCAGT  
TGGCCATGACGGACCAGTTGACGGTCTGGTGGCCCCGGACGCACGAGCT  
CGTGGTACTTGAGGCGCGAGTAGGCGCGCGTGTCTGAAGATGTAGTCGT  
TGCAGGTGCGCACCAGGTACTGGTAGCCGATGAGGAAGTGCGGCGGC  
GGCTGGCGGTAGAGCGGCCATCGCTCGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGC  
GAGGTCCTCGAGCATGGTGCGGTGGTAGCCGTAGATGTACCTGGACAT  
CCAGGTGATGCCGGCGGCGGTGGTGGAGGCGCGCGGGAACCTCGCGGA  
CGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCAGGAAGTAGTTCATGGTGGGCA  
CGGTCTGGCCCGTGAGGCGCGCGCAGTCGTGGATGCTCTATACGGGCA  
AAAACGAAAGCGGTACGCGGCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGC  
GAACGGGTTGGGCTGCGCGTGTACCCCGGTTCTGAATCTCGAATCAGGC  
TGGAGCCGCAGCTAACGTGGTATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCC  
TGCACCAACCCTCCAGGATACGGAGGCGGGTCGTTTTGCAACTTTTTTT  
TGGAGGCCCGATGAGACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCCGACCGCGAT  
GGCTCGCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGT  
GTGCCCCGGTTCTGAGGCCGGCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGG  
CTGCCCCGTCGTTTTCCAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTAC  
GGAGCGAGCCCCCTCTTTTGTTTTGTGGTTTGTGGCAGATGCATCCCGTA  
CTGCGGCAGATGCGCCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCCCCCT  
CCACAGCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGCCACG  
ACCGCCGCGGCCGCGGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGATCACCAG  
CTGGCCTTGGAAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCGCCTGGGGGCGTCGTC  
GCCGAGCGGCACCCGCGCGTGCAGATGAAAAGGGACGCTCGCGAGG  
CCTACGTGCCCAAGCAGAACCCTGTTTCAGAGACAGGAGCGGCGAGGAG  
CCCAGGAGATGCGCGCGGCCCGGTTCCACGCGGGGCGGGAGCTGCG  
GCGCGGCTGGACCGAAAGAGGGTGTGAGGGACGAGGATTTTCAGG  
CGGACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGCACGTGGCCGCG  
GCCAACCTGGTCACGGCGTACGAGCAGACCGTGAAGGAGGAGAGCAA  
CTTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCACCTGATCGCGCGCGA  
GGAGGTGACCCTGGGCCTGATGCACCTGTGGGACCTGCTGGAGGCCAT  
CGTGCAGAACCCCAACAGCAAGCCGCTGACGGCGCAGCTGTTCTTGGT  
GGTGCAGCATAGTCGGGACAACGAAGCGTTCAGGGAGGCGCTGCTGA  
ATATCACCGAGCCCGAGGGCCGCTGGCTCCTGGACCTGGTGAACATTC  
TGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCGGGCTGCCGCTGTCCGAGAAG  
CTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTGAGTTTGGGCAAGTACTACGCTA  
GGAAGATCTACAAGACCCCGTACGTGCCCATAGACAAGGAGGTGAAGA  
TCGACGGGTTTTACATGCGCATGACCCTGAAAGTGCTGACCCTGAGCG  
ACGATCTGGGGGTGTACCGCAACGACAGGATGCACCGTGCGGTGAGCG  
CCAGCAGGCGGCGCGAGCTGAGCGACCAGGAGCTGATGCATAGTCTGC  
AGCGGGCCCTGACCGGGGCGGGACCGAGGGGGAGAGCTACTTTGAC  
ATGGGCGCGGACCTGCACTGGCAGCCCAGCCGCGGGCCTTGAGGC  
GGCGGCAGGACCCTACGTAGAAGAGGTGGACGATGAGGTGGACGAGG  
AGGGCGAGTACCTGGAAGACTGATGGCGCGACCGTATTTTTGCTAGAT  
GCAACAACAACAGCCACCTCCTGATCCCGCGATGCGGGCGGCGCTGCA  
GAGCCAGCCGTCCGGCATTAACTCCTCGGACGATTGGACCCAGGCCAT

[0816]

GCAACGCATCATGGCGCTGACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGACA  
GCAGCCCCAGGCCAACCGGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGCC  
CTCGCGCTCCAACCCACGCACGAGAAGGTCTTGGCCATCGTGAACGC  
GCTGGTGGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAGGCCGGCCTGGTGT  
ACAACGCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCGCTACAACAGCACCAACGTG  
CAGACCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGC  
CCAGCGCGAGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGC  
GCTGAACGCCTTCCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCCGGGGCCA  
GGAGGACTACACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATGGTGACCGA  
GGTGCCCCAGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGGCCGGACTIONTCTTCCA  
GACCAGTCGCCAGGGCTTGCAGACCGTGAACCTGAGCCAGGCTTTCA  
AGAACTTGCAAGGGCCTGTGGGGCGTGCAGGCCCGGTGCGGGACCGC  
GCGACGGTGTGAGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGCCTGCTGCTGCTG  
CTGGTGGCCCCCTTCACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTCGTAC  
CTGGGCTACCTGATTAACCTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGGCGCAC  
GTGGACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCGCGCCCT  
GGGCCAGGACGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAACTTTTTTGCT  
GACCAACCGGTGCGAGAAGATCCCGCCCCAGTACGCGCTCAGCACCGA  
GGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTGGGCCTGTTCT  
GATGCAGGAGGGGGGCCACCCCGAGCGCCGCGCTCGACATGACCGCGC  
GCAACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGCCCGTTCATCAATA  
AACTGATGGACTACTTGCATCGGGCGGCCCGCCATGAACTCTGACTATTT  
CACCAACGCCATCCTGAATCCCCACTGGCTCCCGCCGCGGGGTTCTAC  
ACGGGCGAGTACGACATGCCCGACCCCAATGACGGGTTCTGTGGGAC  
GATGTGGACAGCAGCGTGTTCTCCCCCGACCGGGTGCTAACGAGCGC  
CCCTTGTTGGAAGAAGGAAGGCAGCGACCGACGCCCGTCTCGGCGCT  
GTCCGGCCGCGAGGGTGCTGCCGCGGCGGTGCCCGAGGCCGCCAGTC  
CTTTCCCGAGCTTGCCCTTCTCGCTGAACAGTATCCGCAGCAGCGAGCT  
GGGCAGGATCACGCGCCCGCGCTTGCTGGGCGAAGAGGAGTACTTGA  
ATGACTCGCTGTTGAGACCCGAGCGGGAGAAGAAGTTCCTCCAATAACG  
GGATAGAAAGCCTGGTGGACAAGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGC  
AGGAGCACAGGGACGATCCCCGGGCGTCGAGGGGGGCCACGAGCCGG  
GGCAGCGCCCGCCGTAAACGCCCGGTGGCACGACAGGCAGCGGGGACA  
GATGTGGGACGATGAGGACTCCGCCGACGACAGCAGCGTGTTGGACTION  
GGGTGGGAGTGGTAACCCGTTGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGCG  
CATGATGTAAGAGAAACCGAAAATAAATGATACTACCAAGGCCATGG  
CGACCAGCGTGCGTTTCGTTTCTTCTGTTGTTGTTGTATCTAGTATGAT  
GAGGCGTGCGTACCCGGAGGGTCTCTCTCCCTCGTACGAGAGCGTGAT  
GCAGCAGGCGATGGCGGGCGGCGCGCATGCAGCCCCCGCTGGAGGCTC  
CTTACGTGCCCCCGCGGTACCTGGCGCCTACGGAGGGGGCGGAACAGCA  
TTCGTTACTCGGAGCTGGCACCCCTTGTAACGATAACACCCGGTTGTACCT  
GGTGGACAACAAGTCGGCGGACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACG  
ACCACAGCAACTTCCTGACCACCGTGGTGCAGAACAATGACTTCACCC  
CCACGGAGGCCAGCACCCAGACCATCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGT  
GGGGCGGCCAGCTGAAAACCATCATGCACACCAACATGCCCAACGTGA  
ACGAGTTCATGTACAGCAACAAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCC  
GCAAGACCCCCAATGGGGTGACAGTGACAGAGGATTATGATGGTAGTC  
AGGATGAGCTGAAGTATGAATGGGTGGAATTTGAGCTGCCCCGAAGGCA  
ACTTCTCGGTGACCATGACCATCGACCTGATGAACAACGCCATCATCGA  
CAATTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAACGGGGTGCTGGAGAGCGACA

[0817]

TCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGAACTTCAGGCTGGGCTGGGACCCCG  
TGACCGAGCTGGTCATGCCCCGGGTGTACACCAACGAGGCTTTCCATC  
CCGATATTGTCTTGCTGCCCCGGCTGCGGGGTGGACTTCACCGAGAGCC  
GCCTCAGCAACCTGCTGGGCATTGCAAGAGGCAGCCCTTCCAGGAAG  
GCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAGGGGGGCAACATCCCCGCGC  
TCCTGGATGTCGACGCCTATGAGAAAAGCAAGGAGGATGCAGCAGCTG  
AAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTCTACCGAGGTCAGGGGCGATA  
ATTTTGCAAGCGCCGCAGCAGTGGCAGCGGCCGAGGCGGCTGAAACC  
GAAAGTAAGATAGTCATTACGCCGGTGGAGAAGGATAGCAAGAACAG  
GAGCTACAACGTACTACCGGACAAGATAAACACCGCCTACCGCAGCTG  
GTACCTAGCCTACAACCTATGGCGACCCCGAGAAGGGCGTGCCTCCTG  
GACGCTGCTCACCACCTCGGACGTCACCTGCGGCGTGGAGCAAGTCTA  
CTGGTCGCTGCCCCACATGATGCAAGACCCGGTCACCTTCCGCTCCAC  
GCGTCAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTGGGCGCCGAGCTCCTGCCCGT  
CTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGCAGGCCGTCTACTCGCAGCAGCT  
GCGCGCCTTACCTCGCTTACGCACGTCTTCAACCGCTTCCCCGAGAA  
CCAGATCCTCGTCCGCCCCGCCGCGCCACCATTACCACCGTCAGTGA  
AAACGTTCTGCTCTCACAGATCACGGGACCCTGCCGCTGCGCAGCAG  
TATCCGGGGAGTCCAGCGCGTGACCGTTACTGACGCCAGACGCCGCAC  
CTGCCCTACGTCTACAAGGCCCTGGGCATAGTCGCGCCGCGCGTCTC  
TCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGCCAGTAATAACA  
CCGGTTGGGGCCTGCGCGCGCCAGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGCC  
AACGCTCCACGCAACACCCCGTGCGCGTGCAGCGGGCACTTCCGCGCTC  
CCTGGGGCGCCCTCAAGGGCCGCGTGCGGTGCGGCACCACCGTCGAC  
GACGTGATCGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTACACCCCGCC  
GCCGCGCCCGTCTCCACCGTGGACGCCGTCATCGACAGCGTGGTGGCC  
GACGCGCGCCGGTACGCCCCGCGCCAAGAGCCGGCGGCGCGCATCGC  
CCGGCGGCACCGGAGCACCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGCT  
GCGCAGGGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCCATGCTCAGGGCGGCCA  
GACGCGCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGACGCGCG  
GCCACGGCGGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCGCGGCG  
AGGGAACGTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCGCGTGC  
CCGTGCGCACCCGCCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTCGCGATGT  
TGATGTGTCCAGCGGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAAATTCAAGGAA  
GAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCCTGCGGTGGTG  
AAGGAGGAAAGAAAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTCAAAAAGGACA  
AAAAGGAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGTTTGTGCGC  
GAGTTCGCCCCCGGCGGCGCGTGCAGTGGCGCGGGCGGAAGGTGCA  
ACCGGTGCTGAGACCCGGCACCAACCGTGGTCTTACGCCCCGCGAGC  
GCTCCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGAGGTGTACGGGGATG  
ATGATATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGCTTACG  
GCAAGCGCAGCCGTTCCGCAACCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATCCCG  
CTGGACCACGGCAACCCACGCCGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGCA  
GCAGGTGCTGCCGACCGCGGCGCCGCGCCGGGGTTCAAGCGCGAGG  
GCGAGGATCTGTACCCACCATGCAGCTGATGGTGCCCAAGCGCCAGA  
AGCTGGAAGACGTGCTGGAGACCATGAAGGTGGACCCGGACGTGCAG  
CCCGAGGTCAAGGTGCGGCCCATCAAGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGG  
CGTGCAGACCGTGGACATCAAGATTCCCACGGAGCCCATGGAAACGCA  
GACCGAGCCCATGATCAAGCCCAGCACCAAGCACCATGGAGGTGCAGA  
CGGATCCCTGGATGCCATCGGCTCCTAGTCGAAGACCCCGGCGCAAGT

[0818]

ACGGCGCGGCCAGCCTGCTGATGCCCAACTACGCGCTGCATCCTTCCAT  
CATCCCCACGCCGGGCTACCGCGGCACGCGCTTCTACCGCGGTCATACC  
AGCAGCCGCCCGCCGCAAGACCACCCTCGCCGCCCGCGTCCGCCGAC  
CGCCGCTGCAACCACCCCTGCCGCCCTGGTGCGGAGAGTGTACCGCCG  
CGGCCGCGCACCTCTGACCCTGCCGCGCGCGCGCTACCACCCGAGCAT  
CGCCATTAACTTTTCGCTGCTTTGCAGATCAATGGCCCTCACATGCC  
GCCTTCGCGTTCCATTACGGGCTACCGAGGAAGAAAACCGCGCCGTA  
GAAGGCTGGCGGGGAACGGGATGCGTCGCCACCACCACCGGCGGCGG  
CGCGCCATCAGCAAGCGGTTGGGGGGAGGCTTCCTGCCCGCGCTGATC  
CCCATCATCGCCGCGGCGATCGGGGCGATCCCCGGCATTGCTTCCGTGG  
CGGTGCAGGCCTCTCAGCGCCACTGAGACACACTTGGAACATCTTGT  
AATAAACCAATGGACTCTGACGCTCCTGGTCCTGTGATGTGTTTTCGTA  
GACAGATGGAAGACATCAATTTTTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCA  
CGCGGCCGTTTCATGGGCACCTGGAGCGACATCGGCACCAGCCAACTGA  
ACGGGGGCGCCTTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAGAATT  
TCGGGTCCACGCTTAAACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCACCA  
CAGGGCAGGCGCTGAGGGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAGCAG  
AAGGTGGTCGATGGGCTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGGACCTG  
GCCAACCAGGCCGTGCAGCGGCAGATCAACAGCCGCTGGACCCGGT  
GCCGCCCGCCGGCTCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGAGGAGGAGCTGC  
CTCCCCTGGACAAGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGCCCCGATGCGGAG  
GAGACGCTGCTGACGCACACGGACGAGCCGCCCCCGTACGAGGAGGC  
GGTGAAACTGGGTCTGCCCACCACGCGGCCCATCGCGCCCCTGGCCAC  
CGGGGTGCTGAAACCCGAAAAGCCCGCGACCCTGGACTTGCCTCCTCC  
CCAGCCTTCCCGCCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCTGCCGCCGGTGGC  
CGTGGCCCGCGCGCGACCCGGGGGCACCGCCCGCCCTCATGCGAACTG  
GCAGAGCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGGGAGTGCAGAGTGTGA  
AGCGCCGCGCTGCTATTAAACCTACCGTAGCGCTTAACTTGCTTGTCT  
GTGTGTGTATGTATTATGTCCCGCCGCGCTGTCCACCAGAAGGAGGA  
GTGAAGAGGCGCGTCGCCGAGTTGCAAGATGGCCACCCCATCGATGCT  
GCCCCAGTGGGCGTACATGCACATCGCCGACAGGACGCTTCCGAGTA  
CCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTGCCCGCGCCACAGACACCTACTT  
CAGTCTGGGGAACAAGTTTAGGAACCCACCGGTGGCGCCACGCACG  
ATGTGACCACCGACCGCAGCCAGCGGCTGACGCTGCGCTTCGTGCCCCG  
TGGACCGCGAGGACAACACCTACTCGTACAAAGTGCCTACACGCTGG  
CCGTGGGCGACAACCGCGTGCTGGACATGGCCAGCACCTACTTTGACA  
TCCGCGGCGTGCTGGATCGGGGCCCTAGCTTCAAACCTACTCCGGCA  
CCGCCTACAACAGTCTGGCCCCCAAGGGAGCACCCAACTTGTCACT  
GGACATATAAAGCCGATGGTGAACTGCCACAGAAAAAACCTATACAT  
ATGGAAATGCACCCGTGCAGGGCATTAAACATCACAAAAGATGGTATTCA  
ACTTGGAAGTACACCGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAAAACCTAT  
CAGCCTGAACCTCAAGTGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCACTGGT  
ACTGATGAAAAGTATGGAGGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAAAATG  
AAGCCTTGTTATGGTTCTTTTGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGGTC  
AGGCAAATGTGAAAACAGGAACAGGCACTACTAAAGAATATGACATAG  
ACATGGCTTTCTTTGACAACAGAAGTGCGGCTGCTGCTGGCCTAGCTC  
CAGAAATTGTTTTGTATACTGAAAATGTGGATTTGGAACTCCAGATAC  
CCATATTGTATACAAAGCAGGCACAGATGACAGCAGCTCTTCTATTAAAT  
TGGGTCAGCAAGCCATGCCCAACAGACCTAACTACATTGGTTTCAGAG  
ACAACCTTATCGGGCTCATGTACTACAACAGCACTGGCAATATGGGGGT

[0819]

GCTGGCCGGTCAGGCTTCTCAGCTGAATGCTGTGGTTGACTTGCAAGA  
CAGAAACACCGAGCTGTCTACCAGCTCTTGCTTGACTCTCTGGGTGA  
CAGAACCCGGTATTTAGTATGTGGAATCAGGCGGTGGACAGCTATGAT  
CCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGGTGTGGAGGATGAACTTCCCA  
ACTATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGAACAGATACTTATCAGGG  
AATTAAGGCTAATGGAACCTGATCAAACCACATGGACCAAAGATGACAG  
TGTCATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGGTAATCCATTTCGCCATGGAA  
ATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAACTTCCTCTACGCCAACGTG  
GCCCTGTACCTGCCCCGACTCTTACAAGTACACGCCGGCCAATGTTACCC  
TGCCCCACCAACACCAACACCTACGATTACATGAACGCCGGGTGGTGG  
CGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCAACATCGGGGCGCGCTGGTCGC  
TGGATCCCATGGACAACGTGAACCCCTTCAACCACCACCGCAATGCGG  
GGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCTGGGCAACGGGCGCTACGTGCCCT  
TCCACATCCAGGTGCCCCAGAAATTTTTTCGCCATCAAGAGCCTCCTGCT  
CCTGCCCCGGGTCTACACCTACGAGTGGAACCTTCGCAAGGACGTCAA  
CATGATCCTGCAGAGCTCCCTCGGCAACGACCTGCGCACGGACGGGGC  
CTCCATCTCCTTCACCAGCATCAACCTCTACGCCACCTTCTTCCCCATGG  
CGCACAACACGGCCTCCACGCTCGAGGCCATGCTGCGCAACGACACC  
AACGACCAGTCTTCAACGACTACCTCTCGGCGGCCAACATGCTCTAC  
CCCATCCCGGCCAACGCCACCAACGTGCCATCTCCATCCCCTCGCGCA  
ACTGGGCGCGCTTCCGCGGCTGGTCTTACGCGTCTCAAGACCAAGG  
AGACGCCCTCGCTGGGCTCCGGGTTCGACCCCTACTTCGTCTACTCGG  
GCTCCATCCCCTACCTCGACGGCACCTTCTACCTCAACCACACCTTCAA  
GAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCCGTACGCTGGCCCCGGCAACGA  
CCGGCTCCTGACGCCCAACGAGTTCGAAATCAAGCGCACCGTCGACGG  
CGAGGGCTACAACGTGGCCAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTCTT  
GGTCCAGATGCTGGCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTG  
CCCGAGGGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTCCGCAACTTCCAG  
CCCATGAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAACTACAAGGACTACCA  
GGCCGTCAACCCTGGCCTACCAGCACAACTCGGGCTTCGTGCGGCTA  
CCTCGCGCCCACCATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACCTACCC  
CTACCCGCTCATCGGCAAGAGCGCCGTCACCAGCGTCACCCAGAAAAA  
GTTCTCTGCGACAGGGTTCATGTGGCGCATCCCCTTCTCCAGCAACTTC  
ATGTCCATGGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTATGCCA  
ACTCCGCCCACGCGCTAGACATGAATTTTGAAGTCGACCCCATGGATG  
AGTCCACCCCTTCTCTATGTTGTCTTTCGAAGTCTTCGACGTGCTCCGAGT  
GCACCAGCCCCACCGCGGCGTCATCGAGGCCGTCTACCTGCGCACCCC  
CTTCTCGGCCGGTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTGCAAGCCA  
TGGCCGCGGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCATCCGCGACC  
TGGGCTGCGGGGCCCTACTTCTGGGCACCTTCGATAAGCGCTTCCCGG  
GATTCATGGCCCCGCACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAACACGGCCG  
GCCGCGAGACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCCTGGAACCCG  
CGCTCGAACACCTGCTACCTCTTCGACCCCTTCGGGTTCCTCGGACGAG  
CGCCTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGC  
AGCGCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACCCTGGAAAAGTCCAC  
CCAGACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCGCTGCGGGCTCTTCTGCTG  
CATGTTCTTGCACGCCTTCGTGCACTGGCCCGACCGCCCCATGGACAA  
GAACCCCAACCATGAACTTGCTGACGGGGGTGCCCAACGGCATGCTCCA  
GTCGCCCCAGGTGGAACCCACCCCTGCGCCGCAACCAGGAGGCGCTCTA  
CCGCTTCTCAACTCCCACTCCGCCTACTTTCGCTCCCAACCGCGCGCGC

[0820]

ATCGAGAAGGCCACCGCCTTCGACCGCATGAATCAAGACATGTAAACC  
GTGTGTGTATGTTAAATGTCTTTAATAAACAGCACTTTCATGTTACACAT  
GCATCTGAGATGATTTATTTAGAAATCGAAAGGGTTCTGCCGGGTCTCG  
GCATGGCCCCGCGGGCAGGGACACGTTGCGGAACCTGGTACTTGGCCAGC  
CACTTGAACCTCGGGGATCAGCAGTTTGGGCAGCGGGGTGTCGGGGAA  
GGAGTCGGTCCACAGCTTCCGCGTCAGTTGCAGGGCGCCAGCAGGTC  
GGGCGCGGAGATCTTGAAATCGCAGTTGGGACCCGCGTTCTGCGCGCG  
GGAGTTGCGGTACACGGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCCG  
GGTGCTTCACGCTCGCCAGCACCGTCGCGTCGGTGATGCTCTCCACGT  
CGAGGTCCTCGGCGTTGGCCATCCCGAAGGGGGTCATCTTGCAAGTCT  
GCCTTCCCATGGTGGGCACGCACCCGGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGT  
GCAGGGGGATCAGCATCATCTGGGCCTGGTCGGCGTTTCATCCCCGGGT  
ACATGGCCTTCATGAAAGCCTCCAATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTT  
GGCTCCCTCGGTGAAGAAGACCCCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTT  
GGTGCGCACCCGGCGTCGTGCACGCAGCAGCGCGCGTCGTTGTTGGC  
CAGCTGCACCACGCTGCGCCCCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCCG  
GTCGGGGTTCTCCTTCAGCGCGCGCTGCCCGTTCTCGCTCGCCACATCC  
ATCTCGATCATGTGCTCCTTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACC  
GCAGCTTGCCCTCGGCCTCGGTGCACCCGTGCAGCCACAGCGCGCACC  
CGGTGCACTCCCAAGTTCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGCGTGCACGA  
AGCCCTGCAGGAAGCGGCCCATCATGGTGGTCAAGGTCTTGTGCTAG  
TGAAGGTCAGCGGAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGTGGC  
AGATGCGGCGGTACACCTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAAGTTGG  
CTTTCAGGTGGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCATCAGCATAGTCATGAT  
TTCCATACCCTTCTCCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCTCATAGGGTTC  
TTCACCATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGGGTTCGCTCTCGT  
CCAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCCTTCTCGGTGATCCGCACCG  
GGGGGTAGCTGAAGCCCACGGCCGCCAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTT  
CGTCTCGCTGTCTTGCTGACGTCCTGCAGGACCACATGCTTGGTCTT  
GCGGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGAGATGTTGGAGATGG  
CGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCCTACTATCTCTTCTCTTCT  
TGGTCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTCTCTTCGGGGGCAGAGGC  
GGAGGCGACGGGCTCTCGCCGCCGCGACTTGGCGGATGGCTGGCAGA  
GCCCCTTCCGCGTTTCGGGGGTGCGCTCCCGGCGGCGCTCTGACTGACT  
TCCTCCGCGGCGGCCATTGTGTTCTCCTAGGGAGGAACAACAAGCAT  
GGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCCATCTGCCCCCACC GCCGACGA  
GAAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCCGCCAGCC  
CCGCCACCTCCGACGCGGCCGTCCAGACATGCAAGAGATGGAGGAAT  
CCATCGAGATTGACCTGGGCTATGTGACGCCCCGCGGAGCACGAGGAG  
AGCTGGCAGTCCGCTTTTCAAGAAGAGATACACCAAGAACAGCCA  
GAGCAGGAAGCAGAGAATGAGCAGAGTCAGGCTGGGCTCGAGCATGA  
CGGCGACTACCTCCACCTGAGCGGGGGGGAGGACGCGCTCATCAAGC  
ATCTGGCCCCGGCAGGCCACCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCA  
CCGAGGTGCCCTCAGCGTGGAGGAGCTCAGCCGCGCCTACGAGTTGA  
ACCTCTTCTCGCCGCGCGTGCCCCCAAGCGCCAGCCCAATGGCACCT  
GCGAGCCCAACCCGCGCCTCAACTTCTACCCGGTCTTCGCGGTGCCCG  
AGGCCCTGGCCACCTACCACATCTTTTTCAAGAACC AAAAGATCCCCG  
TCTCCTGCCGCGCCAACCGCACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAACCTGG  
GTCCCCGGCGCCCGCCTACCTGATATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTCCCAA  
GATCTTCGAGGGTCTGGGCAGCGACGAGACTCGGGCCGCGAACGCTCT

[0821]

GCAAGGAGAAGGAGGAGAGCATGAGCACCACAGCGCCCTGGTCGAGT  
TGAAGGCGACAACGCGCGGCTGGCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAG  
CTGACCCATTTTCGCTACCCGGCTCTGAACCTGCCCCCAAAGTCATGA  
GCGCGGTTCATGGACCAGGTGCTCATCAAGCGCGCGTCGCCCATCTCCG  
AGGACGAGGGCATGCAAGACTCCGAGGAGGGCAAGCCCGTGGTCAGC  
GACGAGCAGCTGGCCCGGTGGCTGGGTCTAATGCTAGTCCCCAGAGT  
TTGAAGAGCGGCGCAAACCTCATGATGGCCGTGGTCCTGGTGACCGTG  
GAGCTGGAGTGCCTGCGCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGACCCTGCGC  
AAGGTCGAGGAGAACCTGCACTACCTCTTCAGGCACGGGTTTCGTGCGC  
CAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGACCAACCTGGTCTCCTAC  
ATGGGCATCTTGCACGAGAACCGCCTGGGGCAGAACGTGCTGCACACC  
ACCCTGCGCGGGGAGGCCCGGCGCGACTACATCCGCGACTGCGTCTAC  
CTCTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTGTGGCAGCAG  
TGTCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTCTGCAAGCTCCTGCAGAA  
GAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGACGAGCGCACCACCGCCT  
CGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCAGGCTGACGCTGC  
GCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCATGTTGCAAAACTTTC  
GCTCTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCCGCCACCTGCTCCGC  
GCTGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCCGCGAGTGCCCCCGGCC  
GCTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGCCAACTACCTGGCCTA  
CCACTCGGACGTGATCGAGGACGTGAGCGGCGAGGGCCTGCTCGAGT  
GCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCACCGCTCCCTGGCCTGCA  
ACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCATCGGCACCTTCGAGTTGC  
AAGGGCCCAGCGAAGGCGAGGGTTCAGCCGCCAAGGGGGGTCTGAAA  
CTCACCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTCGTGCCC  
GAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAATCCCATC  
CGCCCAAGGCCGAGCTGTGCGCCTGCGTCATCACCCAGGGGGCGATCC  
TGGCCCAATTGCAAGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAATTCTTGCTGA  
AAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTCGACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTC  
AACCCCGGCTTCCCCCAGGATGCCCCGAGGAAACAAGAAGCTGAAAG  
TGGAGCTGCCGCCCGTGGAGGATTTGGAGGAAGACTGGGAGAACAGC  
AGTCAGGCAGAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTC  
AGGCAGAGGAGGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGA  
GGAGGCAGAGGAGGAGGTGGAAGAAGCAGCCGCCGCGCCAGACCGTCG  
TCCTCGGCGGGGGAGAAAGCAAGCAGCAGGATACCATCTCCGCTCCG  
GGTCGGGGTCCCGCTCGACCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGACG  
ATTCCCGAACCCACCCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGAT  
ACAAGTCCTGGCGGGGGCACAAAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGCAAG  
CCTGCGGGGGGCAACATCTCCTTACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCG  
CGGGGTGAACTTTCCCCGCAACATCTTGCACTTACTACCGTCACCTCCAC  
AGCCCCCTACTACTTCCAAGAAGAGGCAGCAGCAGCAGAAAAAGACCA  
GCAGAAAACCAGCAGCTAGAAAATCCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGA  
CTGAGGATCGCGGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAA  
CCGGATCTTTCCACCCCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCGAG  
GAGCAGGAAGTCAAAGTCAAGAACCGTTCTCTGCGCTCGCTCACCCGC  
AGTTGTCTGTATCACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAG  
GACGCCGAGGCTCTCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAG  
TAGCCCGCGCCCGCCAGTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTACCT  
GTGCCCTTCGCCCTAGCCGCTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGATT  
CCCACGCCTTACATGTGGAGCTACCAGCCCCAGATGGGCCTGGCCGCC

[0822]

GGTGCCGCCAGGACTACTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCGCCGGG  
CCCGCGATGATCTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCACCGAAACAG  
ATACTCCTAGAACAGTCAGCGCTCACCGCCACGCCCCGCAATCACCTC  
AATCCGCGTAATTGGCCCCGCCGCCCTGGTGTACCAGGAAATCCCCAGC  
CCACGACCGTACTACTTCCGCGAGACGCCCAGGCCGAAGTCCAGCTGA  
CTAACTCAGGTGTCCAGCTGGCGGGCGGCCACCCTGTGTCTGTCACC  
GCCCCGCTCAGGGTATAAAGCGGCTGGTGTATCCGGGGCAGAGGCACAC  
AGCTCAACGACGAGGTGGTGAGCTCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACG  
GAGTCTTCCAACCTCGCCGGATCGGGGAGATCTTCCTTCACGCCTCGTCA  
GGCCGTCTGACTTTGGAGAGTTCGTCTCGCAGCCCCGCTCGGGTGG  
CATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGAGGAGTTCACTCCCTCGGTCTACTTC  
AACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCACTACCCGGACGAGTTCATCCCG  
AACTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGTGGACGGCTACGATTGAAACTAA  
TCACCCCCTTATCCAGTGAAATAAAGATCATATTGATGATGATTTTACAG  
AAATAAAAAATAATCATTTGATTTGAAATAAAGATACAATCATATTGATG  
ATTTGAGTTTAAACAAAAATAAAGAATCACTTACTTGAAATCTGATAC  
CAGGTCTCTGTCCATGTTTTCTGCCAACACCCTTCACTCCCCTCTTCC  
CAGCTCTGGTACTGCAGGCCCCGGCGGGCTGCAAACCTTCTCCACACG  
CTGAAGGGGATGTCAAATTCCTCCTGTCCCTCAATCTTCATTTTATCTTC  
TATCAGATGTCCAAAAGCGCGTCCGGGTGGATGATGACTTCGACCCC  
GTCTACCCCTACGATGCAGACAACGCACCGACCGTGCCCTTCATCAAC  
CCCCCTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCAAGAGAAGCCCCCTGGGGGTG  
TTGTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCACCACCAAGAACGGGGAAATC  
ACCCTCAAGCTGGGAGAGGGGGTGGACCTCGATTCTCGGGAAAACCT  
CATCTCCAACACGGCCACCAAGGCCGCCGCCCTCTCAGTTTTTCCAA  
CAACACCATTTCCCTTAACATGGATCACCCCTTTTACACTAAAGATGGA  
AAATTATCCTTACAAGTTTTCTCCACCATTAATATACTGAGAACAAAGCAT  
TCTAAACACACTAGCTTTAGGTTTTGGATCAGGTTTAGGACTCCGTGGC  
TCTGCCTTGGCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTTGATACTGATGG  
AAACATAAAGCTTACCTTAGACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGGAGA  
TGCAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAAATTTGAAGA  
TGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTTAGAGTTTGAAGCAG  
TAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAACTT  
GGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGGTAACA  
AAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCCATCACCAA  
ACTGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGCAAAACTAACACTTTGCTTGA  
CTAAATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCAGTCTTAGTTGTAGG  
AAGTGGAAACCTAAACCCCATTAAGTGGCACCCTAAGCAGTGCTCAGGT  
GTTTCTACGTTTTGATGCAAACGGTGTTCTTTTAAACAGAACATTCTACA  
CTAAAAAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGATAGCATAGATGGCACT  
CCATATACCAATGCTGTAGGATTCATGCCCAATTTAAAAGCTTATCCAAA  
GTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGTATACATG  
AATGGAGATGTTTCAAAACCTATGCTTCTCACTATAACCCTCAATGGTAC  
TGATGACAGCAACAGTACATATTCAATGTCATTTTCATACACCTGGACTA  
ATGGAAGCTATGTTGGAGCAACATTTGGGGCTAACTCTTATACCTTCTC  
ATACATCGCCCAAGAATGAACACTGTATCCCACCCTGCATGCCAACCCT  
TCCCACCCCACTCTGTGGAACAACTCTGAAACACAAAATAAAATAAA  
GTTCAAGTGTTTTATTGATTCAACAGTTTTACAGGATTCGAGCAGTTATT  
TTTCTCCACCCTCCCAGGACATGGAATACACCACCCTCTCCCCCGCA  
CAGCCTTGAACATCTGAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTTGGTCTC

[0823]

CACGTTCCACACAGTTTCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGA  
GATGAAACCCCTCCGGGCACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTCAACAG  
CTGAGGATTGTCTCGGTGGTTCGGGATCACGGTTATCTGGAAGAAGCA  
GAAGAGCGGCGGTGGGAATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTG  
GTGTGCGATCAGGCCCGCAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAA  
GCTGCTGCTCAGGGGGTCCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCC  
CACGGCCCTCAGCATCAGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCAT  
GCGGATCTCGCTCAGGTCGCTGCAGTACGTGCAACACAGAACCACCAG  
GTTGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAAACTCATCGC  
GGGAAGGATGCTACCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAAAT  
CAAGTGGTGCCCCCTCCAGAACACGCTGCCACGTACATGATCTCCTTG  
GGCATGTGGCGGTTACCCACCTCCCGGTACCACATCACCTCTGGTTGA  
ACATGCAGCCCCGGATGATCTGCGGAACACAGGGCCAGCACCGCCC  
CGCCCGCCATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAATGGCAATGG  
AGGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCTGAACAAGTCT  
ATGTTGGCACAGCACAGGCATATGCTCATGCATCTCTTCAGCACTCTCA  
ACTCTCGGGGGTCAAAACCATATCCCAGGGCACGGGGAACCTTTGCA  
GGACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCCTCGCACAGAACTTACAT  
TGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGCACCGGGTGATCCTCCA  
CCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCACAGCGTGGTAAGGGGGCC  
GGCCGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGCTGATCGTGTTCGCGACCGT  
GTCATGATGCAGTTGCTTTCGGACATTTTCGTACTTGCTGTAGCAGAAC  
CTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGCCGGCGGGCGGTCTCGGCGCTTG  
GAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAACAGCCACTCTCTCAGACCGTGC  
AGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATCATGCCTGATGG  
CTCTGATCACATCGACCACCGTGGAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGA  
TGCAATTTTGTGTTGGGTTTCGGTGACGGCGAGCCTCGGGAACAACGATG  
AAGTAAATGCAAGCGGTGCGTTCCAGCATGGTTAGTTAGCTGATCTGTA  
GAAAAAACAAAAATGAACATTAAACCATGCTAGCCTGGCGAACAGGTG  
GGTAAATCGTTCTCTCCAGCACCGGCAGGCCACGGGGTCTCCGCGCGC  
GACCTCTCGTAAAAATTGTGCTATGATTGAAAACCATCACAGAGAGAC  
GTTCCCGGTGGCCGGCGTGAATGATTGACAAGATGAATACACCCCCG  
GAACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAAAGCGCCCGAGGAAGCAATAA  
GGCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCGGA  
TGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAATTACTCCCTCCT  
GCACAGGCAGCAAAGCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAAGCCT  
CAGCGTCCATAGCTTACCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCAAGAGT  
CAGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCTCAATATA  
TAGCCCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAAAATACCCGC  
CAAATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAAACCGGTGACACACT  
CAAAAAAATACGCGCACTTCCTCAAACGCCCAAACTGCCGTCAATTC  
CGGGTTCCCACGCTACGTCATCAAAACACGACTTTCAAATTCCGTCGAC  
CGTTAAAAACGTCACCCGCCCGGCCCTAACGGTCGCCCGTCTCTCAG  
CCAATCAGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAACACCTCATTTGCATATTA  
ACGCGCACAAAAAGTTTGAGGTATATTATTGATGATG

[0824] 免疫监测小鼠从免疫小鼠的新鲜收集的脾脏和淋巴结中分离淋巴细胞。根据制造商的说明,使用GentleMACS组织解离器将组织在含有10%胎牛血清与青霉素和链霉素的RPMI (完全RPMI) 中解离。将新鲜分离的淋巴细胞以 $2-5 \times 10^6$ 个细胞/mL的密度与10uM的指定肽温育2小时。两小时后,添加布雷菲尔德菌素A至5ug/ml的浓度,并且将细胞与刺激剂再温育4小时。刺激后,根据制造商的方案,用可固定活力染料eFluor780标记活细胞,并以1:400

稀释度用抗CD8APC(克隆53-6.7,BioLegend)染色。抗IFN $\gamma$ PE(克隆XMG1.2,BioLegend)以1:100用于细胞内染色。在Attune NxT流式细胞仪(Thermo Scientific)上收集样品。使用FlowJo标绘流式细胞仪数据并分析。为了评估抗原特异性反应的程度,响应于每个肽刺激剂,计算CD8 $^{+}$ 细胞的IFN $\gamma^{+}$ 百分比和总IFN $\gamma^{+}$ 细胞数/ $1 \times 10^6$ 个活细胞。

#### [0825] 免疫监测NHP

[0826] 在初次接种疫苗后的指定时间,使用淋巴细胞分离培养基(LSM,MP Biomedicals)和LeucoSep分离管(Greiner Bio-One)分离PBMC,并重悬于含有10%FBS和青霉素/链霉素的RPMI中。使用碘化丙锭染色在AttuneNxT流式细胞仪(ThermoFisher)上对细胞计数以排除死亡和凋亡的细胞。然后将细胞调整至适当的活细胞浓度以供后续分析。对于研究中的每只猴子,使用ELISpot或流式细胞术方法测量T细胞反应。通过使用离体酶联免疫斑点(ELISpot)分析测量例如IFN- $\gamma$ 的细胞因子的诱导来监测PBMC中针对疫苗中编码的6个不同恒河猴Mamu-A\*01的I类表位的T细胞反应。ELISpot分析是根据ELISPOT统一准则{DOI: 10.1038/nprot.2015.068},利用猴IFN $\gamma$  ELISpotPLUS试剂盒(MABTECH)进行。将200,000个PBMC与10 $\mu$ M指定肽一起在包被有IFN $\gamma$ 抗体的96孔板中温育16小时。使用碱性磷酸酶使斑点显色。将反应定时10分钟并通过用自来水流过板终止反应。使用AIDvSpot读取器谱对斑点计数。对于ELISPOT分析,将饱和度>50%的孔记录为“太多而无法计数”。将重复孔的偏差>10%的样品从分析中排除。然后,使用下式,针对孔汇合校正斑点计数:斑点计数+2 $\times$ (斑点计数 $\times$ 汇合%/[100%-汇合%])。通过用抗原刺激的孔减去阴性肽刺激孔中的斑点计数来校正阴性背景。最后,将标记为太多而无法计数的孔设定成最高观测校正值,四舍五入至最接近的百分数。

#### [0827] 结果

[0828] 如所述,在蚀斑分离期间选择表达模型TSNA盒MAG(ChAdV68.5WTnt.MAG25mer;SEQ ID NO:2)的快速生长/适合的ChAdV68病毒。在最初75个蚀斑中,如CPE(细胞致病作用)的某些迹象所表明,有33个产生病毒,并且如由温育7天后的明显蚀斑数量或蚀斑大小所表明,其中8个比其余生长得更快。选择快速生长的克隆用于在400mL 293F(ThermoFisher目录号A14528)悬浮培养物中产生病毒。确定8个克隆的感染单位(IU)滴度。如图25所示,所有选择的克隆均显示IU滴度等于或大于未纯化的汇集病毒参考。相对于未纯化的汇集病毒参考,克隆1、24和60展示IU滴度提高至少9倍。

[0829] 通过NGS进一步分析克隆1、24和60(3个生产力最高的克隆),并且指示每个克隆均含有E4区中的缺失。两个克隆(克隆1A和克隆24)在E4orf2-E4orf4之间,具体来说在野生型ChAdV68病毒(SEQ ID NO:1)的34,916至35,642bp之间共有相同的727bp突变(图26)。克隆60在E4orf1-E4orf3区(34,980-36,516)中缺失,但缺失较大(1539bp)。基于这些缺失,两个克隆集合都共有Orf 2和3缺失(34,979-35,642),表明Orf2和3缺失有助于提高生产能力。

[0830] 产生三个E4缺失的病毒载体,其缺失在克隆1A和24中缺失的E4区部分,并与其原始非E4缺失载体进行比较。选择的载体是1) ChAdV-空(“空”),无盒或调控区(启动子或poly-A),2) ChAdV68.5WTnt.GFP(SEQ ID NO:13;“GFP”),和3) ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(SEQ ID NO:2;“MAG”)。它们都是基于序列AC\_000011.1,其中E1(nt577至3403)和E3缺失(nt 27,125-31,825)[SEQ ID NO:1]。将这些载体与我们所鉴定的相同但在E4区(SEQ ID NO:1的34,916至35,642)中缺失;ChAdV68-空-E4缺失(SEQ ID NO:59;“E4 $\delta$ ”)、ChAdV68-

GFP-E4缺失(SEQ ID NO:58;“GFP E4 $\delta$ ”)和ChAdV68-MAG-E4缺失(SEQ ID NO:57;“MAG E4 $\delta$ ”和“ChAdV68-MAG-E4”)的载体分别进行比较。制备这六种载体,并确定病毒颗粒(VP)和感染单位(IU)滴度。以400mL的生产规模评价生产能力。如图27所示,在每个比较中,E4缺失型式均展示病毒颗粒滴度(左图)和感染单位滴度(右图)增加。

[0831] 在E4缺失载体和非缺失载体之间比较MAG盒的表达。如图28所示,对感染ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(“MAG”)和ChAdV68-MAG-E4缺失(“MAG-E4”)病毒的HEK293F细胞溶解产物进行的蛋白质印迹分析表明,E4缺失病毒与非E4缺失病毒相比表达更高水平的MAG盒。

[0832] 然后比较ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(“ChAdV68-MAG”)和其E4缺失对应物ChAdV68-MAG-E4缺失(“ChAdV68-E4 $\delta$ ”)对小鼠实施免疫。在用AH1肽刺激后,通过ICS分析T细胞反应的IFN- $\gamma$ 产生。如图42A和表41A所示,用E4缺失载体进行的免疫在两种测试剂量下均展现至少等效的免疫应答(左图 $1 \times 10^9$ ,右图 $1 \times 10^{10}$ ),E4缺失载体中应答增加有积极趋势。

[0833] 表41A-E4缺失ChAdV68的IFN- $\gamma$ 产生(ICS)

| [0834] | 处理                  | 剂量       | 平均 IFN $\gamma$ + CD8 的百分比 | 标准偏差     | N |
|--------|---------------------|----------|----------------------------|----------|---|
|        | ChAdV68-MAG         | 1.00E+10 | 1.040875                   | 0.211938 | 8 |
|        | ChAdV68-E4 $\delta$ | 1.00E+10 | 1.084125                   | 0.213109 | 8 |
|        | ChAdV68-MAG         | 1.00E+09 | 0.61575                    | 0.202046 | 8 |
|        | ChAdV68-E4 $\delta$ | 1.00E+09 | 0.800125                   | 0.189558 | 8 |

[0835] 然后用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(“ChAdV68-CMV-MAG”;SEQ ID NO:2)或ChAdV68-E4d-CMT-MAG(SEQ ID NO:71)对恒河猴实施免疫,每个组也施用抗CTLA4抗体(伊匹单抗)。在用6种不同恒河猴Mamu-A\*01I类表位刺激后,通过ELISpot测定T细胞反应的IFN- $\gamma$ 产生。如图42B和图42C所示,并且在表41B(ChAdV68-CMV-MAG)和表41C(ChAdV68-E4d-CMT-MAG)中定量,用E4缺失载体进行免疫展现至少等效的免疫应答,E4缺失载体中应答增加有积极趋势。

[0836] 表41B:对于ChAdV68-CMV-MAG的每个表位每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数 $\pm$ SEM

| 周 | 抗原        |           |            |         |         |            |
|---|-----------|-----------|------------|---------|---------|------------|
|   | Env CL9   | Env TL9   | Gag CM9    | Gag LW9 | Pol SV9 | Tat TL8    |
| 1 | 531+/-131 | 950+/-215 | 654+/-216  | 14+/-6  | 12+/-0  | 1460+/-272 |
| 2 | 399+/-74  | 887+/-159 | 924+/-351  | 0+/-0   | 0+/-0   | 1986+/-434 |
| 3 | 312+/-101 | 616+/-155 | 675+/-212  | 0+/-0   | 0+/-0   | 1795+/-481 |
| 4 | 533+/-151 | 851+/-129 | 1011+/-207 | 10+/-7  | 73+/-12 | 2290+/-729 |

[0838] 表41C:对于ChAdV68-E4d-CMT-MAG的每个表位每 $10^6$ 个PBMC的平均斑点形成细胞(SFC)数 $\pm$ SEM

[0839]

| 周 | 抗原         |            |            |         |           |             |
|---|------------|------------|------------|---------|-----------|-------------|
|   | Env CL9    | Env TL9    | Gag CM9    | Gag LW9 | Pol SV9   | Tat TL8     |
| 1 | 1037+/-285 | 966+/-287  | 1341+/-470 | 20+/-13 | 10+/-9    | 2777+/-1180 |
| 2 | 707+/-376  | 905+/-343  | 1217+/-543 | 0+/-0   | 0+/-0     | 1805+/-681  |
| 3 | 612+/-302  | 1038+/-361 | 1040+/-474 | 0+/-0   | 0+/-0     | 1906+/-462  |
| 4 | 1237+/-722 | 1282+/-665 | 1487+/-760 | 3+/-2   | 183+/-122 | 2084+/-943  |

[0840] XXI.TETr调控盒表达系统的构建

[0841] 建立TETr调控病毒表达系统,以在病毒产生过程中最小化盒中编码的核酸,例如疫苗中编码盒的抗原的转录。图43说明了使用抗原编码疫苗的实例的四环素控制的病毒产生系统的一个实例的总体策略,即:

[0842] -表达TET阻遏蛋白(TETr)的293F细胞通过与最小CMV启动子上游的TET操纵子序列结合来阻遏疫苗盒的表达

[0843] -盒序列的转录促进腺病毒产生而不影响盒表达

[0844] -一旦体内施用,即不存在阻遏物,并且盒的转录可不受阻碍地进行

[0845] 图44A呈现了显示关于待表达的启动子和盒的TET反应区(称为“TETo”反应区)的一个实例的排列的示意图。TET反应区由在每个TETo之间用间隔子(aaagtgaagtgcgagtttaccac;SEQ ID NO:70)连接的19 bp TET操纵子(TETo)序列(TCCCTATCAGTGATAGAGA;SEQ ID NO:60)的七个重复序列组成。TET反应区位于最小CMV启动子(67bp;参见SEQ ID NO:61)和盒位置起点的上游(5′)。TETo反应区和启动子序列的排列以SEQ ID NO:61显示和描述。

[0846] 图44B呈现了显示关于有待表达的启动子和盒的TET反应区(称为“CMT”反应区)的另一个实例的排列的示意图。TET反应区包括用两个核苷酸间隔子连接在一起的19bp TET操纵子(TETo)序列(TCCCTATCAGTGATAGAGA;SEQ ID NO:60)的两个重复序列。TET反应区位于全长CMV启动子(605bp;参见SEQ ID NO:64)的下游(3′)并位于盒位置起点的上游(5′)。CMT反应区和启动子序列的排列以SEQ ID NO:64显示和描述。

[0847] 将TETo反应区插入ChAdV68.5WTnt.GFP(SEQ ID NO:13)的I-SceI与AsisI位点之间,以产生ChAdV68-TETo-GFP。将TETr序列(tTS;SEQ ID NO:62)克隆至慢病毒pLX载体中以产生pLXCMV-tTS-iPuro,并用于转导293F细胞。下面呈现了用于构建系统的序列。在嘌呤霉素选择后产生克隆293F TETr细胞系。评价GFP转基因表达以通过TETr细胞系体外评估表达调控。如图45A所示,在感染ChAdV68-TETo-GFP病毒后,相对于亲本293F细胞系(左图),表达TETr的293F细胞(克隆17,右图)中的GFP显著降低。

[0848] 使用插入在ChAdV68-空-E4缺失(SEQ ID NO:59)的I-SceI与AsisI位点之间的CMT反应区,并用插入SEAP代替缺失的E1(ChAdV68-E4d-CMT-SEAP),生成分泌型胚胎碱性磷酸酶SEAP报告构建体。293F细胞以0.3的MOI感染,并在24小时后收集培养基用于SEAP测定(Phospha-Light™ System(Applied Biosystems),所述SEAP测定使用化学发光底物检测分泌型碱性磷酸酶),接着根据制造商的说明进行操作。如图45B3所示,在感染ChAdV68-

E4d-CMT-SEAP病毒后,在表达TETr的293F细胞(“tTS克隆17”)中,SEAP分泌减少120倍至背景水平,其中使用表达对照表达盒的ChAdV68载体相对于亲本293F细胞系(“293F”)设置背景。因此,当在体外表达TETr的细胞系中使用时,由TETr控制的启动子表达的腺病毒盒展现降低的盒表达。

[0849]

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>ChAdV68 载体骨架的 I-SceI 与 AsisI 位点之间的 TETo 反应区。(SEQ ID NO:61)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |  |
| <b>19bp TETo 序列的七个重复序列之一是粗斜体。最小 CMV 启动子是粗体</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |  |
| ccatgttgacattgattattgactagttattaaagtact <b>tcctatcagtgatagagaaaagt</b> gaaagtcgagttaccactcc<br>ctatcagtgatagagaaaagtgaaagtcgagttaccactccctatcagtgatagagaaaagtgaaagtcgagttaccact<br>ccctatcagtgatagagaaaagtgaaagtcgagttaccactccctatcagtgatagagaaaagtgaaagtcgagttacca<br>ctccctatcagtgatagagaaaagtgaaagtcgagttaccactccctatcagtgatagagaaaagtgaaagtcgagctcg<br>gtacccgggtcgaggtagg <b>cggtacgggtgggaggcctatataagcagagctcgtttagtgaaccgtcagatcgcc</b><br><b>tggag</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| <b>TETr 序列(tTS)核酸序列(SEQ ID NO:62)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |  |
| ATGAGCAGACTGGACAAGAGCAAAGTGATCAACAGCGCCCTGGAAGTGC<br>TGAACGAAGTGGGCATCGAGGGCCTGACAACCAGAAAGCTGGCCCAGAA<br>GCTGGGCGTTGAGCAGCCTACACTGTATTGGCACGTGCGGAACAAGCAG<br>ACCCTGATGAATATGCTGAGCGAGGCCATCCTGGCCAAGCACCATACAA<br>GATCTGCCCCCTCTGCCAACCGAGAGCTGGCAGCAGTTTCTGCAAGAGAAC<br>GCCCTGAGCTTCAGAAAGGCCCTGCTGGTGCATAGAGATGGCGCCAGACT<br>GCACATCGGCACATCTCCACACCTCCACAGTTTGAGCAGGCTGAGGCAC<br>AGCTGAGATGTCTGTGTGATGCCGGCTTTAGCGTGGAAGAGGCCCTGTTC<br>ATCCTGCAGTCCATCAGCCACTTTACACTGGGCGCCGTGCTGGAAGAACA<br>GGCCACCAACCAGATCGAGAACAACCACGTGATCGACGCTGCCCCCTCCA<br>CTGCTGCAAGAGGCCTTCAATATCCAAGCCAGAACCAGCGCCGAGATGG<br>CCTTCCACTTTGGCCTGAAGTCCCTGATCTTTGGCTTCAGCGCCCAGCTGG<br>ACGAGAAGAAGCACACACCTATCGAGGACGGCAACAAGCCCAAGAAGA<br>AGCGGAAGCTGGCCGTCAGCGTGACCTTTGAAGATGTGGCCGTGCTGTTC<br>ACCCGGGACGAGTGGAAGAACTGGACCTGAGCCAGCGGAGCCTGTACC<br>GGGAAGTGATGCTGGAAACTACAGCAACCTGGCCTCCATGGCCGGCTTT<br>CTGTTACCAAGCCTAAAGTGATCTCCCTGCTTCAGCAGGGCGAAGATCC<br>TTGGTAA |  |
| <b>TETr 序列(tTS)氨基酸序列(SEQ ID NO:63)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |  |

[0850]

MSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVRNKQTL  
MNMLSEAILAKHHTRSAPLPTESWQQFLQENALSFRKALLVHRDGARLHIGT  
SPTPPQFEQAEALRCLCDAGFSVEEALFILQSIHFTLGAVLEEQATNQIENN  
HVIDAAPPLLQEA FNQARTSAEMAFHFGLKSLIFGFS AQLDEKKHTPIEDGN  
KPKKKRKLAVSVTFEDVAVLFTRDEWKKLDLSQRS LYREVMLENYSNLAS  
MAGFLFTKPKVISLLQQGEDPW

**ChAdV68 载体骨架的 I-SceI 与 AsisI 位点之间的 CMT 反应区。(SEQ ID NO:64)**  
**19bp TETo 序列的两个重复序列是粗体。全长 CMV 启动子是斜体。**

GACATTGATTATTGACTAGTTGTTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTA  
GTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCC  
CGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTAT  
GTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTAT  
TTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCG  
CCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTA  
CATGACCTTACGGGACTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGC  
TATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGT  
TTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGT  
TTTGGCACCAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCCGT  
TGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGC  
TCTCCCTATCAGTGATAGAGATCTCCCTATCAGTGATAGAGATC

[0851] XXII. TETr 调控的盒表达系统中的病毒产生

[0852] 将 TETo 反应区插入 ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (“ChAdV68-CMV-MAG;” SEQ ID NO: 2) 的 I-SceI 与 AsisI 位点之间, 以产生在 TET 调控启动子的控制下表达模型抗原盒的 ChAdV68-TETo-MAG 病毒 (SEQ ID NO: 65)。比较表达 TETr 的细胞系 (克隆 17) 与不表达 TETr 的亲本细胞系 (293F) 之间的病毒产生。如图 46 所示, 如通过三个独立重复物中的病毒颗粒 (VP; 上图) 和感染单位 (IU; 下图) 滴度所评估, 病毒产量得以提高。

[0853] 还将在表达 TETr 的细胞系 (克隆 17) 中产生的 ChAdV68-TETo-MAG 病毒的病毒产生与缺乏 TETo 序列的病毒 (“ChAdV68-CMV-MAG”) 进行比较。如图 47A 所示, 相对于 ChAdV68-CMV-MAG, ChAdV68-TETo-MAG 病毒的病毒产量提高 3.4 倍。这些结果表明递送的盒转基因的体外表达降低, 转化为更一致且提高的病毒生产能力。

[0854] 对于一系列病毒构建体, 包括以 E4 缺失和 TET 反应元件为特征的构建体, 进一步比较表达 TETr 的细胞系 (tTS 克隆 17) 中产生的病毒产生。所述构建体均表达相同的对照肿瘤特异性新抗原 (TSNA) 盒。如所示, 以 E1/E3 缺失和 5 个核苷酸取代为特征的一般骨架与 ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (SEQ ID NO: 2) 相同, 其中在 I-SceI 与 AsisI 位点之间插入 TETo 和 CMT 反应区, 并用 MAG25mer 盒代替 TSNA 盒。缺失的 E4 区是上文鉴定者 (SEQ ID NO: 1 的 34,916 至 35,642 缺失)。所研究的各种构建体描述如下:

[0855] -ChAdV68-CMV-TSNA; E1/E3 缺失, 全长 CMV 启动子

[0856] -ChAdV68-CT-TSNA; E1/E3 缺失, 全长 CMV 启动子, 使用替代密码子优化进行密码子优化的 TSNA 盒 (SEQ ID NO: 66)

[0857] -ChAdV68-TETo-TSNA; E1/E3 缺失, 用最小 CMV 启动子上游 (5') 的间隔子连接的 TETo 的 7 个重复序列 (“TETo” 反应区) (SEQ ID NO: 67)

[0858] -ChAdV68-CMT-TSNA; E1/E3 缺失, 全长 CMV 启动子下游 (3') 的直接连接在一起的 TETo 的 2 个重复序列 (“CMT” 反应区) (SEQ ID NO: 68)

[0859] -ChAdV68-E4d-CMT-TSNA;E1/E3/E4缺失,全长CMV启动子下游(3′)的直接连接在一起的TETo的2个重复序列(SEQ ID NO:69)

[0860] 如图47B所示,ChAdV68-CT-TSNA、ChAdV68-TETo-TSNA、ChAdV68-CMT-TSNA和ChAdV68-E4d-CMT-TSNA病毒的病毒产量相对于ChAdV68-CMV-TSNA分别提高约6倍、39倍、137倍或300倍。还评估了病毒颗粒与感染单位的比率,以测量病毒的感染能力,并且通过将病毒颗粒(VP)滴度/mL除以感染单位(IU)滴度/mL来计算,其中较低比率表示每个粒子的较高感染性(比率为1:1代表每个粒子具感染性的理想比率)。如表42A所示,相对于ChAdV68-CMV-TSNA,TET控制的载体ChAdV68-TETo-TSNA、ChAdV68-CMT-TSNA和ChAdV68-E4d-CMT-TSNA均展现出提高的感染能力,其中CMT载体展现最佳感染能力。

[0861] 对于以大型模型抗原盒(50XXL;参见图29和表32-34)或M2.2模型抗原盒为特征的构建体,评估另一系列病毒构建体(包括以E4缺失和TET反应元件为特征的构建体)的病毒产生。如所示,以E1/E3缺失和5个核苷酸取代为特征的一般骨架与ChAdV68.5WTnt.MAG25mer(SEQ ID NO:2)相同,其中在I-SceI与AsiI位点之间插入TETo和CMT反应区,并且用MAG25mer盒取代指定盒。缺失的E4区是上文鉴定者(SEQ ID NO:1的34,916至35,642缺失)。所研究的各种构建体描述如下:

[0862] -ChAdV68-CMV-50XXL;E1/E3缺失,全长CMV启动子,使用Genscrip密码子优化工具对50XXL盒进行密码子优化

[0863] -ChAdV68-CMT-50XXL;E1/E3缺失,全长CMV启动子下游(3′)的直接连接在一起的TETo的2个重复序列,使用Genscrip密码子优化工具对50XXL盒进行密码子优化

[0864] -ChAdV68-CT-50XXL;E1/E3缺失,全长CMV启动子,使用替代密码子优化工具对50XXL盒进行密码子优化

[0865] -ChAdV68-E4d-CMT-50XXL;E1/E3/E4缺失,全长CMV启动子下游(3′)的直接连接在一起的TETo的2个重复序列;使用Genscrip密码子优化工具对50XXL盒进行密码子优化

[0866] -ChAdV68-CMV-M2.2;E1/E3缺失,全长CMV启动子,使用Genscrip密码子优化工具对M2.2盒进行密码子优化

[0867] -ChAdV68-CMT-M2.2;E1/E3缺失,全长CMV启动子下游(3′)的直接连接在一起的TETo的2个重复序列,使用Genscrip密码子优化工具对M2.2盒进行密码子优化

[0868] -ChAdV68-E4d-CMT-M2.2;E1/E3/E4缺失,全长CMV启动子下游(3′)的直接连接在一起的TETo的2个重复序列,使用Genscrip密码子优化工具对M2.2盒进行密码子优化

[0869] 如图47C所示,通过在表达tTS的细胞系中使用具有CMT反应区的腺病毒载体,可提高模型抗原盒50XXL和M2.2的病毒产生。例如,相对于亲本293F细胞系(左图;左起第二栏),在表达tTS的细胞系(左图;中栏)中,ChAdV68-CMT-50XXL的病毒产量几乎是10倍,并且相对于亲本293F细胞系中缺少CMT反应区的载体(右图;左栏),ChAdV68-CMT-M2.2是15倍(右图;中栏)。在50XXL构建体的情况下,通过将CMT反应区与E4缺失(左图中栏与左图右栏)组合,可进一步提高病毒产量。在某些情况下,还通过替代密码子优化实现改进(如关于ChAdV68-CT-50XXL所示)。还评估了病毒颗粒与感染单位的比率。如表42C所示,相对于不具有E4缺失和TET反应元件的载体,在E4缺失背景中TET控制的载体均展现出提高的感染能力。

[0870] 表42A-病毒颗粒/感染单位比率,TSNA构建体

|        |     |         |
|--------|-----|---------|
| [0871] | 构建体 | VP:IU比率 |
|--------|-----|---------|

|                      |       |
|----------------------|-------|
| ChAdV68-CMV-TSNA     | 591:1 |
| ChAdV68-CT-TSNA      | 63:1  |
| ChAdV68-TETo-TSNA    | 135:1 |
| ChAdV68-CMT-TSNA     | 22:1  |
| ChAdV68-E4d-CMT-TSNA | 34:1  |

[0872] 表42B-病毒颗粒/感染单位比率,50XXL构建体

|                       |          |
|-----------------------|----------|
| [0873] 构建体            | VP: IU比率 |
| ChAdV68-CMV-50XXL     | 260:1    |
| ChAdV68-E4d-CMT-50XXL | 32:1     |
| ChAdV68-CMV-M2.2      | 662:1    |
| ChAdV68-E4d-CMT-M2.2  | 50:1     |

|        |                                                                                                                                                   |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| [0874] | <b>ChAdV68-TETo-MAG (SEQ ID NO:65)</b>                                                                                                            |
|        | CATCATCAATAATATACCTCAAACCTTTTGTGCGCGTTAATATGCAA<br>ATGAGGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGG<br>ATGAGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTGTGACGTGG |

[0875]

TTGCGAGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTC  
AAACGAGGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTC  
TCTGACAGGAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGG  
GCCATTTTCGCGCGAAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAA  
TTTCGCGTTTATGGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGAC  
TTTGACCGATTACGTGGGGGTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAAT  
TTCCGCGTACGGTGTCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCT  
GATCGCCAGGGTATTTAAACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTC  
TTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGAT  
CTACACTTTGAAAGTAGGGATAACAGGGTAATCCATGTTGACATTGA  
TTATTGACTAGTTATTAAGTACTTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAG  
TGAAAGTCGAGTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAA  
GTCGAGTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGA  
GTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGAGTTTACCACT  
CCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGAGTTTACCACTCCCTA  
TCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGAGCTCGGTACCCGGGTTCGAG  
GTAGGCGTGTACGGTGGGAGGCCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTG  
AACCGTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCA  
TAGAAGACAGCGATCGCGCCACCATGGCCGGGATGTTCCAGGCACT  
GTCCGAAGGCTGCACACCCTATGATATTAACCAGATGCTGAATGTCC  
TGGGAGACCACCAGGTCTCTGGCCTGGAGCAGCTGGAGAGCATCAT  
CAACTTCGAGAAGCTGACCGAGTGGACAAGCTCCAATGTGATGCCTA  
TCCTGTCCCCACTGACCAAGGGCATCCTGGGCTTCGTGTTTACCCTGA  
CAGTGCCTTCTGAGCGGGGCCTGTCTTGATCAGCGAGGCAGACGCA  
ACCACACCAGAGTCCGCCAATCTGGGCGAGGAGATCCTGTCTCAGCT  
GTACCTGTGGCCCCGGGTGACATATCACTCCCCTTCTTACGCCTATCA  
CCAGTTCGAGCGGAGAGCCAAGTACAAGAGACACTTCCCAGGCTTT  
GGCCAGTCTCTGCTGTTTCGGCTACCCCGTGTACGTGTTTCGGCGATTGC  
GTGCAGGGCGACTGGGATGCCATCCGGTTTAGATACTGCGCACCAACC  
TGGATATGCACTGCTGAGGTGTAACGACACCAATTATTCGCCCCTGC  
TGGCAGTGGGCGCCCTGGAGGGGCCCTCGCAATCAGGATTGGCTGGG  
CGTGCCAAGGCAGCTGGTGACACGCATGCAGGCCATCCAGAACGCA  
GGCCTGTGCACCCTGGTGGCAATGCTGGAGGAGACAATCTTCTGGCT  
GCAGGCCTTTCTGATGGCCCTGACCGACAGCGGCCCAAGACAAAC  
ATCATCGTGGATTCCCAGTACGTGATGGGCATCTCCAAGCCTTCTTTC  
CAGGAGTTTGTGGACTGGGAGAACGTGAGCCCAGAGCTGAATTCCA  
CCGATCAGCCATTCTGGCAGGCAGGAATCCTGGCAAGGAACCTGGT  
GCCTATGGTGGCCACAGTGCAGGGCCAGAATCTGAAGTACCAGGGC  
CAGAGCCTGGTCATCAGCGCCTCCATCATCGTGTTTAACCTGCTGGA  
GCTGGAGGGCGACTATCGGGACGATGGCAACGTGTGGGTGCACACC  
CCACTGAGCCCCAGAACACTGAACGCCTGGGTGAAGGCCGTGGAGG  
AGAAGAAGGGCATCCCAGTGCACCTGGAGCTGGCCTCCATGACCAA  
TATGGAGCTGATGTCTAGCATCGTGACCAAGCAGGTGAGGACATACG  
GACCCGTGTTTCATGTGCCTGGGAGGCCTGCTGACCATGGTGGCAGGA  
GCCGTGTGGCTGACAGTGCGGGTGCTGGAGCTGTTTCAGAGCCGCCCA  
GCTGGCCAACGATGTGGTGTGTCAGATCATGGAGCTGTGCGGAGCA  
GCCTTTCGCCAGGTGTGCCACACCACAGTGCCATGGCCCAATGCCTC  
CCTGACCCCCAAGTGGAACAATGAGACAACACAGCCTCAGATCGCC  
AACTGTAGCGTGACGACTTCTTCGTGTGGCTGCACTACTATAGCGT

[0876]

GAGGGATACCCTGTGGCCCCGCGTGACATACCACATGAATAAGTAC  
GCCTATCACATGCTGGAGAGGCGCGCCAAGTATAAGAGAGGGCCCTG  
GCCCAGGCGCAAAGTTTGTGGCAGCATGGACCCTGAAGGCCGCGC  
CGGCCCCGGCCCCGGCCAGTATATCAAGGCTAACAGTAAGTTCATTG  
GAATCACAGAGCTGGGACCCGGACCTGGATAATGAGTTTAAACTCCC  
ATTTAAATGTGAGGGTTAATGCTTCGAGCAGACATGATAAGATACAT  
TGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAATGC  
TTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATA  
AGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTT  
TCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAAC  
CTCTACAAATGTGGTAAAATAACTATAACGGTCCTAAGGTAGCGAGT  
GAGTAGTGTTCTGGGGCGGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAATA  
ACTGAAATCTGTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGC  
GGCTCCTTTGAGGGAGGGGTATTGAGCCCTTATCTGACGGGGCGTCT  
CCCCCTCTGGGCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGG  
ACGGCCGGCCCCGTGCAGCCCCGGAACCTCTTCAACCCTGACCTATGCA  
ACCCTGAGCTCTTCGTCTGTTGGACGCAGCTGCCGCCGCAGCTGCTGC  
ATCTGCCGCCAGCGCCGTGCGCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACT  
ACGGCACTCTGGTGGCCAACTCGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGC  
CTGAACGAGGAGAAGCTGTTGCTGCTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTT  
GACCCAGCGCCTGGGCGAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAG  
GAGCAGACGCGGGCCGCGGTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAA  
TGAATCAATAAATAAACGGAGACGGTTGTTGATTTTAACACAGAGTC  
TGAATCTTTATTTGATTTTTTCGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACCGGT  
CTCGATCATTGAGCACCCGGTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGG  
TGGGCTTGATGTTGAGGTACATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTG  
GAGGTAGCTCCATTGCAGGGCCTCGTGCTCGGGGGTGGTGTGTGAAA  
TCACCCAGTCATAGCAGGGGCGCAGGGCATGGTGTGTCACAATATCT  
TTGAGGAGGAGACTGATGGCCACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTT  
TACAAATCTGTTGAGCTGGGAGGGATGCATGCGGGGGGAGATGAGG  
TGCATCTTGGCCTGGATCTTGAGATTGGCGATGTTACCGCCAGATC  
CCGCCTGGGGTTCATGTTGTGCAGGACCACCAGCACGGTGTATCCGG  
TGCACTTGGGGAATTTATCATGCAACTTGGAAGGGAAGGCGTGAAA  
GAATTTGGCGACGCCTTTGTGCCCGCCAGGTTTTCCATGCACTCATC  
CATGATGATGGCGATGGGCCCCGTGGGCGGCGGCCTGGGCAAAGACG  
TTTCGGGGGTTCGGACACATCATAGTTGTGGTCCTGGGTGAGGTCATC  
ATAGGCCATTTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTGCCGGACTGGGGG  
ACAAAGGTACCCTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCCTCACAGATCTG  
CATCTCCAGGCTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCG  
GGGCGATAAAGAACACGGTTTCCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGC  
CGAAAGCAAGTTCCGGAGCAGCTGGGACTTGCCGCAGCCGGTGGGG  
CCGTAGATGACCCCGATGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGA  
GACAGCTGCCGTCTCCCGGAGGAGGGGGGCCACCTCGTTCATCATC  
TCGCGCACGTGCATGTTCTCGCGCACCAAGTTCCGCCAGGAGGCGCTC  
TCCCCCAGGGATAGGAGCTCCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTTCAGCG  
GCTTGAGTCCGTCCGCCATGGGCATTTTGGAGAGGGTTTGTGCAAG  
AGTTCCAGGCGGTCCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTCG  
ATCCAGCAGACCTCCTCGTTTCGCGGGGTGGGACGGCTGCGGGAGTA  
GGGCACCAGACGATGGGCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCCTTC  
CAGGGTCGCAGCGTCCGCGTCAGGGTGGTCTCCGTCACGGTGAAGG

[0877]

GGTGCGCGCCGGGCTGGGCGCTTGCGAGGGTGCGCTTCAGGCTCATC  
CGGCTGGTCGAAAACCGCTCCCGATCGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAG  
GTAGCAATTGACCATGAGTTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGC  
CTTTGGCGCGGAGCTTACCTTTGGAAGTCTGCCCCGAGGCGGGACAG  
AGGAGGGACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGGGCGAGGAAGACGGACT  
CGGGGGCGTAGGCGTCCGCGCCGCACTGGGCGCAGACGGTCTCGCA  
CTCCACGAGCCAGGTGAGGTCGGGCTGGTCGGGGTCAAAAACCACT  
TTCCCGCCGTTCTTTTTGATGCGTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCT  
CGTGTCCCCGCTGGGTGACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCCGTAGACC  
GACTTTATGGGCCGGTCCCTCGAGCGGTGTGCCGCGGTCCCTCGTA  
GAGGAACCCCGCCCACTCCGAGACGAAAGCCCGGGTCCAGGCCAGC  
ACGAAGGAGGCCACGTGGGACGGGTAGCGGTTCGTTGTCCACCAGCG  
GGTCCACCTTTTCCAGGGTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACA  
TCCAGGAAGGTGATTGGCTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGGGGGT  
CCCGGCCGGGGGGGTATAAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCCCTCAC  
TGCTTTCCGGATCGCTGTCCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTAT  
TCCCTCTCGAAGGCGGGCATGACCTCGGCACTCAGGTTGTCAGTTTC  
TAGAAACGAGGAGGATTTGATATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCT  
TTCAAGAGCCCCTCGTCCATCTGGTCAGAAAAGACGATCTTTTTTGT  
GTCGAGCTTGGTGGCGAAGGAGCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGC  
TTGGCGATGGAGCGCATGGTCTGGTTTTTTTTCTTGTGCGCGCGCTCC  
TTGGCGGCGATGTTGAGCTGCACGTACTCGCGCGCCACGCACTTCCA  
TTCGGGGAAGACGGTGGTCAGCTCGTCGGGCACGATTCTGACCTGCC  
AGCCCCGATTATGCAGGGTGATGAGGTCCACACTGGTGGCCACCTCG  
CCGCGCAGGGGCTCATTAGTCCAGCAGAGGCGTCCGCCCTTGCGCGA  
GCAGAAGGGGGGCGAGGGGTCCAGCATGACCTCGTCGGGGGGGTGCG  
GCATCGATGGTGAAGATGCCGGGCAGGAGGTGCGGGTCAAAGTAGC  
TGATGGAAGTGCCAGATCGTCCAGGGCAGCTTGCCATTCGCGCACG  
GCCAGCGCGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTGCCCCAGGGCATGG  
GATGGGTAAGCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTCTGTAGACGTA  
GAGGGGCTCCTCGAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCC  
CCGCGGATGCTGGCGCGCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGAGGGGG  
CGAGGAGCCCCGGGCCCAGGTTGGTGGGACTGGGCTTTTCGGCGCGG  
TAGACGATCTGGCGGAAAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGG  
GCCTTTGGAAGATGTTGAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTC  
GCGGATGAAGTGGGCGTAGGAGTCTTGACGCTTGCCGACGAGCTCG  
GCGGTGACTAGGACGTCCAGAGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCCTGGA  
TGATGTCATACTTGAGCTGTCCCTTTTGTTCACAGCTCGCGGTTGA  
GAAGGAACTCTTCGCGGTCCCTCCAGTACTCTTCGAGGGGGGAACCCG  
TCCTGATCTGCACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAACTGGTTGACGGC  
CTTGTAGGCGCAGCAGCCCTTCTCCACGGGGAGGGCGTAGGCCTGGG  
CGGCCCTTGCGCAGGGAGGTGTGCGTGAGGGCGAAAGTGTCCCTGAC  
CATGACCTTGAGGAACTGGTGCTTGAAGTCGATATCGTCCGACCCCC  
CCTGCTCCCAGAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTGTAGGCGGGGTTG  
GGCAAAGCGAAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCGCGCGGG  
GCATAAAGTTGCGAGTGATGCGGAAAGGTTGGGGCACCTCGGCCCCG  
GTTGTTGATGACCTGGGCGGCGAGCACGATCTCGTCTGAAGCCGTTGA  
TGTTGTGGCCACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTG  
ACGTGGGGCAGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTC  
GCTGAGCCCGTGCTGCTCGAGCGCCAGTCGGCGAGATGGGGGTTG

[0878]

GCGCGGAGGAAGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGCA  
GACGGTCCCGGTACTGACGGAAGTCTGCTGCCCCGACGGCCATTTTTTCG  
GGGGTGACGCAGTAGAAGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCC  
ATTTGAGCTGGAGGGCGAGATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTC  
GTCCCCGGAGAGTTTCATGACCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGC  
CGAAGGACCCCATCCAGGTGTAGGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAA  
GAGCCTTTCGGTGCGAGGATGCGAGCCGATGGGGAAGAAGTGGATC  
TCCTGCCACCAATTGGAGGAATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAA  
ATGCCGACGGCGCGCCGAACACTCGTGCTTGTGTTTATACAAGCGGC  
CACAGTGCTCGCAACGCTGCACGGGATGCACGTGCTGCACGAGCTGT  
ACCTGAGTTCCTTTGACGAGGAATTTTCAGTGGAAGTGAGTCTGTGG  
CGCCTGCATCTCGTGCTGTACTACGTCTGTTGGTGGTTCGGCCTGGCCCTC  
TTCTGCCTCGATGGTGGTCATGCTGACGAGCCCGCGCGGGAGGCAGG  
TCCAGACCTCGGCGCGAGCGGGTCGGAGAGCGAGGACGAGGGCGCG  
CAGGCCGGAGCTGTCCAGGGTCCTGAGACGCTGCGGAGTCAGGTCA  
GTGGGCAGCGGCGGCGCGCGGTTGACTTGACAGGAGTTTTTCCAGGGC  
GCGCGGGAGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGCGCCATTGGTGG  
CGACGTCGATGGCTTGACAGGTCCCGTGCCCTGGGGTGTGACCACC  
GTCCCCCGTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGGCGACGGGGGCGGTGCCTC  
TTCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGGCAGGG  
GCGGCTCGGGGCCCGAGGACAGGGGCGGCAGGGGCACGTCGGCGCC  
GCGCGCGGGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCCGAGAAGACTGGCGTGA  
GCGACGACGCGACGGTTGACGTCCTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAA  
GGCCACGGGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTCGACAGAA  
TCAATCTCGGTATCGTTGACGGCGGCCTGCCGCAGGATCTCTTGAC  
GTCGCCCCAGTTGTCTGGTAGGCGATCTCGGTCTGAACTGCTCGA  
TCTCCTCCTCTTGAAGGTCTCCGCGGCCCGGCGCGCTCCACGGTGGCC  
GCGAGGTCTGTTGGAGATGCGGCCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCA  
TGCCCCGCTCGTTCCAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGA  
TCGCGGGCGCGCATGACCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGC  
GCGTGAAGACCGCGTAGTTGACAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAG  
CGTGGTGGCGATGTGCTCGGTGACGAAGAAATACATGATCCAGCGG  
CGGAGCGGCATCTCGCTGACGTGCGCCAGCGCCTCCAAACGTTCCAT  
GGCCTCGTAAAAGTCCACGGCGAAGTTGAAAAACTGGGAGTTGCGC  
GCCGAGACGGTCAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCGA  
TGGTGGCGCGCACCTCGCGCTCGAAGGCCCGGGAGTTCTCTCACT  
TCCTCTTCTCCTCCTCCACTAACATCTCTTCTACTTCTCCTCAGGCG  
GCAGTGGTGGCGGGGGAGGGGGCCTGCGTCGCCGGCGGCGCACGGG  
CAGACGGTCGATGAAGCGCTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGA  
TGGTCTCGGTGACGGCGCGCCCGTCTCGCGGGGCGCGAGCGTGAAG  
ACGCCGCGCGCATCTCCAGGTGGCCGGGGGGGTCCCCGTTGGGCA  
GGGAGAGGGCGCTGACGATGCATCTTATCAATTGCCCCGTAGGGACT  
CCGCGCAAGGACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGGATCTGAAAACC  
GCTGAACGAAGGCTTCGAGCCAGTCGAGTCGCAAGGTAGGCTGAG  
CACGGTTTCTTCTGGCGGGTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGA  
TGCTGCTGGTGAAGTTGAAATAGGCGGTTCTGAGACGGCGGATG  
GTGGCGAGGAGCACCAGGTCTTTGGGCCCGGCTTGCTGGATGCGCAG  
ACGGTCGGCCATGCCCCAGGCGTGGTCTGACACCTGGCCAGGTCTCT  
TGAGTAGTCTGTCATGAGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCCTCGCCC  
GCGCGGCCGTGCATGCGCGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGA

[0879]

CGAGCGCCAGGTCGGCGACGACGCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTG  
GATCTGGGTGAGGGTGGTCTGGAAGTCATCAAAGTCGACGAAGCGG  
TGGTAGGCTCCGGTGTGATGGTGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGA  
CCAGTTGACGGTCTGGTGGCCCGGACGCACGAGCTCGTGGTACTTGA  
GGCGCGAGTAGGCGCGCGTGTCTGAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCG  
CACCAGGTACTGGTAGCCGATGAGGAAGTGCGGCGGCGGCTGGCGG  
TAGAGCGGCCATCGCTCGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCCT  
CGAGCATGGTGCGGTGGTAGCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTG  
ATCCCGGCGGCGGTGGTGGAGGCGCGCGGGAACCTCGCGGACGCGGT  
TCCAGATGTTGCGCAGCGGCAGGAAGTAGTTCATGGTGGGCACGGTC  
TGGCCCGTGAGGCGCGCGCAGTCGTGGATGCTCTATACGGGCAAAA  
ACGAAAGCGGTCAGCGGCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGA  
ACGGGTGGGCTGCGCGTGTACCCCGGTTCTGAATCTCGAATCAGGCT  
GGAGCCGCAGCTAACGTGGTATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCC  
TGCACCAACCCTCCAGGATACGGAGGCGGGTCGTTTTGCAACTTTTT  
TTTGGAGGCCGGATGAGACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCCGACCGC  
GATGGCTCGCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTG  
CGGTGTGCCCCGGTTCGAGGCCGCGCGGATTCCGCGGCTAACGAGG  
GCGTGGCTGCCCCGTGTTTTCCAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCT  
CCAGTTACGGAGCGAGCCCCCTCTTTTGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT  
GCATCCCGTACTGCGGCAGATGCGCCCCCACCACCCTCCACCGCAAC  
AACAGCCCCCTCCACAGCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAA  
CTTCCAGCCACGACCGCCGCGGCCGCGCGTGAGCGGGGCTGGACAGA  
GTTATGATCACCAGCTGGCCTTGGAAAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCG  
CCTGGGGGCGTCGTGCGCCGAGCGGCACCCGCGCGTGCAGATGAAA  
AGGGACGCTCGCGAGGCCTACGTGCCCAAGCAGAACCTGTTTCAGAG  
ACAGGAGCGGCGAGGAGCCCGAGGAGATGCGCGCGGCCCCGGTTCCA  
CGCGGGGCGGGAGCTGCGGCGCGGCCCTGGACCGAAAGAGGGTGCTG  
AGGGACGAGGATTTTCGAGGCGGACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCG  
CGCGCGCGCACGTGGCCGCGGCCAACCTGGTTCACGGCGTACGAGCA  
GACCGTGAAGGAGGAGAGCAACTTCCAAAAATCCTTCAACAACCAC  
GTGCGCACCCCTGATCGCGCGCGAGGAGGTGACCCTGGGCCTGATGC  
ACCTGTGGGACCTGCTGGAGGCCATCGTGCAGAACCCCAACCAGCAA  
GCCGCTGACGGCGCAGCTGTTCTTGGTGGTGCAGCATAGTCGGGACA  
ACGAAGCGTTCAGGGAGGCGCTGCTGAATATCACCAGCCCCGAGGG  
CCGCTGGCTCCTGGACCTGGTGAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGC  
AGGAGCGCGGGCTGCCGCTGTCCGAGAAGCTGGCGGCCATCAACTT  
CTCGGTGCTGAGTTTGGGCAAGTACTACGCTAGGAAGATCTACAAGA  
CCCCGTACGTGCCCATAGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGGTTTTAC  
ATGCGCATGACCCTGAAAGTGCTGACCCTGAGCGACGATCTGGGGGT  
GTACCCGAACGACAGGATGCACCGTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGG  
CGCGAGCTGAGCGACCAGGAGCTGATGCATAGTCTGCAGCGGGCCC  
TGACCGGGGCGGGACCGAGGGGGAGAGCTACTTTGACATGGGCGC  
GGACCTGCACTGGCAGCCCAGCCGCCGGGCCTTGGAGGCGGCGGCA  
GGACCCTACGTAGAAGAGGTGGACGATGAGGTGGACGAGGAGGGCG  
AGTACCTGGAAGACTGATGGCGCGACCGTATTTTTGCTAGATGCAAC  
AACAACAGCCACCTCCTGATCCCGCGATGCGGGCGGCGCTGCAGAG  
CCAGCCGTCCGGCATTAACCTCCTCGGACGATTGGACCCAGGCCATGC  
AACGCATCATGGCGCTGACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGACA  
GCAGCCCCAGGCCAACCGGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGC

[0880]

CCTCGCGCTCCAACCCACGCACGAGAAGGTCTTGGCCATCGTGAAC  
GCGCTGGTGGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAGGCCGGCCTGG  
TGTACAACGCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCGCTACAACAGCACCAA  
CGTGCAGACCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCC  
GTGGCCCAGCGCGAGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCAT  
GGTGGCGCTGAACGCCTTCCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCC  
GGGGCCAGGAGGACTACACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATG  
GTGACCGAGGTGCCCCAGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGGCCGGACT  
ACTTCTTCCAGACCAGTCGCCAGGGCTTGCAGACCGTGAACCTGAGC  
CAGGCTTTC AAGAACTTGCAGGGCCTGTGGGGCGTGCAGGCCCGGT  
CGGGGACCGCGCGACGGTGTGAGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGC  
CTGCTGCTGCTGCTGGTGGCCCCCTTCACGGACAGCGGCAGCATCAA  
CCGCAACTCGTACCTGGGCTACCTGATTAACTGTACCGCGAGGCCA  
TCGGCCAGGCGCACGTGGACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCA  
CGTGAGCCGCGCCCTGGGGCAGGACGACCCGGGCAACCTGGAAGCC  
ACCTGAACTTTTTGCTGACCAACCGGTTCGAGAAGATCCCGCCCCA  
GTACGCGCTCAGCACCGAGGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAG  
CAGAGCGTGGGCCTGTTCTGATGCAGGAGGGGGCCACCCCCAGCG  
CCGCGCTCGACATGACCGCGCGCAACATGGAGCCCAGCATGTACGC  
CAGCAACCGCCCGTTCATCAATAAACTGATGGACTACTTGCATCGGG  
CGGCCGCCATGAACTCTGACTATTTACCAACGCCATCCTGAATCCC  
CACTGGCTCCCGCCGCGGGGTTCTACACGGGCGAGTACGACATGCC  
CGACCCCAATGACGGGTTCCTGTGGGACGATGTGGACAGCAGCGTGT  
TCTCCCCCGACCGGGTGCTAACGAGCGCCCTTGTGGAAGAAGGAA  
GGCAGCGACCGACGCCCCGTCTCGGCGCTGTCCGGCCGCGAGGGTG  
CTGCCGCGGCGGTGCCCAGGCGCCAGTCCTTTCCCGAGCTTGCCC  
TTCTCGCTGAACAGTATCCGCAGCAGCGAGCTGGGCAGGATCACGCG  
CCCGCGCTTGCTGGGCGAAGAGGAGTACTTGAATGACTCGCTGTTGA  
GACCCGAGCGGGAGAAGAACTTCCCCAATAACGGGATAGAAAGCCT  
GGTGGACAAGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGG  
GACGATCCCCGGGCGTCGCAGGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCG  
CCCGTAAACGCCCGGTGGCACGACAGGCAGCGGGGACAGATGTGGGA  
CGATGAGGACTCCGCCGACGACAGCAGCGTGTGGACTTGGGTGGG  
AGTGGTAACCCGTTTCGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGCGCATGAT  
GTAAGAGAAACCGAAAATAAATGATACTACCAAGGCCATGGCGAC  
CAGCGTGCGTTCGTTTCTTCTCTGTTGTTGTTGTATCTAGTATGATGA  
GGCGTGCGTACCCGGAGGGTCTCCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATG  
CAGCAGGCGATGGCGGCGGCGGCGATGCAGCCCCCGCTGGAGGCTC  
CTTACGTGCCCCGCGGTACCTGGCGCCTACGGAGGGGGCGGAACAG  
CATTCGTTACTCGGAGCTGGCACCCCTTGTACGATACCACCCGGTTGT  
ACCTGGTGGACAACAAGTCGGCGGACATCGCCTCGCTGAACTACCA  
GAACGACCACAGCAACTTCCTGACCACCGTGGTGCAGAACAAATGAC  
TTCACCCCCACGGAGGCCAGCACCCAGACCATCAACTTTGACGAGCG  
CTCGCGGTGGGGCGGCCAGCTGAAAACCATCATGCACACCAACATG  
CCCAACGTGAACGAGTTCATGTACAGCAACAAGTTCAAGGCGCGGG  
TGATGGTCTCCCGCAAGACCCCAATGGGGTGACAGTGACAGAGGA  
TTATGATGGTAGTCAGGATGAGCTGAAGTATGAATGGGTGGAATTTG  
AGCTGCCCCGAAGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATCGACCTGATG  
AACAACGCCATCATCGACAATTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAACG  
GGGTGCTGGAGAGCGACATCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGAACTT

[0881]

CAGGCTGGGCTGGGACCCCGTGACCGAGCTGGTTCATGCCCCGGGTGT  
ACACCAACGAGGCTTTCCATCCCGATATTGTCTTGCTGCCCCGGCTGC  
GGGGTGGACTTCACCGAGAGCCGCTCAGCAACCTGCTGGGCATTTCG  
CAAGAGGCAGCCCTTCCAGGAAGGCTTCCAGATCATGTACGAGGAT  
CTGGAGGGGGGCAACATCCCCGCGCTCCTGGATGTGACGCGCTATGA  
GAAAAGCAAGGAGGATGCAGCAGCTGAAGCAACTGCAGCCGTAGCT  
ACCGCCTCTACCGAGGTCAGGGGCGATAATTTTGCAAGCGCCGCGAGC  
AGTGGCAGCGGCCGAGGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATT  
CAGCCGGTGGAGAAGGATAGCAAGAACAGGAGCTACAACGTACTAC  
CGGACAAGATAAACACCCGCTACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACAA  
CTATGGCGACCCCGAGAAGGGCGTGCGCTCCTGGACGCTGCTACCA  
CCTCGGACGTACCTGCGGCGTGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCC  
GACATGATGCAAGACCCGGTCACCTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAG  
CAACTACCCGGTGGTGGGCGCCGAGCTCCTGCCCCGTCTACTCCAAGA  
GCTTCTTCAACGAGCAGGCCGTCTACTCGCAGCAGCTGCGCGCCTTC  
ACCTCGCTTACGCACGTCTTCAACCGCTTCCCCGAGAACCAGATCCT  
CGTCCGCCCCGCCCCGCGCCACCATTACCACCGTCAGTGAAAACGTTT  
CTGCTCTCACAGATCACGGGACCCTGCCGCTGCGCAGCAGTATCCGG  
GGAGTCCAGCGCGTGACCGTTACTGACGCCAGACGCCGCGACCTGCCC  
CTACGTCTACAAGGCCCTGGGCATAGTCGCGCCGCGCGTCTCTCGA  
GCCGCGACCTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGCCCAGTAATAACACC  
GGTTGGGGCCTGCGCGCGCCAGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGCC  
AACGCTCCACGCAACACCCCGTGCGCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCT  
CCCTGGGGCGCCCTCAAGGGCCGCGTGCGGTGCGGCACCACCGTCGA  
CGACGTGATCGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTACACCCCC  
GCCGCCGCGCCCGTCTCCACCGTGACGCGCGTCATCGACAGCGTGGT  
GGCCGACGCGCGCCGGTACGCCCCGCGCAAGAGCCGGCGGGCGCGC  
ATCGCCCCGGCGGCACCGGAGCACCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAG  
CCTTGCTGCGCAGGGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCCATGCTCAG  
GGCGGCCAGACGCGCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGG  
AGACGCGCGGCCACGGCGGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCC  
GCCCGCGGCGAGGGAACGTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGG  
TGTGCGCGTGCCCGTGCGCACCCGCCCCCTCGCACTTGAAGATGTT  
CACTTCGCGATGTTGATGTGTCCCAGCGGCGAGGAGGATGTCCAAGC  
GCAAATTCAAGGAAGAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTAC  
GGCCCTGCGGTGGTGAAGGAGGAAAGAAAGCCCCGCAAAATCAAGC  
GGGTCAAAAAGGACAAAAAGGAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGAT  
TGGTGGAGTTTGTGCGCGAGTTCGCCCCCGGCGGCGCGTGCAAGTGG  
CGCGGGCGGAAGGTGCAACCGGTGCTGAGACCCGGCACCAACCGTGG  
TCTTCACGCCCCGGCGAGCGCTCCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTAC  
GACGAGGTGTACGGGGATGATGATAATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGC  
GCCTGGGCGAGTTTGCTTACGGCAAGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAG  
GAAGAGGCGGTGTCCATCCCGCTGGACCACGGCAACCCACGCCGA  
GCCTCAAGCCCGTGACCTTGACAGCAGGTGCTGCCGACCGCGGCGCCG  
CGCCGGGGGTTCAAGCGCGAGGGCGAGGATCTGTACCCACCATGC  
AGCTGATGGTGCCCAAGCGCCAGAAGCTGGAAGACGTGCTGGAGAC  
CATGAAGGTGGACCCGGACGTGCAGCCCGAGGTCAAGGTGCGGCC  
ATCAAGCAGGTGGCCCCGGGCTGGGCGTGACAGCCGTGGACATCA  
AGATTCCACGGAGCCCATGGAAACGCAGACCGAGCCCATGATCAA  
GCCAGCACCAAGCACCATGGAGGTGCAGACGGATCCCTGGATGCCA

[0882]

TGGGCTCCTAGTCGAAGACCCCGGCGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCT  
GCTGATGCCCAACTACGCGCTGCATCCTTCCATCATCCCCACGCCGG  
GCTACCGCGGCACGCGCTTCTACCGCGGTCATACCAGCAGCCGCCGC  
CGCAAGACCACCACTCGCCGCCCGCGTTCGCCGCACCGCCGCTGCAAC  
CACCCCTGCCGCCCTGGTGCAGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGCAC  
CTCTGACCCTGCCGCGCGCGCTACCACCCGAGCATCGCCATTAA  
ACTTTCGCCTGCTTTGCAGATCAATGGCCCTCACATGCCGCCTTCGCG  
TTCCCATACGGGCTACCGAGGAAGAAAACCGCGCCGTAGAAGGCT  
GGCGGGGAACGGGATGCGTCGCCACCACCACCGCGCGCGCGCGCC  
ATCAGCAAGCGGTTGGGGGGAGGCTTCTGCCCGCGCTGATCCCCAT  
CATCGCCGCGGCGATCGGGGCGATCCCCGGCATTGCTTCCGTGGCGG  
TGCAGGCCTCTCAGCGCCACTGAGACACACTTGGAACATCTTGTA  
TAAACCAATGGACTCTGACGCTCCTGGTCCTGTGATGTGTTTTCTAG  
ACAGATGGAAGACATCAATTTTTCTGTCCTGGCTCCGCGACACGGCA  
CGCGGCCGTTTCATGGGCACCTGGAGCGACATCGGCACCAGCCAACT  
GAACGGGGGGCGCCTTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAG  
AATTTCCGGTCCACGCTTAAAACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACA  
GCACCACAGGGCAGGCGCTGAGGGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTT  
CCAGCAGAAGGTGGTTCGATGGGCTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTG  
GTGGACCTGGCCAACCAGGCCGTGCAGCGGCAGATCAACAGCCGCC  
TGGACCCGGTGCCGCCCGCCGGCTCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGA  
GGAGGAGCTGCCTCCCCTGGAACAAGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGC  
CCCGATGCGGAGGAGACGCTGCTGACGCACACGGACGAGCCGCCCC  
CGTACGAGGAGGCGGTGAAACTGGGTCTGCCACCACGCGGCCCAT  
CGCGCCCCCTGGCCACCGGGGTGCTGAAACCCGAAAAGCCCGCGACC  
CTGGACTTGCTTCTCCCCAGCCTTCCCGCCCCCTCTACAGTGGCTAAG  
CCCCTGCCGCCGGTGGCCGTGGCCCGCGCGCGACCCGGGGGCACCG  
CCCGCCCTCATGCGAACTGGCAGAGCACTCTGAACAGCATCGTGGGT  
CTGGGAGTGCAGAGTGTGAAGCGCCCGCGCTGCTATTAAACCTACCG  
TAGCGCTTAACTTGCTTGTCTGTGTGTGTATGTATTATGTCCGCCCG  
CCGCTGTCCACCAGAAGGAGGAGTGAAGAGGCGCGTCGCCGAGTTG  
CAAGATGGCCACCCCATCGATGCTGCCCCAGTGGGCGTACATGCACA  
TCGCCGGACAGGACGCTTCGGAGTACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAG  
TTTGCCCGCGCCACAGACACCTACTTCAGTCTGGGGAACAAGTTTAG  
GAACCCACAGGTGGCGCCACGCACGATGTGACCACCGACCGCAGC  
CAGCGGCTGACGCTGCGCTTCGTGCCCGTGGACCGCGAGGACAACA  
CCTACTCGTACAAAGTGCGCTACACGCTGGCCGTGGGCGACAACCGC  
GTGCTGGACATGGCCAGCACCTACTTTGACATCCGCGGCGTGCTGGA  
TCGGGGCCCTAGCTTCAAACCCTACTCCGGCACCGCCTACAACAGTC  
TGGCCCCCAAGGGAGCACCCAACACTTGTGAGTGGACATATAAAGC  
CGATGGTGAACCTGCCACAGAAAAAACCTATACATATGGAATGCA  
CCCGTGACAGGGCATTAAACATCAGAAAAGATGGTATTCAACTTGGAAC  
TGACACCGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAAAACCTATCAGCCTG  
AACCTCAAGTGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCACTGGTACTGAT  
GAAAAGTATGGAGGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAAAATGAAGC  
CTTGTTATGGTTCTTTTGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAG  
GCAAAATGTGAAAACAGGAACAGGCACTACTAAAGAATATGACATAG  
ACATGGCTTTCTTTGACAACAGAAGTGCGGCTGCTGCTGGCCTAGCT  
CCAGAAATTGTTTTGTATACTGAAAATGTGGATTTGGAAACTCCAGA  
TACCCATATTGTATACAAAGCAGGCACAGATGACAGCAGCTCTTCTA

[0883]

TTAATTTGGGTCAGCAAGCCATGCCCAACAGACCTAACTACATTGGT  
TTCAGAGACAACTTTATCGGGCTCATGTACTACAACAGCACTGGCAA  
TATGGGGGTGCTGGCCGGTCAGGCTTCTCAGCTGAATGCTGTGGTTG  
ACTTGCAAGACAGAAACACCGAGCTGTCTACCAGCTCTTGCTTGAC  
TCTCTGGGTGACAGAACCCGGTATTTTCAGTATGTGGAATCAGGCGGT  
GGACAGCTATGATCCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGGTGTGG  
AGGATGAACTTCCCACTATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGA  
ACAGATACTTATCAGGGAATTAAGGCTAATGGAAGTATGATCAAACCA  
CATGGACCAAAGATGACAGTGTCAATGATGCTAATGAGATAGGCAA  
GGGTAATCCATTTCGCCATGGAAATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGA  
GGAAGTTCTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTGCCCGACTCTTAC  
AAGTACACGCCGGCCAATGTTACCCTGCCACCAACACCAACACCTA  
CGATTACATGAACGGCCGGGTGGTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCT  
ACATCAACATCGGGGCGCGCTGGTTCGCTGGATCCCATGGACAACGTG  
AACCCCTTCAACCACCACCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCAT  
GCTCCTGGGCAACGGGCGCTACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCC  
AGAAATTTTTTCGCCATCAAGAGCCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCTAC  
ACCTACGAGTGGAAGTTCCGCAAGGACGTCAACATGATCCTGCAGA  
GCTCCCTCGGCAACGACCTGCGCACGGACGGGGCCTCCATCTCCTTC  
ACCAGCATCAACCTCTACGCCACCTTCTTCCCCATGGCGCACAACAC  
GGCCTCCACGCTCGAGGCCATGCTGCGCAACGACACCAACGACCAG  
TCCTTCAACGACTACCTCTCGGCGGCCAACATGCTCTACCCCATCCC  
GGCCAACGCCACCAACGTGCCCATCTCCATCCCCCTCGCGCAACTGGG  
CCGCTTCCGCGGGTGGTCTTACGCGTCTCAAGACCAAGGAGACG  
CCCTCGCTGGGCTCCGGGTTCGACCCCTACTTCGTCTACTCGGGCTCC  
ATCCCCTACCTCGACGGCACCTTCTACCTCAACCACACCTTCAAGAA  
GGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCCGTCAGCTGGCCCCGGCAACGACC  
GGCTCCTGACGCCCAACGAGTTCGAAATCAAGCGCACCGTCGACGG  
CGAGGGCTACAACGTGGCCCAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTC  
CTGGTCCAGATGCTGGCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGCTTCTA  
CGTGCCCGAGGGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTCCGCAACT  
TCCAGCCCATGAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAACTACAAGGA  
CTACCAGGCCGTCACCTTGGCCTACCAGCACAACTCGGGCTTCG  
TCGGCTACCTCGCGCCCAACATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCC  
AACTACCCCTACCCGCTCATCGGCAAGAGCGCCGTCACCAGCGTCAC  
CCAGAAAAAGTTCTCTGCGACAGGGTTCATGTGGCGCATCCCCCTTCT  
CCAGCAACTTCATGTCCATGGGCGCGCTACCGACCTCGGCCAGAAC  
ATGCTCTATGCCAACTCCGCCCACGCGCTAGACATGAATTTGGAAGT  
CGACCCCATGGATGAGTCCACCTTCTCTATGTTGTCTTTCGAAGTCTT  
CGACGTCGTCCGAGTGCACCAGCCCCACCGCGGCGTCATCGAGGCCG  
TCTACCTGCGCACCCCTTCTCGGCCGGTAACGCCACCACCTAAGCT  
CTTGCTTCTTGCAAGCCATGGCCGCGGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTC  
AGGGCCATCATCCGCGACCTGGGCTGCGGGCCCTACTTCCTGGGCAC  
CTTCGATAAGCGCTTCCCGGGATTTCATGGCCCCGCACAAGCTGGCCT  
GCGCCATCGTCAACACGGCCGCGCGAGACCGGGGGCGAGCACTG  
GCTGGCCTTCGCCTGGAACCCGCGCTCGAACACCTGCTACCTCTTCG  
ACCCCTTCGGGTTCGCGACGAGCGCCTCAAGCAGATCTACCAGTTC  
GAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGACGCGCCCTGGCCACCGAGGACC  
GCTGCGTCACCTTGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCAGGGTCCGCGC  
TCGGCCGCTGCGGGCTTCTGCTGCATGTTCTGACGCTTCGTG

[0884]

CACTGGCCCGACCGCCCCATGGACAAGAACCCCAACCATGAACTTGCT  
GACGGGGGTGCCCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCC  
ACCTTGCGCCGCAACCAGGAGGCGCTCTACCGCTTCTCAACTCCCA  
CTCCGCTACTTTCGCTCCCACCGCGCGCATCGAGAAGGCCACCG  
CCTTCGACCGCATGAATCAAGACATGTAAACCGTGTGTGTATGTAA  
ATGTCTTTAATAAACAGCACTTTCATGTTACACATGCATCTGAGATG  
ATTTATTTAGAAATCGAAAGGGTTCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCG  
CGGGCAGGGACACGTTGCGGAACTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAA  
CTCGGGGATCAGCAGTTTGGGCAGCGGGGTGTCGGGGAAGGAGTCG  
GTCCACAGCTTCCGCGTCAGTTGCAGGGCGCCCAGCAGGTTCGGGCGC  
GGAGATCTTGAAATCGCAGTTGGGACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGT  
TGCGGTACACGGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCCGGGTG  
CTTCACGCTCGCCAGCACCGTCGCGTCGGTGATGCTCTCCACGTCTGA  
GGTCTTCGGCGTTGGCCATCCCGAAGGGGGTTCATCTTGCAAGTCTGC  
CTTCCCATGGTGGGCACGCACCCGGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGTG  
CAGGGGGATCAGCATCATCTGGGCCTGGTCGGCGTTCATCCCCGGGT  
ACATGGCCTTCATGAAAGCCTCCAATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCC  
TTGGCTCCCTCGGTGAAGAAGACCCCGCAGGACTTGCTAGAGAACTG  
GTTGGTGGCGCACCCGGCGTCGTGCACGCAGCAGCGCGCGTCTGTGT  
TGGCCAGCTGCACCACGCTGCGCCCCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTG  
GCCCCGTTCGGGGTTCTCCTTCAGCGCGCGCTGCCCGTTCTCGCTCGCC  
ACATCCATCTCGATCATGTGCTCCTTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGC  
AGGCACCGCAGCTTGCCCTCGGCCTCGGTGCACCCGTGCAGCCACAG  
CGCGCACCCGGTGCACCTCCAGTTCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCG  
CGTGACGAAGCCCTGCAGGAAGCGGCCCATCATGGTGGTCAGGGT  
CTTGTTGCTAGTGAAGGTCAGCGGAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGA  
TGTACAGGTGGCAGATGCGGCGGTACACCTCGCCCTGCTCGGGCATC  
AGCTGGAAGTTGGCTTTCAGGTTCGGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCAT  
CAGCATAGTCATGATTTCCATACCTTCTCCCAGGCCGAGACGATGG  
GCAGGCTCATAGGGTTCTTACCATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCG  
GCCAGGGGGTTCGCTCTCGTCCAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTC  
CTTCTCGGTGATCCGCACCGGGGGGTAGCTGAAGCCACGGCCGCCA  
GCTCCTCCTCGGCCTGTCTTTCGTCCTCGCTGTCTGGCTGACGTCT  
GCAGGACCACATGCTTGGTCTTGCGGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGC  
GGCGGCGGAGATGTTGGAGATGGCGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGC  
TCACCACTACTATCTCTTCTCTTCTTGGTCCGAGGCCACGCGCGGT  
AGGTATGTCTCTTCGGGGGCAGAGGCGGAGGCGACGGGCTCTCGCC  
GCCGCGACTTGCGGGATGGCTGGCAGAGCCCCCTCCGCGTTCGGGGG  
TGCGCTCCCGGCGGCGCTCTGACTGACTTCTCCGCGGCCGCGCATT  
GTGTTCTCCTAGGGAGGAACAACAAGCATGGAGACTCAGCCATCGC  
CAACCTCGCCATCTGCCCCCACCGCCGACGAGAAGCAGCAGCAGCA  
GAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCCGCCAGCCCCGCCACCTCCGACG  
CGGCCGTCCCAGACATGCAAGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTGA  
CCTGGGCTATGTGACGCCCCGCGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTG  
CGCTTTTCAACAAGAAGAGATACACCAAGAACAGCCAGAGCAGGAAG  
CAGAGAATGAGCAGAGTCAGGCTGGGCTCGAGCATGACGGCGACTA  
CCTCCACCTGAGCGGGGGGGAGGACGCGCTCATCAAGCATCTGGCC  
CGGCAGGCCACCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCACCGAGG  
TGCCCCCTCAGCGTGGAGGAGCTCAGCCGCGCCTACGAGTTGAACCTC  
TTCTCGCCGCGCGTGCCCCCAAGCGCCAGCCCAATGGCACCTGCGA

[0885]

GCCCAACCCGCGCCTCAACTTCTACCCGGTCTTCGCGGTGCCCCGAGG  
CCCTGGCCACCTACCACATCTTTTCAAGAACCAAAAGATCCCCGTC  
TCCTGCCGCGCCAACCCGACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAACCTGGG  
TCCCCGGCGCCCGCCTACCTGATATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTCCCA  
AGATCTTCGAGGGTCTGGGCAGCGACGAGACTCGGGCCGCGAACGC  
TCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGCATGAGCACCACAGCGCCCTGGTC  
GAGTTGGAAGGCGACAACGCGCGGCTGGCGGTGCTCAAACGCACGG  
TCGAGCTGACCCATTTTCGCCTACCCGGCTCTGAACCTGCCCCCAAA  
GTCATGAGCGCGGTCTATGGACCAGGTGCTCATCAAGCGCGCGTCGCC  
CATCTCCGAGGACGAGGGCATGCAAGACTCCGAGGAGGGCAAGCCC  
GTGGTCAGCGACGAGCAGCTGGCCCGGTGGCTGGGTCTAATGCTAG  
TCCCCAGAGTTTGGAAGAGCGGCGCAAACCTCATGATGGCCGTGGTCC  
TGGTGACCGTGAGCTGGAGTGCTGCGCCGCTTCTTCGCCGACGCG  
GAGACCTGCGCAAGGTCGAGGAGAACCTGCACTACCTCTTCAGGC  
ACGGGTTCGTGCGCCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGACC  
AACCTGGTCTCCTACATGGGCATCTTGACGAGAACCGCCTGGGGCA  
GAACGTGCTGCACACCACCCTGCGCGGGGAGGCCCGGCGCGACTAC  
ATCCGCGACTGCGTCTACCTCTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGGG  
CATGGGCGTGTGGCAGCAGTGTCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAG  
CTCTGCAAGCTCCTGCAGAAGAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGT  
CGACGAGCGCACCAACCGCTCGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCG  
AGCGCCTCAGGCTGACGCTGCGCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGC  
CAAAGCATGTTGCAAACTTTTCGCTCTTTCATCCTCGAACGCTCCGG  
AATCCTGCCCCGCCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGACTTCGTGCCGCT  
GACCTTCCGCGAGTGCCCCCGCCGCTGTGGAGCCACTGCTACCTGC  
TGCGCCTGGCCAACCTACCTGGCCTACCACTCGGACGTGATCGAGGAC  
GTCAGCGGCGAGGGCCTGCTCGAGTGCCACTGCCGCTGCAACCTCTG  
CACGCCGCACCGCTCCCTGGCCTGCAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGA  
CCCAGATCATCGGCACCTTCGAGTTGCAAGGGCCCAGCGAAGGCGA  
GGGTTCAGCCGCCAAGGGGGGTCTGAAACTCACCCCGGGGCTGTGG  
ACCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTCGTGCCCGAGGACTACCATCCCTT  
CGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAATCCCATCCGCCCAAGGCCGAG  
CTGTGCGCCTGCGTCATCACCCAGGGGGCGATCCTGGCCCAATTGCA  
AGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAATTCTTGCTGAAAAAGGGCCGC  
GGGGTCTACCTCGACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTCAACCCCGGCTT  
CCCCAGGATGCCCCGAGGAAACAAGAAGCTGAAAGTGGAGCTGCC  
GCCCCGTGGAGGATTTGGAGGAAGACTGGGAGAACAGCAGTCAGGCA  
GAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTCAGGCAGAG  
GAGGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAGGCA  
GAGGAGGAGGTGGAAGAAGCAGCCGCCGCCAGACCGTCGTCTCTCG  
CGGGGGAGAAAGCAAGCAGCACGGATACCATCTCCGCTCCGGGTCTG  
GGGTCCCGCTCGACCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGACGATTC  
CCGAACCCACCAACCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACA  
AGTCCTGGCGGGGGCACAAAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGCAAGGCC  
TGCGGGGGCAACATCTCCTTCACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCG  
CGGGGTGAACCTTCCCCGCAACATCTTGCACTACTACCGTCACCTCC  
ACAGCCCCTACTACTTCCAAGAAGAGGCAGCAGCAGCAGAAAAAGA  
CCAGCAGAAAACCAGCAGCTAGAAAATCCACAGCGCGCGCAGCAGG  
TGGACTGAGGATCGCGGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTG  
AGGAACCGGATCTTTCCCAACCCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAGTCG

[0886]

GGGGCAGGAGCAGGAACTGAAAGTCAAGAACCGTTCTCTGCGCTCG  
CTCACCCGCGAGTTGTCTGTATCACAAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCG  
CACTCTCGAGGACGCCGAGGCTCTCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCA  
CTCTTAAAGAGTAGCCCGCGCCCGCCAGTCGCAGAAAAAGGCGGG  
AATTACGTACCTGTGCCCTTCGCCCTAGCCGCCTCCACCCATCATCA  
TGAGCAAAGAGATTCCCACGCCTTACATGTGGAGCTACCAGCCCCAG  
ATGGGCCTGGCCGCGGTGCCGCCAGGACTACTCCACCCGCATGAA  
TTGGCTCAGCGCCGGGCCCGCGATGATCTCACGGGTGAATGACATCC  
GCGCCACCGAAACCAGATACTCCTAGAACAGTCAGCGCTCACCGCC  
ACGCCCCGCAATCACCTCAATCCGCGTAATTGGCCCCGCCGCCCTGGT  
GTACCAGGAAATTCCCCAGCCCACGACCGTACTACTTCCGCGAGACG  
CCCAGGCCGAAGTCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGGCGGGC  
GGCGCCACCTGTGTCTGTCACCGCCCCGCTCAGGGTATAAAGCGGCT  
GGTGATCCGGGGCAGAGGCACACAGCTCAACGACGAGGTGGTGAGC  
TCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGAGTCTTCCAACTCGCCGGATC  
GGGGAGATCTTCCCTCACGCCTCGTCAGGCCGTCTGACTTTGGAGA  
GTTTCGTCTCGCAGCCCCGCTCGGGTGGCATCGGCACTCTCCAGTTC  
GTGGAGGAGTTCACTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTTCTCCGGCTCC  
CCCGGCCACTACCCGGACGAGTTCATCCCGAACTTCGACGCCATCAG  
CGAGTCGGTGGACGGCTACGATTGAAACTAATCACCCCTTATCCAG  
TGAAATAAAGATCATATTGATGATGATTTTACAGAAATAAAAAATAA  
TCATTTGATTTGAAATAAAGATACAATCATATTGATGATTTGAGTTTA  
ACAAAAAATAAAGAATCACTTACTTGAAATCTGATACCAGGTCTCT  
GTCCATGTTTTCTGCCAACACCACTTCACTCCCCTCTTCCAGCTCTG  
GTACTGCAGGCCCCGGCGGGCTGCAAACCTTCTCCACACGCTGAAGG  
GGATGTCAAATTCCTCCTGTCCCTCAATCTTCATTTTATCTTCTATCA  
GATGTCCAAAAAGCGCGTCCGGGTGGATGATGACTTCGACCCCGTCT  
ACCCCTACGATGCAGACAACGCACCGACCGTGCCCTTCATCAACCCC  
CCCTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCAAGAGAAGCCCCCTGGGGGTGTT  
GTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCACCACCAAGAACGGGGAAATC  
ACCCTCAAGCTGGGAGAGGGGGTGGACCTCGATTCTCGGGAAAAC  
TCATCTCCAACACGGCCACCAAGGCCGCCGCCCTCTCAGTTTTTCC  
AACAACACCATTTCCTTAACATGGATCACCCCTTTTACACTAAAGA  
TGGAATAATTATCCTTACAAGTTTCTCCACCATTAAATATACTGAGAA  
CAAGCATTCTAAACACACTAGCTTTAGGTTTTGGATCAGGTTTAGGA  
CTCCGTGGCTCTGCCTTGGCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTT  
GATACTGATGGAAACATAAAGCTTACCTTAGACAGAGGTTTGCATGT  
TACAACAGGAGATGCAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAAGGT  
TTAAAATTTGAAGATGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTT  
AGAGTTTGGAAAGCAGTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACC  
CAATCCAAGTTAAACTTGGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGA  
GCCATAATGGCTGGTAACAAAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGA  
CAACACCTGATCCATCACCAAACCTGTCAAATACTCGCAGAAAATGAT  
GCAAAACTAACACTTTGCTTGACTAAATGTGGTAGTCAAATACTGGC  
CACTGTGTCAGTCTTAGTTGTAGGAAGTGGAACCTAAACCCCATTA  
CTGGCACCGTAAGCAGTGCTCAGGTGTTTCTACGTTTTGATGCAAC  
GGTGTTCTTTTAAACAGAACATTCTACACTAAAAAATACTGGGGGTA  
TAGGCAGGGAGATAGCATAGATGGCACTCCATATACCAATGCTGTA  
GGATTCATGCCCAATTTAAAGCTTATCCAAGTCACAAAGTTCTAC  
TACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGTATACATGAATGGAGATGTTT

[0887]

CAAAACCTATGCTTCTCACTATAACCCTCAATGGTACTGATGACAGC  
AACAGTACATATTCAATGTCAATTTTCATACACCTGGACTAATGGAAG  
CTATGTTGGAGCAACATTTGGGGCTAACTCTTATACCTTCTCATACAT  
CGCCCAAGAATGAACACTGTATCCCACCCTGCATGCCAACCCCTTCCC  
ACCCCACTCTGTGGAACAACTCTGAAACACAAAATAAAATAAAGT  
TCAAGTGTTTTATTGATTCAACAGTTTTACAGGATTGAGCAGTTATT  
TTTCTCCACCCTCCCAGGACATGGAATACACCACCCTCTCCCCCGC  
ACAGCCTTGAACATCTGAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTTGGT  
CTCCACGTTCCACACAGTTTCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCA  
GGGAGATGAAACCCTCCGGGCACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTC  
AACAGCTGAGGATTGTCCTCGGTGGTTCGGGATCACGGTTATCTGGAA  
GAAGCAGAAGAGCGGCGGTGGGAATCATAGTCCGCGAACGGGATCG  
GCCGGTGGTGTCGCATCAGGCCCCGCAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGC  
TCCGTCAAGCTGCTGCTCAGGGGGTCCGGGTCCAGGGACTCCCTCAG  
CATGATGCCACGGCCCTCAGCATCAGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGC  
AGCAGCGCATGCGGATCTCGCTCAGGTCGCTGCAGTACGTGCAACAC  
AGAACCACCAGGTTGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACGCTCCAGCC  
GAAACTCATCGCGGGAAGGATGCTACCCACGTGGCCGTCTGACCAG  
ATCCTCAGGTAAATCAAGTGGTGCCCCCTCCAGAACACGCTGCCAC  
GTACATGATCTCCTTGGGCATGTGGCGGTTACCACCTCCCGGTACC  
ACATCACCTCTGGTTGAACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGGAAC  
CACAGGGCCAGCACCGCCCCGCCCGCCATGCAGCGAAGAGACCCCG  
GGTCCCGGCAATGGCAATGGAGGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATC  
ATCTGGGAGCTGAACAAGTCTATGTTGGCACAGCACAGGCATATGCT  
CATGCATCTCTTCAGCACTCTCAACTCCTCGGGGGTCAAACCATAT  
CCCAGGGCACGGGGAAGTCTTGACAGGACAGCGAACCCCGCAGAACA  
GGGCAATCCTCGCACAGAACTTACATTGTGCATGGACAGGGTATCGC  
AATCAGGCAGCACCGGGTGATCCTCCACCAGAGAAGCGCGGGTCTC  
GGTCTCCTCACAGCGTGGTAAGGGGGCCGGCGATACGGGTGATGG  
CGGGACGCGGCTGATCGTGTTCCGCGACCGTGTCATGATGCAGTTGCT  
TTCGGACATTTTCGTACTTGCTGTAGCAGAACCTGGTCCGGGCGCTG  
CACACCGATCGCCGGCGGCGGTCTCGGCGCTTGGAACGCTCGGTGTT  
GAAATTGTAAACAGCCACTCTCTCAGACCGTGACAGCAGATCTAGGG  
CCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATCATGCCTGATGGCTCTGATCACA  
TCGACCACCGTGGAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGATGCAATTTTG  
TTGGGTTTCGGTGACGGCGGGGGAGGGAAGAACAGGAAGAACCATG  
ATTAACTTTTAATCCAAACGGTCTCGGAGTACTTCAAATGAAGATC  
GCGGAGATGGCACCTCTCGCCCCCGCTGTGTTGGTGGAAAATAACAG  
CCAGGTCAAAGGTGATACGGTTCTCGAGATGTTCCACGGTGGCTTCC  
AGCAAAGCCTCCACGCGCACATCCAGAAACAAGACAATAGCGAAAG  
CGGGAGGGTTCTCTAATTCCTCAATCATCATGTTACACTCCTGCACCA  
TCCCCAGATAATTTTCATTTTCCAGCCTTGAATGATTTCGAAGTATT  
CCTGAGGTAAATCCAAGCCAGCCATGATAAAGAGCTCGCGCAGAGC  
GCCCTCCACCGGCATTCTTAAGCACACCCTCATAATTCCAAGATATT  
CTGCTCCTGGTTCACCTGCAGCAGATTGACAAGCGGAATATCAAAAT  
CTCTGCCGCGATCCCTGAGCTCCTCCCTCAGCAATAACTGTAAGTAC  
TCTTTCATATCCTCTCCGAAATTTTTAGCCATAGGACCACCAGGAATA  
AGATTAGGGCAAGCCACAGTACAGATAAACCGAAGTCCTCCCCAGT  
GAGCATTGCCAAATGCAAGACTGCTATAAGCATGCTGGCTAGACCCG  
GTGATATCTTCCAGATAACTGGACAGAAAATCGCCCAGGCAATTTTT

AAGAAAATCAACAAAAGAAAAATCCTCCAGGTGGACGTTTAGAGCC  
TCGGGAACAACGATGAAGTAAATGCAAGCGGTGCGTTCCAGCATGG  
TTAGTTAGCTGATCTGTAGAAAAAACAAAAATGAACATTAAACCATG  
CTAGCCTGGCGAACAGGTGGGTAAATCGTTCTCTCCAGCACCAGGCA  
GGCCACGGGGTCTCCGGCGCGACCCTCGTAAAAATTGTGCGTATGAT  
TGAAAACCATCACAGAGAGACGTTCCCGGTGGCCGGCGTGAATGAT  
TCGACAAGATGAATACACCCCCGGAACATTGGCGTCCGCGAGTGAA  
AAAAAGCGCCCGAGGAAGCAATAAGGCACTACAATGCTCAGTCTCA  
AGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCGGATGAAGCACAAAATTCTCAGG  
TGCGTACAAAATGTAATTACTCCCCTCCTGCACAGGCAGCAAAGCCC  
CCGATCCCCTCCAGGTACACATACAAAGCCTCAGCGTCCATAGCTTAC  
CGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCAAGAGTCAGAGAAAGGCTGAG  
CTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCTCAATATATAGCCCAGATCTAC  
ACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAAAATACCCGCCAAATAATCACA  
CACGCCCAGCACACGCCCAGAAACCGGTGACACACTCAAAAAAATA  
CGCGCACTTCCTCAAACGCCCAAACTGCCGTCAATTTCCGGGTTCCT  
ACGCTACGTCATCAAAACACGACTTTCAAATTCCGTCGACCGTTAAA  
AACGTCACCCGCCCCGCCCTAACGGTCGCCCGTCTCTCAGCCAATC  
AGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAACACCTCATTGTCATATTAACGC  
GCACAAAAGTTTGAGGTATATTATTGATGATGG

**ChAdV68-CT-TSNA (SEQ ID NO:66)**

CATCATCAATAATATACCTCAAACCTTTTGTGCGCGTTAATATGCAA  
ATGAGGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGG  
ATGAGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTGTGATGACGTGG  
TTGCGAGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTC  
AAACGAGGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTC  
TCTGACAGGAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGG  
GCCATTTTCGCGCGAAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAA  
TTTCGCGTTTATGGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGAC  
TTTGACCGATTACGTGGGGGTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAAT  
TTCCGCGTACGGTGTCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCT  
GATCGCCAGGGTATTTAAACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTC  
TTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGAT  
CTACACTTTGAAAGTAGGGATAACAGGGTAATGACATTGATTATTGA  
CTAGTTGTTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCA  
TATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCCGCTGG  
CTGACCGCCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATG  
TTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTG  
GAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCA  
TATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCG  
CCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCTACTTGGC  
AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTT  
GGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTT  
CCAAGTCTCCACCCCATGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTTGGCACCA  
AAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGA  
CGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAG  
AGCTCGTTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAACGCCATCCACGCTG  
TTTTGACCTCCATAGAAGACAGCGATCGCGCCACCATGGCTGGCATG  
ACCGAGTACAAGCTGGTGGTAGTGGGAGCAGGGGATGTTGGAAAT  
CAGCCTTGACTATTCAGCTCATCCAGGGCACAGATCTGGATCACCAG

[0888]

[0889]

GAGAAATGTCTCTCGCGACTGTACGACCACATGCCTGAGGGTCTGAC  
CCCCCTTATGGGAGTGTGCTCCTCTTCTGCGCTGGCCCGTCTCGGATT  
ACCCATGGATAAACTCAATAAAATCACCGCCCCGGCGAGCCAGAAG  
TTAAGACAACTGCAAAAGATGGAACTCCTGAACTACTGCCCTGTGG  
GTATCTTGTAGAAGAAAATACCACGATCTCTGTGACAGTGAAGGGCC  
TGGAGGCTCAGAATAAGATCAAAGGGTGCCTGGGTTCGGTGAACAT  
GACTTTACAGAGAGCCAGCGCAGCTCCTAAGACTGGTGGCGGGGGT  
GAAGCCGCTGCATACAACAACACTCTTGTGGCACGGCACGTGCCCCA  
GATACCAAAGCCCGATTCCCTTGGTGGGGCTTAGTGATGAGTTGGGGA  
AGCGGGACACTTTTGCAGAGTCTCTGATTTCGTAGGATGGCATCCGCG  
GGCTACCTGTTCCCTGGACATCATCACATACGTGGTCTTTGCTGTAACC  
TTCGTGCTTGGTGTTTTAGGAGGGCTGAACACAGAAACCAATGAGAA  
GGCTTTAGAAGCTGTGTTTGGCAAGTATGGAAGAATAGTGGAGGTGC  
TGGGGGGCCGGTCATGCGAGGAGCTGACGGCGGTACTTCCTCCACCT  
CAGCTTTTGGGCAGGAGATTTAACTTCTTCTCATACTCCTATGTGGCC  
GCAGGAAGTTCCGGGAATAACTATGACCTCATGGCCCAACCCATCAC  
GCCCCGGGCCCGACACAACCCCGTTACCAAGTGACCGATACTAGTTCCG  
TGAGTACAGGCCACGCCACCAGCCTGCCTGTGACTGACGCTGGACTC  
AGGGTTACAGAGAGTAAGGGGCACAGCGATTTCATGGCACCTGTCTTT  
GGATACGGCCATCAGGGTCAACACCCCTAAACTGGTGTCCGAGGTTG  
AGGAACTCAACAAAAGCATTACAGCGCTACGAGAAAAGCTACTGCA  
GATGGTGGAGGCCGACAGACCCGGAACCTCTTCATTGGGGGCTTA  
AATACAGAGACTAATGAAGACAGCCCGGTCAAGGATGAAGTAGTGG  
TGAATGATCAGTGGGGACAGAAGTGCAGCTGCCACCACGGCGGTTA  
CGAGTTTCCGGACCTGCACCGCACCATCGTGTCTGAGTGTGACGTGT  
ACCTCACCTACATGCTGCGCCAGGCCGCCCTTCAGCTGTTCTTTGATC  
TCTACCACTCCATTCCGTCAAGCTTCAGCCCCTTAGTCCTCAGCTGTT  
TAGTGCAGCCCTTGAAGATGTGGAGGTTCATGGAGAAGGACGGCAC  
CACATTCTCCTGTGAAGTTTCTCATGACGAGGTTCCCTCGGACATATG  
GACCCGTGTTTATGTGTCTGGGAGGACTGCTGACCATGGTGGCTGGA  
GCTGTTTGGCTGACAGTTGGACCCGGACCAGGCGCCAAATTTGTTGC  
TGCTTGGACACTGAAAGCTGCTGCTGGGCCCGGACCAGGCCAGTACA  
TCAAGGCCAACTCTAAGTTTATCGGCATCACCGAATTGGGACCTGGA  
CCCGGCTAGTAGTGAGTTTAACTCCCATTTAAATGTGAGGGTTAAT  
GCTTCGAGCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCA  
CAACTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGAT  
GCTATTGCTTTATTTGTAACCAATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAA  
CAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTCAAGGGGAGATGT  
GGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTAAAATA  
ACTATAACGGTCCTAAGGTAGCGAGTGAGTAGTGTCTGGGGCGGG  
GGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAATAACTGAAATCTGTGCTTTTCTG  
TGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCGGCTCCTTTGAGGGAGGGGT  
ATTGAGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTCCCCTCCTGGGCGGGAGTGC  
GTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGGCCGGCCCGTGCAGCC  
CGCGAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAGCTCTTCGTGCTT  
GGACGCAGCTGCCGCCGAGCTGCTGCATCTGCCGCCAGCGCCGTGC  
GCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACTCTGGTGGCCAA  
CTCGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGAGGAGAAGCTGT  
TGCTGCTGATGGCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGCGCCTGGGCGAG  
CTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGACGCGGGCCGCGG

[0890]

TTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAATAAAATAAACGG  
AGACGGTTGTTGATTTTAAACACAGAGTCTGAATCTTTATTTGATTTTT  
CGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATCATTGAGCACCCG  
GTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTTGGATGTTGAGGT  
ACATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGCAG  
GGCCTCGTGCTCGGGGGTGGTGTGTAAATCACCCAGTCATAGCAGG  
GGCGCAGGGCATGGTGTTCACAATATCTTTGAGGAGGAGACTGAT  
GGCCACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTACAAATCTGTTGAGCT  
GGGAGGGATGCATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATCTTGGCCTGGAT  
CTTGAGATTGGCGATGTTACCGCCCAGATCCCGCCTGGGGTTTCATGT  
TGTGCAGGACCACCAGCACGGTGTATCCGGTGCACCTTGGGGAATTTA  
TCATGCAACTTGGAAGGGAAGGCGTGAAAGAATTTGGCGACGCCTTT  
GTGCCCCGCCAGGTTTTCCATGCACTCATCCATGATGATGGCGATGG  
GCCCCGTGGGCGGCGGCCTGGGCAAAGACGTTTCGGGGGGTCGGACAC  
ATCATAGTTGTGGTCCTGGGTGAGGTTCATCATAGGCCATTTTAATGA  
ATTTGGGGCGGAGGGTGCCGGACTGGGGGACAAAGGTACCCTCGAT  
CCCGGGGGCGTAGTTCCCCTCACAGATCTGCATCTCCCAGGCTTTGA  
GCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCGGGGCGATAAAGAACAC  
GGTTTCCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGCCGAAAGCAAGTTCCGG  
AGCAGCTGGGACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCCGTAGATGACCCCGA  
TGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGCTGCCGTCCTCC  
CGGAGGAGGGGGGCCACCTCGTTTCATCATCTCGCGCACGTGCATGTT  
CTCGCGCACCAAGTTCCGCCAGGAGGCGCTCTCCCCCAGGGATAGGA  
GCTCCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTCAGCGGCTTGAGTCCGTCCGCC  
ATGGGCATTTTGGAGAGGGTTTGTGCAAGAGTTCCAGGCGGTCCCA  
GAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTCGATCCAGCAGACCTCCTC  
GTTTCGCGGGTTGGGACGGCTGCGGGAGTAGGGCACCAAGATGG  
GCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCTTCCAGGGTCGCAGCGTCCG  
CGTCAGGGTGGTCTCCGTACGGTGAAGGGGTGCGCGCCGGGCTGG  
GCGCTTGCGAGGGTGCGCTTCAGGCTCATCCGGCTGGTTCGAAAACCG  
CTCCCGATCGGCGCCCTGCGCGTCCGCCAGGTAGCAATTGACCATGA  
GTTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTGGCGCGGAGCTTA  
CCTTTGGAAGTCTGCCCCGAGGCGGGACAGAGGAGGGACTTGAGGG  
CGTAGAGCTTGGGGGCGAGGAAGACGGACTCGGGGGCGTAGGCGTC  
CGCGCCGCAGTGGGCGCAGACGGTCTCGCACTCCACGAGCCAGGTG  
AGGTCCGGGCTGGTCCGGGTCAAAAACCAAGTTTCCCGCCGTTCTTTTT  
GATGCGTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCCCGCTGGGT  
GACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCGTAGACCGACTTTATGGGCCGGT  
CCTCGAGCGGTGTGCCGCGGTCTCCTCGTAGAGGAACCCCGCCAC  
TCCGAGACGAAAGCCCGGTCCAGGCCAGCACGAAGGAGGCCACGT  
GGGACGGGTAGCGGTTCGTTGTCCACCAGCGGGTCCACCTTTTCCAGG  
GTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGAAGGTGATTGG  
CTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGCCGGGGGGGTA  
TAAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTTCCGGATCGCT  
GTCCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCTCGAAGGCGG  
GCATGACCTCGGCACTCAGGTTGTCAGTTTCTAGAAACGAGGAGGAT  
TTGATATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTCAAGAGCCCCTCGTC  
CATCTGGTCAGAAAAGACGATCTTTTTTGTGTGTCGAGCTTGGTGGCGA  
AGGAGCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTTGGCGATGGAGCGCAT  
GGTCTGGTTTTTTTCTTGTGCGCGCGCTCCTTGGCGGCGATGTTGAG

[0891]

CTGCACGTACTCGCGCGCCACGCACTTCCATTCGGGGAAGACGGTGG  
TCAGCTCGTCGGGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGATTATGCAGG  
GTGATGAGGTCCACACTGGTGGCCACCTCGCCGCGCAGGGGGCTCATT  
AGTCCAGCAGAGGGCGTCCGCCCTTGCGCGAGCAGAAGGGGGGCGAGG  
GGGTCCAGCATGACCTCGTCGGGGGGGTTCGGCATCGATGGTGAAGA  
TGCCGGGCAGGAGGTTCGGGGTCAAAGTAGCTGATGGAAGTGGCCAG  
ATCGTCCAGGGCAGCTTGCCATTTCGCGCACGGCCAGCGCGCGCTCGT  
AGGGACTGAGGGGGCGTGCCCCAGGGCATGGGATGGGTAAGCGCGGA  
GGCGTACATGCCGCAGATGTCGTAGACGTAGAGGGGGCTCCTCGAGG  
ATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGGATGCTGGCGC  
GCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGCCCCGGGCC  
CAGGTTGGTGCAGCTGGGCTTTTCGGCGCGGTAGACGATCTGGCGGA  
AAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCGCTTTGGAAGATGTT  
GAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGCGGATGAAGTGGGCG  
TAGGAGTCTTGACGCTTGCGGACGAGCTCGGCGGTGACTAGGACGTC  
CAGAGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCCTGGATGATGTCATACTTGAGCT  
GTCCCTTTTGTTCACAGCTCGCGGTTGAGAAGGAACTCTTCGCGGT  
CCTTCCAGTACTCTTCGAGGGGGAACCCGTCCTGATCTGCACGGTAA  
GAGCCTAGCATGTAGAACTGGTTGACGGCCTTGTAGGCGCAGCAGCC  
CTTCTCCACGGGGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCTTGCGCAGGGAG  
GTGTGCGTGAGGGCGAAAGTGTCCCTGACCATGACCTTGAGGAACTG  
GTGCTTGAAGTCGATATCGTCGCAGCCCCCTGCTCCCAGAGCTGGA  
AGTCCGTGCGCTTCTTGAGGCGGGGTGGGCAAAGCGAAAGTAAC  
ATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCCGCGGGGGCATAAAGTTGCGAGTG  
ATGCGGAAAGGTTGGGGCACCTCGGCCCGGTTGTTGATGACCTGGGC  
GGCGAGCACGATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTTGTGGCCACGATGT  
AGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGGCAGTTTCTTG  
AGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTCGCTGAGCCCGTGCTGCTC  
GAGCGCCCAGTCGGCGAGATGGGGGTGGCGCGGAGGAAGGAAGTC  
CAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGACAGACGGTCCCGGTACTGAC  
GGAAGTCTGCCCCACGGCCATTTTTTCGGGGGTGACGCAGTAGAAG  
GTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCTGGAGGGCGA  
GATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTCGTCCCCGAGAGTTTCAT  
GACCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACCCCATCCAG  
GTGTAGGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTCGGTTCGAGG  
ATGCGAGCCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCCACCAATTGGAG  
GAATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCGCCG  
AACACTCGTGCTTGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCTCGCAACGC  
TGCACGGGATGCACGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTCTTTGAC  
GAGGAATTTCAAGTGGGAAGTGGAGTCGTGGCGCCTGCATCTCGTGCT  
GTACTACGTGCTGGTGGTTCGGCCTGGCCCTCTTCTGCCTCGATGGTG  
GTCATGCTGACGAGCCCGCGCGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGGCGC  
GAGCGGGTCGGAGAGCGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTC  
CAGGGTCCTGAGACGCTGCGGAGTCAGGTCAAGTGGGCAGCGGCGGC  
GCGCGGTTGACTTGACAGGAGTTTTTCAGGGCGCGCGGGAGGTCCAG  
ATGGTACTTGATCTCCACCGCGCCATTGGTGGCGACGTCGATGGCTT  
GCAGGGTCCCGTGCCCCCTGGGGTGTGACCACCGTCCCCCGTTTCTTCT  
TGGGCGGCTGGGGCGACGGGGGCGGTGCCTCTTCCATGGTTAGAAG  
CGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGGCAGGGGCGGCTCGGGGCCCCG  
GAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGTCGGCGCCGCGCGCGGGTAGGTT

[0892]

CTGGTACTGCGCCCGGAGAAGACTGGCGTGAGCGACGACGCGACGG  
TTGACGTCCTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAAGGCCACGGGACCCGT  
GAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTTCGACAGAATCAATCTCGGTATCGT  
TGACGGCGGCCTGCCGCAGGATCTCTTGACGTCGCCCCGAGTTGTCC  
TGGTAGGCGATCTCGGTCATGAACTGCTCGATCTCCTCCTCTTGAAG  
GTCTCCGCGGCCGGCGCGCTCCACGGTGGCCGCGAGGTCGTTGGAGA  
TGCGGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCATGCCCGCCTCGTTCCAG  
ACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGATCGCGGGCGCGCATGA  
CCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAGACCGCGTA  
GTTGCAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGGCGATGTGCT  
CGGTGACGAAGAAATACATGATCCAGCGGCGGAGCGGCATCTCGCT  
GACGTCGCCCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTAAAAGTCCA  
CGGCGAAGTTGAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACGGTCAACTC  
CTCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCGCACCTCGC  
GCTCGAAGGCCCCCGGGAGTTCTCTCACTTCTCTTCTCTCTCTCCA  
CTAACATCTTCTACTTCTCTCTCAGGCGGCAGTGGTGGCGGGGGA  
GGGGGCCTGCGTCGCCGGCGGCGCACGGGCAGACGGTCGATGAAGC  
GCTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGATGGTCTCGGTGACGGCG  
CGCCCGTCTCTCGCGGGGCGCGCAGCGTGAAGACGCCGCCGCGCATCTC  
CAGGTGGCCGGGGGGGTCCCCGTTGGGCAGGGAGAGGGCGCTGACG  
ATGCATCTTATCAATTGCCCGTAGGGACTCCGCGCAAGGACCTGAG  
CGTCTCGAGATCCACGGGATCTGAAAACCGCTGAACGAAGGCTTCG  
AGCCAGTCCAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACGGTTTCTTCTGGCGG  
GTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGTGATGAAGT  
TGAAATAGGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGGAGCACCAG  
GTCTTTGGGCCCCGGCTTGCTGGATGCGCAGACGGTCGGCCATGCCCC  
AGGCGTGGTCCTGACACCTGGCCAGGTCCTTGTAAGTAGTCTGTCATG  
AGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCTCGCCCGCGCGGCCGTGCATGCG  
CGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCAGGTCGGCG  
ACGACGCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGTGAGGGTGG  
TCTGGAAGTCATCAAAGTCGACGAAGCGGTGGTAGGCTCCGGTGTTG  
ATGGTGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGACCAGTTGACGGTCTGGTG  
GCCCGGACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGTAGGCGCGC  
GTGTGGAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAAGGTAAGTGGTAGCC  
GATGAGGAAGTGCGGCGGCGGCTGGCGGTAGAGCGGCCATCGCTCG  
GTGGCGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCCTCGAGCATGGTGCGGTGGT  
AGCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGCGCGCGGTGGT  
GGAGGCGCGCGGGAACCTCGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGC  
GGCAGGAAGTAGTTTCATGGTGGGCACGGTCTGGCCCCGTGAGGCGCG  
CGCAGTCGTGGATGCTCTATACGGGCAAAAACGAAAGCGGTCAGCG  
GCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGAACGGGTTGGGCTGCGC  
GTGTACCCCGGTTTCAATCTCGAATCAGGCTGGAGCCGCAGCTAACG  
TGGTATTGGCACTCCCGTCTCGACCAAGCCTGCACCAACCCTCCAG  
GATACGGAGGCGGGTCGTTTTGCAACTTTTTTTTGGAGGCCGATGA  
GACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCGGACCGCGATGGCTCGCTGCCGT  
AGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGCCCCGGTTC  
GAGGCCGCGCCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCTGCCCCGTC  
GTTTCCAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTACGGAGCGAG  
CCCCTCTTTTGTGTTTGTGTTTGTGTTTGTGCGAGATGCATCCCGTACTGCGGC  
AGATGCGCCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCCCCCTCCACAG

[0893]

CCGGCGCTTCTGCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGCCACGACCGC  
CGCGGCCCGCGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGATCACCAGCTG  
GCCTTGGAAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCGCCTGGGGGCGTCGTCGC  
CGGAGCGGCACCCGCGCGTGAGATGAAAAGGGACGCTCCGCGAGGC  
CTACGTGCCCAAGCAGAACCTGTTTACAGAGACAGGAGCGGCGAGGAG  
CCCGAGGAGATGCGCGCGGCCCGGTTCCACGCGGGGCGGGAGCTGC  
GGCGCGGCCTGGACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGACGAGGATTTTCA  
GGCGGACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGCGCACGTGGCC  
GCGGCCAACCTGGTCACGGCGTACGAGCAGACCGTGAAGGAGGAGA  
GCAACTTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCACCCCTGATCGCG  
CGCGAGGAGGTGACCCTGGGCCTGATGCACCTGTGGGACCTGCTGG  
AGGCCATCGTGAGAACCCACCAGCAAGCCGCTGACGGCGCAGCT  
GTTCTTGGTGGTGCAGCATAGTCGGGACAACGAAGCGTTCAGGGAG  
GCGCTGCTGAATATCACCGAGCCCGAGGGCCGCTGGCTCCTGGACCT  
GGTGAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCGGGCTGCCG  
CTGTCCGAGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTGAGTTTGGG  
CAAGTACTACGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCGTACGTGCCCATAG  
ACAAGGAGGTGAAGATCGACGGGTTTTACATGCGCATGACCCTGAA  
AGTGCTGACCCTGAGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCAACGACAGG  
ATGCACCGTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCTGAGCGACC  
AGGAGCTGATGCATAGTCTGCAGCGGGCCCTGACCGGGGCGGGGAC  
CGAGGGGGGAGAGCTACTTTGACATGGGCGCGGACCTGCACTGGCAG  
CCCAGCCGCGGGGCTTGGAGGCGGCGGCAGGACCCTACGTAGAAG  
AGGTGGACGATGAGGTGGACGAGGAGGGCGAGTACCTGGAAGACTG  
ATGGCGCGACCGTATTTTTGCTAGATGCAACAACAACAGCCACCTCC  
TGATCCCGCGATGCGGGCGGCGCTGCAGAGCCAGCCGTCCGGCATT  
ACTCCTCGGACGATTGGACCCAGGCCATGCAACGCATCATGGCGCTG  
ACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGACAGCAGCCCCAGGCCAACCC  
GGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGCCCTCGCGCTCCAACCCC  
ACGCACGAGAAGGTCTTGCCATCGTGAACGCGCTGGTGGAGAACA  
AGGCCATCCGCGGCGACGAGGCCGGCCTGGTGTACAACGCGCTGCT  
GGAGCGCGTGGCCCGCTACAACAGCACCAACGTGCAGACCAACCTG  
GACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGCCCAGCGCGAGC  
GGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGCGCTGAACGCC  
TTCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCCGGGGCCAGGAGGACTA  
CACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATGGTGACCGAGGTGCCCC  
AGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGCGGACTACTTCTTCCAGACCACT  
CGCCAGGGCTTGACAGACCGTGAACCTGAGCCAGGCTTTCAAGAACTT  
GCAGGGCCTGTGGGGCGTGACGGCCCCGGTCCGGGACCGCGCGACG  
GTGTCGAGCCTGCTGACGCCGAACTCGCGCCTGCTGCTGCTGCTGGT  
GGCCCCCTTACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTCGTACCTGG  
GCTACCTGATTAACTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGGCGCACGTG  
GACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCGCGGCCCTGG  
GCCAGGACGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAACTTTTTGCTG  
ACCAACCGGTGCGAGAAGATCCCGCCCCAGTACGCGCTCAGCACCG  
AGGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTGGGCCTGTTT  
CTGATGCAGGAGGGGGCCACCCCCAGCGCCGCGCTCGACATGACCG  
CGCGCAACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGCCCCGTTCATC  
AATAAACTGATGGACTACTTGATCGGGCGGCGCCATGAACTCTGA  
CTATTTACCAACGCCATCCTGAATCCCCACTGGCTCCCGCCGCGG

[0894]

GGTTCTACACGGGCGAGTACGACATGCCCGACCCCAATGACGGGTTC  
CTGTGGGACGATGTGGACAGCAGCGTGTCTCCCCCGACCGGGTGC  
TAACGAGCGCCCCCTTGTGGAAGAAGGAAGGCAGCGACCGACGCCCCG  
TCCTCGGGCGCTGTCCGGCCGCGAGGGTGCTGCCGCGGCGGTGCCCGA  
GGCCGCCAGTCCTTTCCCGAGCTTGCCCTTCTCGCTGAACAGTATCCG  
CAGCAGCGAGCTGGGCAGGATCACGCGCCCGCGCTTGCTGGGCGAA  
GAGGAGTACTTGAATGACTCGCTGTTGAGACCCGAGCGGGAGAAGA  
ACTTCCCCAATAACGGGATAGAAAGCCTGGTGGACAAGATGAGCCG  
CTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGGGACGATCCCCGGGCGTCG  
CAGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCGCCCCGTAAACGCCGGTGGC  
ACGACAGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGATGAGGACTCCGCCGA  
CGACAGCAGCGTGTGGACTTGGGTGGGAGTGGTAACCCGTTTCGCTC  
ACCTGCGCCCCCGTATCGGGCGCATGATGTAAGAGAAACCGAAAAT  
AAATGATACTACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGCGTTCGTTTCTT  
CTCTGTTGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCGTACCCGGAGG  
GTCCTCCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGCGATGGCGGCG  
GCGGCGATGCAGCCCCCGCTGGAGGCTCCTTACGTGCCCCCGCGGTA  
CCTGGCGCCTACGGAGGGGGCGGAACAGCATTCTGTTACTCGGAGCTG  
GCACCCTTGTACGATACCAACCGGTTGTACCTGGTGGACAACAAGTC  
GGCGGACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCACAGCAACTTCC  
TGACCACCGTGGTGCAGAACAAATGACTTCACCCCCACGGAGGCCAG  
CACCCAGACCATCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGTGGGGCGGCCAG  
CTGAAAACCATCATGCACACCAACATGCCCAACGTGAACGAGTTCAT  
GTACAGCAACAAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCCGCAAGACC  
CCCAATGGGGTGACAGTGACAGAGGATTATGATGGTAGTCAGGATG  
AGCTGAAGTATGAATGGGTGGAATTTGAGCTGCCCCGAAGGCAACTTC  
TCGGTGACCATGACCATCGACCTGATGAACAACGCCATCATCGACAA  
TTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAACGGGGTGCTGGAGAGCGACATC  
GGCGTGAAGTTCGACACTAGGAACCTCAGGCTGGGCTGGGACCCCGT  
GACCGAGCTGGTCATGCCCGGGGTGTACACCAACGAGGCTTTCCATC  
CCGATATTGTCTTGCTGCCCCGGCTGCGGGGTGGACTTCACCGAGAGC  
CGCCTCAGCAACCTGCTGGGCATTCGCAAGAGGCAGCCCTTCCAGGA  
AGGCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAGGGGGGCAACATCCCC  
GCGCTCCTGGATGTCGACGCCTATGAGAAAAGCAAGGAGGATGCAG  
CAGCTGAAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTCTACCGAGGTCAGG  
GGCGATAATTTTGCAAGCGCCGCAGCAGTGGCAGCGGCCGAGGCGG  
CTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATTCAGCCGGTGGAGAAGGATAG  
CAAGAACAGGAGCTACAACGTACTACCGGACAAGATAAACACCGCC  
TACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACATATGGCGACCCCGAGAAGG  
GCGTGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCACTCGGACGTCACCTGCGGC  
GTGGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCGACATGATGCAAGACCCGGT  
CACCTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTGGGCG  
CCGAGCTCCTGCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGCAGGCC  
GTCTACTCGCAGCAGCTGCGCGCCTTCACCTCGTTACGCACGTCTTC  
AACCGCTTCCCCGAGAACCAGATCCTCGTCCGCCCCGCCGCGCCAC  
CATTACCACCGTCAGTGAACCGTTCTGCTCTCACAGATCACGGGA  
CCCTGCCGCTGCGCAGCAGTATCCGGGGAGTCCAGCGCGTGACCGTT  
ACTGACGCCAGACGCCGCACCTGCCCTACGTCTACAAGGCCCTGGG  
CATAGTCGCGCCGCGCGTCTCTCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCCA  
TTCTCATCTCGCCCAGTAATAACACCGGTTGGGGCCTGCGCGCGCCC

[0895]

AGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGCCAACGCTCCACGCAACACCCCG  
TGCGCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCTCCCTGGGGCGCCCTCAAGGGC  
CGCGTGCGGTTCGCGCACCACCGTCGACGACGTGATCGACCAGGTGGT  
GGCCGACGCGCGCAACTACACCCCCGCCCGCGCCCGTCTCCACCG  
TGGACGCCGTCATCGACAGCGTGGTGGCCGACGCGCGCCGGTACGC  
CCGCGCCAAGAGCCGGCGGCGGCATCGCCCGCGGCACCGGAGC  
ACCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGCTGCGCAGGGCCAGGC  
GCACGGGACGCGAGGGCCATGCTCAGGGCGGCCAGACGCGCGGCTTC  
AGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGACGCGCGGCCACGGCGGCG  
GCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCGCGGCGAGGGAACGTGT  
ACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCGCGTGCCCGTGCGCACC  
CGCCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTCGCGATGTTGATGTGTCC  
CAGCGGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAAATTCAAGGAAGAGATGCT  
CCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCCTGCGGTGGTGAAGGAG  
GAAAGAAAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTCAAAAAGGACAAAAAG  
GAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGTTTGTGCGCGAGT  
TCGCCCCCGGCGGCGCGTGCAGTGGCGCGGGCGGAAGGTGCAACC  
GGTGCTGAGACCCGGCACCACCGTGGTCTTCACGCCCGGCGAGCGCT  
CCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGAGGTGTACGGGGATGAT  
GATATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGCTTACGG  
CAAGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATCCCG  
CTGGACCACGGCAACCCACGCCGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGCA  
GCAGGTGCTGCCGACCGCGGCGCCGCGCCGGGGTTCAAGCGCGAG  
GGCGAGGATCTGTACCCACCATGCAGCTGATGGTGCCCAAGCGCCA  
GAAGCTGGAAGACGTGCTGGAGACCATGAAGGTGGACCCGGACGTG  
CAGCCCGAGGTCAAGGTGCGGCCCATCAAGCAGGTGGCCCCGGGCC  
TGGGCGTGCGAGACCGTGACATCAAGATTCCACGGAGCCCATGGA  
AACGCAGACCGAGCCCATGATCAAGCCAGCACCAGCACCATGGAG  
GTGCAGACGGATCCCTGGATGCCATCGGCTCCTAGTCGAAGACCCCG  
GCGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCTGCTGATGCCCAACTACGCGCTGC  
ATCCTTCCATCATCCCCACGCCGGGCTACCGCGGCACGCGCTTCTAC  
CGCGGTCATACCAGCAGCCGCCCGCAAGACCACCACTCGCCGCC  
GCCGTCGCCGCACCGCCGCTGCAACCACCCCTGCCGCCCTGGTGCGG  
AGAGTGTAACGCCGCGGCCGCGCACCTCTGACCCTGCCGCGCGCGG  
CTACCACCCGAGCATCGCCATTTAAACTTTTCGCCTGCTTTGCAGATCA  
ATGGCCCTCACATGCCGCCTTCGCGTTCCCATTAACGGGCTACCGAGG  
AAGAAAACCGCGCCGTAGAAGGCTGGCGGGGAACGGGATGCGTCGC  
CACCACCACCGCGGCGGCGCGCCATCAGCAAGCGGTTGGGGGGAG  
GCTTCCTGCCCGCGCTGATCCCCATCATCGCCGCGGCGATCGGGGCG  
ATCCCCGGCATTGCTTCCGTGGCGGTGCAGGCCTCTCAGCGCCACTG  
AGACACACTTGGAACATCTTGTAATAAACCAATGGACTCTGACGCT  
CCTGGTCCTGTGATGTGTTTTCGTAGACAGATGGAAGACATCAATTT  
TTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCACGCGGCCGTTTCATGGGCACCT  
GGAGCGACATCGGCACCAGCCAACCTGAACGGGGGCGCCTTCAATTG  
GAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAGAATTTTCGGGTCCACGCTTAAAA  
CCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCACCACAGGGCAGGCGCTGAG  
GGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAGCAGAAGGTGGTTCGATGGG  
CTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGGACCTGGCCAACCAGGCCGT  
GCAGCGGCAGATCAACAGCCGCTGGACCCGGTGCCGCCCGCCGGC  
TCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGAGGAGGAGCTGCCTCCCCTGGACA

[0896]

AGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGCCCCGATGCGGAGGAGACGCTGCT  
GACGCACACGGACGAGCCGCCCCCGTACGAGGAGGCGGTGAAACTG  
GGTCTGCCCACCACGCGGGCCCATCGCGCCCTTGCCACCGGGGTGCT  
GAAACCCGAAAAGCCCGCGACCCTGGACTTGCTCCTCCCCAGCCTT  
CCCGCCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCCTGCCGCCGTGGCCGTGGCC  
CGCGCGCGACCCGGGGGCACCGCCCGCCCTCATGCGAACTGGCAGA  
GCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGGGAGTGCAGAGTGTGAAGCG  
CCGCCGCTGCTATTAAACCTACCGTAGCGCTTAACTTGCTTGTCTGTG  
TGTGTATGTATTATGTCGCCGCCGCGCTGTCCACCAGAAGGAGGAG  
TGAAGAGGCGCGTCGCCGAGTTGCAAGATGGCCACCCCATCGATGCT  
GCCCCAGTGGGCGTACATGCACATCGCCGGACAGGACGCTTCGGAG  
TACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTGCCCGCGCCACAGACACCTA  
CTTCAGTCTGGGGAACAAGTTTAGGAACCCACGGTGGCGCCACGC  
ACGATGTGACCACCGACCGCAGCCAGCGGCTGACGCTGCGCTTCGTG  
CCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTACTCGTACAAAGTGCGCTACA  
CGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCTGGACATGGCCAGCACCTA  
CTTTGACATCCGCGGCGTGCTGGATCGGGGCCCTAGCTTCAAACCT  
ACTCCGGCACCGCCTACAACAGTCTGGCCCCCAAGGGAGCACCCAA  
CACTTGTCACTGGACATATAAAGCCGATGGTGAAACTGCCACAGAA  
AAAACCTATACATATGGAAATGCACCCGTGCAGGGCATTAAACATCAC  
AAAAGATGGTATTCAACTTGAACTGACACCGATGATCAGCCAATCT  
ACGCAGATAAAACCTATCAGCCTGAACCTCAAGTGGGTGATGCTGA  
ATGGCATGACATCACTGGTACTGATGAAAAGTATGGAGGCAGAGCT  
CTTAAGCCTGATACCAAAATGAAGCCTTGTTATGGTTCTTTTGCCAA  
GCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAATGTGAAAACAGGAACA  
GGCACTACTAAAGAATATGACATAGACATGGCTTTCTTTGACAACAG  
AAGTGCGGCTGCTGCTGGCCTAGCTCCAGAAATTGTTTTGTATACTG  
AAAATGTGGATTTGGAAACTCCAGATACCCATATTGTATACAAAGCA  
GGCACAGATGACAGCAGCTCTTCTATTAATTTGGGTCAGCAAGCCAT  
GCCCAACAGACCTAACTACATTGGTTTCAGAGACAACCTTTATCGGGC  
TCATGTACTACAACAGCACTGGCAATATGGGGGTGCTGGCCGGTCAG  
GCTTCTCAGCTGAATGCTGTGGTTGACTTGCAAGACAGAAACACCGA  
GCTGTCTTACCAGCTCTTGCTTGACTCTCTGGGTGACAGAACCCGGT  
ATTTCAGTATGTGGAATCAGGCGGTGGACAGCTATGATCCTGATGTG  
CGCATTATTGAAAATCATGGTGTGGAGGATGAACTTCCCAACTATTG  
TTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGAACAGATACTTATCAGGGAATTA  
AGGCTAATGGAAGTATCAAACACATGGACCAAAGATGACAGTGT  
CAATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGGTAATCCATTCGCCATGGAA  
ATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAACTTCCTCTACGCCAACGT  
GGCCCTGTACCTGCCCCGACTCTTACAAGTACACGCCGGCCAATGTTA  
CCCTGCCCCACCAACACCAACACCTACGATTACATGAACGGCCGGGTG  
GTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCAACATCGGGGCGCGCTG  
GTCGCTGGATCCCATGGACAACGTGAACCCCTTCAACCACCACCGCA  
ATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCTGGGCAACGGGCGCTAC  
GTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAATTTTTCGCCATCAAGAG  
CCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCCTACACCTACGAGTGGAACCTCCGCA  
AGGACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTCCCTCGGCAACGACCTGCGC  
ACGGACGGGGCCTCCATCTCCTTACCAGCATCAACCTCTACGCCAC  
CTTCTTCCCCATGGCGCACAACACGGCCTCCACGCTCGAGGCCATGC  
TGCGCAACGACACCAACGACCAGTCCTTCAACGACTACCTCTCGGCG

[0897]

GCCAACATGCTCTACCCCATCCCGGCCAACGCCACCAACGTGCCCAT  
CTCCATCCCCTCGCGCAACTGGGCGCCTTCCGCGGCTGGTCCCTTAC  
GCGTCTCAAGACCAAGGAGACGCCCTCGCTGGGCTCCGGGTTCGACC  
CCTACTTCGTCTACTCGGGCTCCATCCCCTACCTCGACGGCACCTTCT  
ACCTCAACCACACCTTCAAGAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCC  
GTCAGCTGGCCCGGCAACGACCGGCTCCTGACGCCCAACGAGTTCGA  
AATCAAGCGCACCGTCGACGGCGAGGGCTACAACGTGGCCCAAGTGC  
AACATGACCAAGGACTGGTTCCTGGTCCAGATGCTGGCCCACTACAA  
CATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCCCGAGGGCTACAAGGACCGCA  
TGTA CTCTTCTTCCGCAACTTCCAGCCCATGAGCCGCCAGGTGGTG  
GACGAGGTCAACTACAAGGACTACCAGGCCGTACCCTGGCCTACC  
AGCACAACA ACTCGGGCTTCGTGGCTACCTCGCGCCCACCATGCGC  
CAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACTACCCCTACCCGCTCATCGGCAA  
GAGCGCCGTCACCAGCGTCACCCAGAAAAAGTTCTCTGCGACAGG  
GTCATGTGGCGCATCCCCTTCTCCAGCAACTTCATGTCCATGGGCGC  
GCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTATGCCAACTCCGCCACG  
CGCTAGACATGAATTTCAAGTCGACCCCATGGATGAGTCCACCCTT  
CTCTATGTTGTCTTCGAAGTCTTCGACGTGTCGAGTGCACCAGCCC  
CACCGCGGCGTCATCGAGGCCGTCTACCTGCGCACCCCCCTTCTCGGC  
CGGTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTGCAAGCCATGGCCGC  
GGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCATCCGCGACCTGGGC  
TGCGGGCCCTACTTCTGGGCACCTTCGATAAGCGCTTCCCGGGATT  
CATGGCCCCGCAACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAACACGGCCGGCC  
GCGAGACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCCTGGAACCCGCG  
CTCGAACACCTGCTACCTCTTCGACCCCTTCGGGTTCGCGACGAGC  
GCCTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGC  
AGCGCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACCCTGGAAAAGTCCA  
CCCAGACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCGCCTGCGGGCTCTTCTGC  
TGCATGTTCTCTGCACGCCCTTCGTGCACTGGCCCGACCGCCCCATGGA  
CAAGAACCCCAACCATGAACTTGCTGACGGGGGTGCCCAACGGCATG  
CTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCACCCTGCGCCGCAACCAGGAGG  
CGCTCTACCGCTTCTCAACTCCCACTCCGCCTACTTTCGCTCCCACC  
GCGCGCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTTCGACCGCATGAATCAAGA  
CATGTAAACCGTGTGTGTATGTTAAATGTCTTTAATAAACAGCACTTT  
CATGTTACACATGCATCTGAGATGATTTATTTAGAAATCGAAAGGGT  
TCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCGCGGGCAGGGACACGTTGCGGAA  
CTGGTACTTGGCCAGCCACTTGA ACTCGGGGATCAGCAGTTTGGGCA  
GCGGGGTGTCGGGGAAGGAGTCGGTCCACAGCTTCCGCGTCAGTTGC  
AGGGCGCCAGCAGGTCCGGGCGCGGAGATCTTGAAATCGCAGTTGG  
GACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGTTGCGGTACACGGGGTTGCAGCAC  
TGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTACGCTCGCCAGCACCGTCCG  
GTCGGTGATGCTCTCCACGTGAGGTCTCGGCGTTGGCCATCCCGA  
AGGGGGTTCATCTTGAGGTCTGCCTTCCCATGGTGGGCACGCACCCG  
GGCTTGTTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATCAGCATCATCTGGGC  
CTGGTCCGCGTTTCATCCCCGGGTACATGGCCTTCATGAAAGCCTCCA  
ATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCTCGGTGAAGAAGACC  
CCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTTGGTGGCGCACCCGGCGTCGTG  
CACGCAGCAGCGCGCGTCGTTGTTGGCCAGCTGCACCACGCTGCGCC  
CCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCGGTGGGGTTCTCCTTCAGC  
GCGCGCTGCCCCGTTCTCGCTCGCCACATCCATCTCGATCATGTGCTCC

[0898]

TTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACCGCAGCTTGCCCTCGGC  
CTCGGTGCACCCGTGCAGCCACAGCGCGCACCCGGTGCACCTCCCAGT  
TCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGCGTGCACGAAGCCCTGCAGGAA  
GCGGCCCATCATGGTGGTTCAGGGTCTTGTGCTAGTGAAGGTCAGCG  
GAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGTGGCAGATGCGGCGG  
TACACCTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAAGTTGGCTTTTCAGGTC  
GGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCATCAGCATAGTCATGATTTCCATAC  
CCTTCTCCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCTCATAGGGTTCTTCACC  
ATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGGGTTCGCTCTCGTCCAG  
GGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCTTCTCGGTGATCCGCACCGGGG  
GGTAGCTGAAGCCCACGGCCGCCAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTTTCG  
TCCTCGCTGTCTGGCTGACGTCCTGCAGGACCACATGCTTGGTCTTG  
CGGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGAGATGTTGGAGATGG  
CGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCCTACTATCTCTTCTCTTC  
TTGGTCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTCTCTTCGGGGGCGAGAG  
GCGGAGGCGACGGGCTCTCGCCGCCGCGACTTGGCGGATGGCTGGC  
AGAGCCCCCTTCCGCGTTTCGGGGGTGCGCTCCCGGCGGCGCTCTGACT  
GACTTCTCCGCGGCCCGCCATTGTGTTCTCCTAGGGAGGAACAACA  
AGCATGGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCCATCTGCCCCCACC GC  
CGACGAGAAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCG  
CCCAGCCCCGCCACCTCCGACGCGGCCGTCCCAGACATGCAAGAGAT  
GGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGGCTATGTGACGCCCGCGGAG  
CACGAGGAGGAGCTGGCAGTGCCTTTTACAAGAAGAGATACACC  
AAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAATGAGCAGAGTCAGGCTG  
GGCTCGAGCATGACGGCGACTACCTCCACCTGAGCGGGGGGGAGGA  
CGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCCGGCAGGCCACCATCGTCAAGGATG  
CGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCCCTCAGCGTGGAGGAGCTCAGC  
CGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGCGCGTGCCCCCAAGCG  
CCAGCCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCCGCGCCTCAACTTCTACC  
CGGTCTTCGCGGTGCCCCGAGGCCCTGGCCACCTACCACATCTTTTTCA  
AGAACCAAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGCGCCAACCGCACCCGCGCC  
GACGCCCTTTTCAACCTGGGTCCCGGCGCCCGCCTACCTGATATCGC  
CTCCTTGGAAGAGGTTCCCAAGATCTTCGAGGGTCTGGGCAGCGACG  
AGACTCGGGCCCGCAACGCTCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGCATGA  
GCACCACAGCGCCCTGGTTCGAGTTGGAAGGCGACAACGCGCGGCTG  
GCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAGCTGACCCATTTTCGCTACCCGGC  
TCTGAACCTGCCCCCAAAGTCATGAGCGCGGTTCATGGACCAGGTGC  
TCATCAAGCGCGCGTCGCCCATCTCCGAGGACGAGGGCATGCAAGA  
CTCCGAGGAGGGCAAGCCCCTGGTTCAGCGACGAGCAGCTGGCCCCG  
TGGCTGGGTCTAATGCTAGTCCCCAGAGTTTGGAAGAGCGGCGCAA  
ACTCATGATGGCCGTGGTCTTGGTGACCGTGAGCTGGAGTGCTGC  
GCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGACCCTGCGCAAGGTTCGAGGAGAA  
CCTGCACTACCTCTTCAGGCACGGGTTCTGTGCGCCAGGCCTGCAAGA  
TCTCCAACGTGGAGCTGACCAACCTGGTCTCCTACATGGGCATCTTG  
CACGAGAACC GCCTGGGGCAGAACGTGCTGCACACCACCCTGCGCG  
GGGAGGCCCGCGCGACTACATCCGCGACTGCGTCTACCTCTACCTC  
TGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTGTGGCAGCAGTGTCTGG  
AGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTCTGCAAGCTCCTGCAGAAGAACCT  
CAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGACGAGCGCACCCACCGCCTCGGAC  
CTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCAGGCTGACGCTGCGCAA

[0899]

CGGCCTGCCCCGACTTTATGAGCCAAAGCATGTTGCAAACTTTTCGCT  
CTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCCGCCACCTGCTCCGCGC  
TGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCCGCGAGTGCCCCCGCCG  
CTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGCCAACTACCTGGCCTA  
CCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCGAGGGCCTGCTCGAG  
TGCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCACCGCTCCCTGGCCTG  
CAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCATCGGCACCTTCGAGT  
TGCAAGGGGCCAGCGAAGGGCGAGGGTTCAGCCGCCAAGGGGGGTCT  
GAAACTCACCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTCG  
TGCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAA  
TCCCATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTCCGCCTGCGTCATCACCCAGGG  
GGCGATCCTGGCCCAATTGCAAGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAAT  
TCTTGCTGAAAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTCGACCCCCAGACCGGT  
GAGGAGCTCAACCCCGGCTTCCCCCAGGATGCCCGAGGAAACAAG  
AAGCTGAAAGTGGAGCTGCCGCCCGTGGAGGATTTGGAGGAAGACT  
GGGAGAACAGCAGTCAGGCAGAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACT  
GGGACAGCACTCAGGCAGAGGAGGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGA  
GGAAGACGAGGAGGAGGCAGAGGAGGAGGTGGAAGAAGCAGCCGC  
CGCCAGACCGTCGTCCTCGGCGGGGGAGAAAGCAAGCAGCACGGAT  
ACCATCTCCGCTCCGGGTCCGGGTCCCGCTCGACCACACAGTAGATG  
GGACGAGACCGGACGATTCCCGAACCCACCACCCAGACCGGTAAG  
AAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCTGGCGGGGGCACA AAAACGCCA  
TCGTCTCCTGCTTGCAAGGCCTGCGGGGGCAACATCTCCTTCAACCCG  
CGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAACTTTCCCCGCAACATCTTG  
CATTACTACCGTCACCTCCACAGCCCCTACTACTTCCAAGAAGAGGC  
AGCAGCAGCAGAAAAAGACCAGCAGAAAAACCAGCAGCTAGAAAAT  
CCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCGCGGCGAACGAGCC  
GGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTTTCCACCCCTCTATG  
CCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCAGGAGCAGGAACTGAAAGTCAA  
GAACCGTTCTCTGCGCTCGCTACCCGCGAGTTGTCTGTATCACAAGA  
GCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAGGACGCCGAGGCTCTCTTC  
AACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAGCCCCGCGCCCCGCCA  
GTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTCACCTGTGCCCTTCGCCCTAG  
CCGCCTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGATTCCACGCTTACAT  
GTGGAGCTACCAGCCCCAGATGGGCCTGGCCGCCGGTGGCGCCAG  
GACTACTCCACCCGCGATGAATTGGCTCAGCGCCGGGCCCGCGATGAT  
CTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCACCGAAACCAGATACTCCTAG  
AACAGTCAGCGCTACCGCCACGCCCCGCAATCACCTCAATCCGCGT  
AATTGGCCCCGCCGCCCTGGTGTACCAGGAAATTCCCCAGCCCACGAC  
CGTACTACTTCCGCGAGACGCCAGGCCGAAGTCCAGCTGACTAACT  
CAGGTGTCCAGCTGGCGGGCGGCGCCACCCGTGTGTCTGTCACCGCCCC  
GCTCAGGGGTATAAAGCGGCTGGTGATCCGGGGCAGAGGCACACAGC  
TCAACGACGAGGTGGTGAGCTCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGA  
GTCTTCCAACCTCGCCGGATCGGGGAGATCTTCCTTCACGCCTCGTCA  
GGCCGTCCTGACTTTGGAGAGTTCGTCTCGCAGCCCCGCTCGGGTG  
GCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGAGGAGTTCCTCCCTCGGTCTAC  
TTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCACTACCCGGACGAGTTTCATC  
CCGAACCTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGTGGACGGCTACGATTGAA  
ACTAATCACCCCTTATCCAGTGAAATAAAGATCATATTGATGATGA  
TTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTTGATTTGAAATAAAGATACAA

[0900]

TCATATTGATGATTTGAGTTTAAACAAAAAATAAAGAATCACTTACT  
TGAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCTGCCAACACCACTT  
CACTCCCCCTCTTCCCAGCTCTGGTACTGCAGGCCCCGGCGGGCTGCA  
AACTTCCCTCCACACGCTGAAGGGGATGTCAAATTCCTCCTGTCCCTC  
AATCTTCATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAGCGCGTCCGGGTG  
GATGATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGCAGACAACGCACC  
GACCGTGCCCTTCATCAACCCCCCTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCA  
AGAGAAGCCCCTGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCA  
CCACCAAGAACGGGGAAATCACCTCAAGCTGGGAGAGGGGGTGGGA  
CCTCGATTCCCTCGGGAAAACATCTCCAACACGGCCACCAAGGCCG  
CCGCCCCCTCTCAGTTTTTCCAACAACACCATTTCCTTAACATGGATC  
ACCCCTTTTACACTAAAGATGGAAAATTATCCTTACAAGTTTCTCCAC  
CATTAATATACTGAGAACAAGCATTCTAAACACACTAGCTTTAGGT  
TTTGGATCAGGTTTAGGACTCCGTGGCTCTGCCTTGGCAGTACAGTT  
AGTCTCTCCACTTACATTTGATACTGATGGAAACATAAAGCTTACCTT  
AGACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGGAGATGCAATTGAAAGCAAC  
ATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAAATTTGAAGATGGAGCCATAGCAA  
CCAACATTGGAAATGGGTAGAGTTTGAAGCAGTAGTACAGAAAC  
AGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAAACTTGGATCTGGCC  
TTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGGTAACAAAGAAGA  
CGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCCATCACCAAACCTGTC  
AAATACTCGCAGAAAATGATGCAAACTAACACTTTGCTTGACTAAA  
TGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCAGTCTTAGTTGTAGGAAG  
TGGAACCTAAACCCCAATTACTGGCACCGTAAGCAGTGCTCAGGTGT  
TTCTACGTTTTGATGCAAACGGTGTTCTTTTAAACAGAACATTCTACAC  
TAAAAAAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGATAGCATAGATGGCAC  
TCCATATACCAATGCTGTAGGATTCATGCCCAATTTAAAAGCTTATC  
CAAAGTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGT  
ATACATGAATGGAGATGTTTCAAAACCTATGCTTCTCACTATAACCC  
TCAATGGTACTGATGACAGCAACAGTACATATTCAATGTCATTTTCA  
TACACCTGGACTAATGGAAGCTATGTTGGAGCAACATTTGGGGCTAA  
CTCTTATACCTTCTCATAACATCGCCCAAGAATGAACACTGTATCCCAC  
CCTGCATGCCAACCCTTCCCACCCCACTCTGTGGAACAAACTCTGAA  
ACACAAAATAAAAATAAAGTTCAAGTGTTTTATTGATTCAACAGTTTT  
ACAGGATTCGAGCAGTTATTTTTCTCCACCCTCCCAGGACATGGAA  
TACACCACCCTCTCCCCCGCACAGCCTTGAACATCTGAATGCCATT  
GGTGATGGACATGCTTTTGGTCTCCACGTTCCACACAGTTTCAGAGC  
GAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACCCTCCGGGCACTC  
CCGCATCTGCACCTCACAGCTCAACAGCTGAGGATTGTCCTCGGTGG  
TCGGGATCACGGTTATCTGGAAGAAGCAGAAGAGCGGCGGTGGGAA  
TCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTGGTGTGCGATCAGGCCCCG  
CAGCAGTCTGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAAGCTGCTGCTCAGGGGGT  
CCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCCACGGCCCTCAGCATC  
AGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCATGCGGATCTCGCTCAG  
GTCGCTGCAGTACGTGCAACACAGAACCACCAGGTTGTTCAACAGTC  
CATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAAACTCATCGCGGGAAGGATGCTA  
CCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAATCAAGTGGTGCCC  
CCTCCAGAACACGCTGCCACGTACATGATCTCCTTGGGCATGTGGC  
GGTTCACCACCTCCCGGTACCACATCACCTCTGGTTGAACATGCAG  
CCCCGGATGATCCTGCGGAACCACAGGGCCAGCACCGCCCCGCCCCG

[0901]

CCATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAATGGCAATGGAGGAC  
CCACCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCTGAACAAGTCTATGT  
TGGCACAGCACAGGCATATGCTCATGCATCTCTTCAGCACTCTCAAC  
TCCTCGGGGGTCAAAACCATATCCCAGGGCACGGGGAACCTTTGCAG  
GACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCCTCGCACAGAACTTACA  
TTGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGCACCGGGTGATCCTC  
CACCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCACAGCGTGGTAAGGGG  
GCCGGCCGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGCTGATCGTGTTCGCG  
ACCGTGTTCATGATGCAGTTGCTTTTCGGACATTTTCGTACTTGCTGTAG  
CAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGCCGGCGGCGGTCTCG  
GCGCTTGGAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAAACAGCCACTCTCTCA  
GACCGTGCAGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATC  
ATGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACCGTGGAATGGGCCAGAC  
CCAGCCAGATGATGCAATTTTGTGGGTTCGGTGACGGCGGGGGAG  
GGAAGAACAGGAAGAACCATGATTAACCTTTTAATCCAAACGGTCTC  
GGAGTACTTCAAAATGAAGATCGCGGAGATGGCACCTCTCGCCCCCG  
CTGTGTTGGTGGAAAATAACAGCCAGGTCAAAGGTGATACGGTTCTC  
GAGATGTTCCACGGTGGCTTCCAGCAAAGCCTCCACGCGCACATCCA  
GAAACAAGACAATAGCGAAAGCGGGAGGGTTCTCTAATTCTCAAT  
CATCATGTTACACTCCTGCACCATCCCCAGATAATTTTCATTTTCCA  
GCCTTGAATGATTCGAACTAGTTCTGAGGTAAATCCAAGCCAGCCA  
TGATAAAGAGCTCGCGCAGAGCGCCCTCCACCGGCATTCTTAAGCAC  
ACCTTCATAATTCCAAGATAATTCTGCTCCTGGTTCACCTGCAGCAGAT  
TGACAAGCGGAATATCAAAATCTCTGCCGCGATCCCTGAGCTCCTCC  
CTCAGCAATAACTGTAAGTACTCTTTCATATCCTCTCCGAAATTTTA  
GCCATAGGACCACCAGGAATAAGATTAGGGCAAGCCACAGTACAGA  
TAAACCGAAGTCTCCCCAGTGAGCATTGCCAAATGCAAGACTGCTA  
TAAGCATGCTGGCTAGACCCGGTGATATCTTCCAGATAACTGGACAG  
AAAATCGCCCAGGCAATTTTAAAGAAAATCAACAAAAGAAAAATCC  
TCCAGGTGGACGTTTAGAGCCTCGGGAACAACGATGAAGTAAATGC  
AAGCGGTGCGTTCCAGCATGGTTAGTTAGCTGATCTGTAGAAAAAAC  
AAAAATGAACATTAACCATGCTAGCCTGGCGAACAGGTGGGTAAA  
TCGTTCTCTCCAGCACCAAGGCAGGCCACGGGGTCTCCGGCGCGACCC  
TCGTAAAAAATTGTCGCTATGATTGAAAACCATCACAGAGAGACGTTC  
CCGGTGGCCGGCGTGAATGATTCGACAAGATGAATACACCCCCGGA  
ACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAAAGCGCCCGAGGAAGCAATAAG  
GCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCGGA  
TGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAATTACTCCCCTC  
CTGCACAGGCAGCAAAGCCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAA  
GCCTCAGCGTCCATAGCTTACCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCA  
AGAGTCAGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCT  
CAATATATAGCCCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAA  
AATACCCGCCAAATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAAACC  
GGTGACACACTCAAAAAAATACGCGCACTTCCTCAAACGCCCAAAA  
CTGCCGTCATTTCCGGGTTCACACGCTACGTCATCAAAACACGACTTT  
CAAATTCCGTCGACCGTTAAAAACGTCACCCGCCCCGCCCCCTAACGG  
TCGCCCCGTCTCTCAGCCAATCAGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAAC  
ACCTCATTTGCATATTAACGCGCACAAAAAGTTTGAGGTATATTATT  
GATGATG

**ChAdV68-TET<sub>o</sub>-TSNA (SEQ ID NO:67)**

[0902]

CCATCTTCAATAATATACCTCAAACCTTTTTGTGCGCGTTAATATGCAA  
ATGAGGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGG  
ATGAGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTTGATGACGTGG  
TTGCGAGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGCGGAAAAGTGACGTC  
AAACGAGGTGTGGTTTGAACACGGAATACTCAATTTTCCCGCGCTC  
TCTGACAGGAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGG  
GCCATTTTCGCGCGAAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAA  
TTTCGCGTTTATGGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGAC  
TTTGACCGATTACGTGGGGGTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAAT  
TTCCGCGTACGGTGTCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCT  
GATCGCCAGGGTATTTAAACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTC  
TTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGAT  
CTACACTTTGAAAGTAGGGATAACAGGGTAATCCATGTTGACATTGA  
TTATTGACTAGTTATTTAAAGTACTTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAG  
TGAAAGTCGAGTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAA  
GTCGAGTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGA  
GTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGAGTTTA  
CCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGAGTTTACCACT  
CCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGAGTTTACCACTCCCTA  
TCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAGTCGAGCTCGGTACCCGGGTGCGAG  
GTAGGCGTGTACGGTGGGAGGCCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTG  
AACCCTCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCA  
TAGAAGACAGCGATCGCGCCACCATGGCTGGCATGACCGAGTACAA  
GCTAGTCGTTGTGGGAGCTGGAGATGTGGGCAAATCTGCTCTGACCA  
TTCAGCTGATTCAGGGCACAGATCTGGATCACCAGGAGAAGTGTCTG  
AGCAGGCTGTACGACCACATGCCAGAAGGATTAACCCCTCTTATGGG  
AGTGAGCTCTTCTTCTGCTCTGGCCAGACTGGGACTGCCTATGGATA  
AGCTGAACAAGATCACAGCTCCTGCCTCTCAGAAACTGAGACAGCTG  
CAGAAGATGGAGACCCCTGAACTGCTGCCTTGTGGATATCTGGTGGA  
GGAGAATACCACAATCAGCGTGACCGTGAAAGGCCTGGAAGCCCAG  
AACAAGATCAAAGGCTGTACCGGCTCTGTGAATATGACACTGCAGA  
GAGCTTCTGCCGCCCTAAGACAGGAGGAGGAGGAGAAGCTGCTGC  
CTACAATAATACATTAGTGGCCAGACATGTGCCCCAGATCCCTAAGC  
CTGACAGCCTGGTTGGCCTGAGCGATGAATTAGGAAAAAGAGACAC  
ATTTGCCGAGAGCCTGATCCGGAGAATGGCCTCTGCCGGCTACCTGT  
TCCTGGATATCATCACATATGTTGTGTTTGGCGTGACCTTCGTGCTGG  
GAGTTCTGGGCGGCCTGAATACCGAGACCAATGAAAAAGCTCTTGA  
AGCCGTGTTTGGCAAGTACGGCAGAATCGTGAGGTGCTGGGCGGC  
AGATCTTGTGAAGAATTAACAGCTGTGTTACCACCTCCTCAGCTGCT  
TGGCAGACGGTTCAACTTCTTCAGCTACAGCTACGTTGCTGCTGGCT  
CTTCTGGCAACAACCTACGACCTGATGGCCCAGCCTATTACACCTGGA  
CCTGATACAACACCTCTGCCTGTGACCGATACATCTTCTGTGTCTACC  
GGACACGCCACATCTCTGCCAGTGACAGATGCTGGACTGAGAGTGGA  
CAGAGTCTAAAGGACACAGCGATTCTTGGCACCTGAGCCTGGATACA  
GCCATCAGGGTGAATACCCCTAAGCTGGTTTCTGAAGTGGAAGAGCT  
GAACAAGAGCATCACCGCCCTGAGGGAGAAGTTACTGCAGATGGTG  
GAAGCCGATAGACCTGGAAACCTGTTTATTGGAGGCCTGAACACCG  
AGACCAATGAGGACTCTCCCGTGAAGGATGAAGTGGTGGTGAACGA  
TCAATGGGGCCAGAATTGTAGCTGCCATCATGGAGGCTACGAGTTCC  
CTGATCTGCACAGGACAATCGTGTCTGAGTGCGATGTGTATCTGACC

[0903]

TACATGCTGAGACAGGCTGCTCTGCAGCTGTTCTTCGACCTGTATCA  
CAGCATCCCTAGCAGCTTTTCTCCTCTGGTTCTGAGCTGTCTGGTGCA  
GCCTCTGGAAGATGTGGAAGTGATGGAGAAGGATGGCACAACCTTT  
AGCTGTGAGGTGAGCCACGATGAGGTGCCTCGGACATATGGACCCG  
TGTTTATGTGTCTGGGAGGACTGCTGACCATGGTGGCTGGAGCTGTT  
TGGCTGACAGTTGGACCCGGACCAGGCGCCAAATTTGTTGCTGCTTG  
GAACTGAAAGCTGCTGCTGGGCCCCGACCAGGCCAGTACATCAAG  
GCCAACTCTAAGTTTATCGGCATCACCGAATTGGGACCTGGACCCGG  
CTAGTAGTGAGTTTAAACTCCCATTAAATGTGAGGGTTAATGCTTC  
GAGCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAAC  
TAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTA  
TTGCTTTATTTGTAACCATTAAGCTGCAATAAACAAAGTTAACAAAC  
AACAAATTGCATTCAATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGA  
GGTTTTTTAAAGCAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTAAATAACTA  
TAACGGTCCTAAGGTAGCGAGTGAGTAGTGTTCTGGGGCGGGGGAG  
GACCTGCATGAGGGCCAGAATAACTGAAATCTGTGCTTTTCTGTGTG  
TTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCGGCTCCTTTGAGGGAGGGGTATTC  
AGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTCCCCCTCCTGGGCGGGAGTGCGTCA  
GAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGGCCGGCCCGTGCAGCCCGCG  
AACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAGCTCTTCGTCGTTGGAC  
GCAGCTGCCGCCGAGCTGCTGCATCTGCCGCCAGCGCCGTGCGCGG  
AATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACTCTGGTGGCCAACTCGA  
GTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGAGGAGAAGCTGTTGCTG  
CTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGCGCCTGGGCGAGCTGAC  
CCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGACGCGGGCCGCGGTTGCC  
ACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAATAAATAAACGGAGACG  
GTTGTTGATTTTAACACAGAGTCTGAATCTTTATTTGATTTTTCGCGC  
GCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATCATTGAGCACCCGGTGGA  
TCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTTGATGTTGAGGTACATG  
GGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGCAGGGCCTC  
GTGCTCGGGGGTGGTGTGTGTAATCACCCAGTCATAGCAGGGGCGCA  
GGGCATGGTGTGACACAATATCTTTGAGGAGGAGACTGATGGCCACG  
GGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTACAAATCTGTTGAGCTGGGAGGG  
ATGCATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATCTTGGCCTGGATCTTGAGAT  
TGGCGATGTTACCGCCCAGATCCCGCCTGGGGTTCATGTTGTGCAGG  
ACCACCAGCACGGTGTATCCGGTGCACCTGGGGAATTTATCATGCAA  
CTTGGAAGGGAAGGCGTGAAAGAATTTGGCGACGCCTTTGTGCCCGC  
CCAGGTTTTCCATGCACTCATCCATGATGATGGCGATGGGCCCCGTGG  
GCGGCGGCCTGGGCAAAGACGTTTCGGGGGTCGGACACATCATAGT  
TGTGGTCTTGGGTGAGGTTCATCATAGGCCATTTTAATGAATTTGGGG  
CGGAGGGTGCCGACTGGGGGACAAAGGTACCCTCGATCCCGGGGG  
CGTAGTTCCCCTCACAGATCTGCATCTCCAGGCTTTGAGCTCGGAG  
GGGGGGATCATGTCCACCTGCGGGGCGATAAAGAACACGGTTTCCG  
GGGCGGGGGAGATGAGCTGGGCCGAAAGCAAGTTCCGGAGCAGCTG  
GGACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCCGTAGATGACCCCGATGACCGGC  
TGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGCTGCCGTCTCCCGGAGGA  
GGGGGGCCACCTCGTTTCATCATCTCGCGCACGTGCATGTTCTCGCGC  
ACCAGTTCCGCCAGGAGGCGCTCTCCCCCAGGGATAGGAGCTCCTG  
GAGCGAGGCGAAGTTTTTCAGCGGCTTGAGTCCGTCCGCCATGGGCA  
TTTTGGAGAGGGTTTGTGTGCAAGAGTTCCAGGCGGTCCAGAGCTCG

[0904]

GTGATGTGCTCTACGGCATCTCGATCCAGCAGACCTCCTCGTTTCGC  
GGGTTGGGACGGCTGCGGGAGTAGGGCACCAGACGATGGGCGTCCA  
GCGCAGCCAGGGTCCGGTCCTTCCAGGGTTCGCAGCGTCCGCGTCAGG  
GTGGTCTCCGTACAGGTGAAGGGGTGCGCGCCGGGCTGGGCGCTTGC  
GAGGGTGCGCTTCAGGCTCATCCGGCTGGTCGAAAACCGCTCCCGAT  
CGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAGGTAGCAATTGACCATGAGTTCGTAG  
TTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTGGCGCGGAGCTTACCTTTGGA  
AGTCTGCCCCGACGGCGGGACAGAGGAGGGACTTGAGGGCGTAGAGC  
TTGGGGGCGAGGAAGACGGACTCGGGGGCGTAGGCGTCCGCGCCGC  
AGTGGGCGCAGACGGTCTCGCACTCCACGAGCCAGGTGAGGTGCGG  
CTGGTCGGGGTCAAAAACCGATTTCGCCGCGTTCTTTTTGATGCGTTT  
CTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCCCCGCTGGGTGACAAAGA  
GGCTGTCCGTGTCCCCGTAGACCGACTTTATGGGCCGGTCCCTCGAGC  
GGTGTGCCGCGGTCTCTCGTAGAGGAACCCCGCCCACTCCGAGAC  
GAAAGCCCCGGGTCCAGGCCAGCACGAAGGAGGCCACGTGGGACGGG  
TAGCGGTCTGTGTCACCAGCGGGTCCACCTTTTCCAGGGTATGCAA  
ACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGAAGGTGATTGGCTTGTAAG  
TGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGCCGGGGGGGTATAAAAGGG  
TGCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTTCCGGATCGCTGTCCAGGAG  
CGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCTCGAAGGCGGGCATGACCT  
CGGCACTCAGGTTGTCAGTTTCTAGAAACGAGGAGGATTTGATATTG  
ACGGTGCCGCGGAGATGCCTTTCAAGAGCCCCCTCGTCCATCTGGTC  
AGAAAAGACGATCTTTTTGTTGTCGAGCTTGGTGCGGAAGGAGCCGT  
AGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTTGGCGATGGAGCGCATGGTCTGGTT  
TTTTTCCTTGTCGGCGCGCTCCTTGGCGGCGATGTTGAGCTGCACGTA  
CTCGCGCGCCACGCACTTCCATTCCGGGAAGACGGTGGTCAGCTCGT  
CGGGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGATTATGCAGGGTGATGAGG  
TCCACACTGGTGGCCACCTCGCCGCGCAGGGGCTCATTAGTCCAGCA  
GAGGCGTCCGCCCTTGCGCGAGCAGAAGGGGGGCAGGGGGTCCAGC  
ATGACCTCGTCGGGGGGGTGCGCATCGATGGTGAAGATGCCGGGCA  
GGAGGTGCGGGTCAAAGTAGCTGATGGAAGTGGCCAGATCGTCCAG  
GGCAGCTTGCCATTGCGGCACGGCCAGCGCGCGCTCGTAGGGACTGA  
GGGGCGTGCCCCAGGGCATGGGATGGGTAAGCGCGGAGGCGTACAT  
GCCGCAGATGTCGTAGACGTAGAGGGGCTCCTCGAGGATGCCGATG  
TAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGGATGCTGGCGCGCACGTAGT  
CATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGCCCCGGGCCAGGTTGGT  
GCGACTGGGCTTTTCGGCGCGGTAGACGATCTGGCGGAAAATGGCAT  
GCGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCCTTTGGAAGATGTTGAAGTGGGC  
GTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGCGGATGAAGTGGGCGTAGGAGTCT  
TGCAGCTTGGCGACGAGCTCGGCGGTGACTAGGACGTCCAGAGCGC  
AGTAGTCGAGGGTCTCCTGGATGATGTCATACTTGAGCTGTCCCTTTT  
GTTTCCACAGCTCGCGGTTGAGAAGGAACCTCTTCGCGGTCCCTCCAG  
TACTCTTCGAGGGGGAACCCGTCTGATCTGCACGGTAAGAGCCTAG  
CATGTAGAACTGGTTGACGGCCTTGTAAGGCGCAGCAGCCCTTCTCCA  
CGGGGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCTTGCGCAGGGAGGTGTGCGT  
GAGGGCGAAAGTGTCCCTGACCATGACCTTGAGGAACTGGTGCTTGA  
AGTCGATATCGTCGCAGCCCCCTGCTCCCAGAGCTGGAAGTCCGTG  
CGCTTCTTGTAAGGCGGGGTGGGCAAAGCGAAAGTAACATCGTTGAA  
GAGGATCTTGCCCGCGCGGGGCATAAAGTTGCGAGTGATGCGGAAA  
GGTTGGGGCACCTCGGCCCGGTTGTTGATGACCTGGGCGGCGAGCAC

[0905]

GATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTTGTGGCCACGATGTAGAGTTCCA  
CGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGGCAGTTTCTTGAGCTCCTCG  
TAGGTGAGCTCGTCGGGGTCGCTGAGCCCGTGCTGCTCGAGCGCCCA  
GTCGGCGAGATGGGGGTGGCGCGGAGGAAGGAAGTCCAGAGATCC  
ACGGCCAGGGCGGTTTGCAGACGGTCCCGGTACTGACGGAAGTCTGCT  
GCCCCAGCGCCATTTTTTCGGGGGTGACGCAGTAGAAGGTGCGGGG  
GTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCTGGAGGGCGAGATCGAGG  
GCGAGCTCGACGAGCCGGTCGTCCCCGGAGAGTTTCATGACCAGCAT  
GAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACCCCATCCAGGTGTAGGTT  
TCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTCCGTGCGAGGATGCGAGC  
CGATGGGGAAGAAGTGGATCTCCTGCCACCAATTGGAGGAATGGCT  
GTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCGCCGAACACTCG  
TGCTTGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCTCGCAACGCTGCACGGG  
ATGCACGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTCCTTTGACGAGGAATT  
TCAGTGGGAAGTGGAGTCGTGGCGCCTGCATCTCGTGCTGTACTACG  
TCGTGGTGGTCGGCCTGGCCCTCTTCTGCCTCGATGGTGGTCATGCTG  
ACGAGCCCCGCGCGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCGCGAGCGGGTC  
GGAGAGCGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCCAGGGTCCT  
GAGACGCTGCGGAGTCAGGTCAGTGGGCAGCGGCGGCGCGCGGTTG  
ACTTGCAAGAGTTTTTCCAGGGCGCGCGGGAGGTCCAGATGGTACTT  
GATCTCCACCGCGCCATTGGTGGCGACGTGATGGCTTGCAAGGTCC  
CGTGCCCCCTGGGGTGTGACCACCGTCCCCCGTTTCTTCTTGGGCGGCT  
GGGGCGACGGGGGCGGTGCCTCTTCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGA  
GGACGCGCGCCCGGGCGGCAGGGGCGGCTCGGGGCCCGGAGGCAGG  
GGCGGCAGGGGCACGTGCGCGCCGCGCGCGGGTAGGTTCTGGTACT  
GCGCCCCGAGAAGACTGGCGTGAGCGACGACGCGACGGTTGACGTC  
CTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAAGGCCACGGGACCCGTGAGTTTGA  
ACCTGAAAGAGAGTTTCGACAGAATCAATCTCGGTATCGTTGACGGCG  
GCCTGCCGCAAGGATCTCTTGACGTCGCCCCAGTTGTCTTGGTAGGC  
GATCTCGGTTCATGAACTGCTCGATCTCCTCCTCTTGAAGGTCTCCGCG  
GCCGGCGCGCTCCACGGTGGCCGCGAGGTCTGTTGGAGATGCGGCC  
ATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCATGCCCGCCTCGTTCCAGACGCGGCT  
GTAGACCACGACGCCCTCGGGATCGCGGGCGCGCATGACCACCTGG  
GCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAGACCGCGTAGTTGCAGA  
GGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGGCGATGTGCTCGGTGAC  
GAAGAAATACATGATCCAGCGGCGGAGCGGCATCTCGCTGACGTCG  
CCCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTAAAAGTCCACGGCGAA  
GTTGAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACGGTCAACTCCTCCTCCA  
GAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCGCACCTCGCGCTCGAA  
GGCCCCCGGGAGTTCTCCTCACTTCTCTTCTCCTCCTCACTAACAT  
CTCTTCTACTTCTCCTCAGGCGGCAGTGGTGGCGGGGGAGGGGGCC  
TGCGTCGCCCGGCGGCGCACGGGCAGACGGTTCGATGAAGCGCTCGAT  
GGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGCATGGTCTCGGTGACGGCGCGCCCGT  
CCTCGCGGGGCGCGCAGCGTGAAGACGCCCGCGCATCTCCAGGTG  
GCCGGGGGGGTCCCCGTTGGGCAGGGAGAGGGCGCTGACGATGCAT  
CTTATCAATTGCCCCGTAGGGACTCCGCGCAAGGACCTGAGCGTCTC  
GAGATCCACGGGATCTGAAAACCGCTGAACGAAGGCTTCGAGCCAG  
TCGAGTTCGAAGGTAGGCTGAGCACGGTTTCTTCTGGCGGGTTCATG  
TTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGTGTGATGAAGTTGAAA  
TAGGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGGAGCACCAGGTCTT

[0906]

TGGGCCCCGGCTTGCTGGATGCGCAGACGGTCGGCCATGCCCCAGGCG  
TGGTCCTGACACCTGGCCAGGTCCTTGTAAGTAGTCCTGCATGAGCCG  
CTCCACGGGACACCTCCTCCTCGCCCGCGCGGCCGTGCATGCGCGTGA  
GCCCCAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCAGGTTCGGCGACGAC  
GCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGTGAGGGTGGTCTGGA  
AGTCATCAAAGTCGACGAAGCGGTGGTAGGCTCCGGTGTGATGGTG  
TAGGAGCAGTTGGCCATGACGGACCAGTTGACGGTCTGGTGGCCCCG  
GACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGTAGGCGCGCGTGTG  
GAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAGGTACTGGTAGCCGATG  
AGGAAGTGCGGCGGCGGGCTGGCGGTAGAGCGGCCATCGCTCGGTGG  
CGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCCTCGAGCATGGTGCGGTGGTAGCC  
GTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCGGCGGTGGTGGAG  
GCGCGCGGGAACCTCGCGGACGCGGTTCAGATGTTGCGCAGCGGCA  
GGAAGTAGTTCATGGTGGGCACGGTCTGGCCCCGTGAGGCGCGCGCA  
GTCGTGGATGCTCTATACGGGCAAAAACGAAAGCGGTACGCGGCTC  
GACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGAACGGGTGGGGCTGCGCGTGT  
ACCCCGGTTTGAATCTCGAATCAGGCTGGAGCCGCAGCTAACGTGGT  
ATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCCTGCACCAACCCTCCAGGATA  
CGGAGGCGGGTCGTTTTGCAACTTTTTTTTTGGAGGCCGGATGAGACT  
AGTAAGCGCGGAAAGCGGCCGACCGCGATGGCTCGCTGCCGTAGTC  
TGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGCCCCGGTTCGAGG  
CCGGCCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCTGCCCCGTGTTTT  
CAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTACGGAGCGAGCCCCCT  
CTTTTGTTTTGTTTTGTTTTTGGCAGATGCATCCCGTACTGCGGCAGAT  
GCGCCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCCCCCTCCACAGCCGG  
CGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGCCACGACCGCCGCG  
GCCGCCGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGATCACCAGCTGGCCTT  
GGAAGAGGGGCGAGGGGCTGGCGCGCCTGGGGGCGTCGTCGCCGGAG  
CGGCACCCGCGCGTGCAGATGAAAAGGGACGCTCGCGAGGCCTACG  
TGCCCAAGCAGAACCTGTTCAGAGACAGGAGCGGCGAGGAGCCCGA  
GGAGATGCGCGCGGCCCCGTTCCACGCGGGGCGGGAGCTGCGGCGC  
GGCCTGGACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGACGAGGATTTGAGGGCGG  
ACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGCGCACGTGGCCGCGGC  
CAACCTGGTCACGGCGTACGAGCAGACCGTGAAGGAGGAGAGCAAC  
TTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCACCCCTGATCGCGCGCGA  
GGAGGTGACCCTGGGCCTGATGCACCTGTGGGACCTGCTGGAGGCC  
ATCGTGCAAGAACCCACAGCAAGCCGCTGACGGCGCAGCTGTTCTT  
GGTGGTGCAGCATAGTCGGGACAACGAAGCGTTCAGGGAGGCGCTG  
CTGAATATCACCGAGCCCGAGGGCCGCTGGCTCCTGGACCTGGTGAA  
CATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCGGGCTGCCGCTGTCCG  
AGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTGAGTTTGGGCAAGTAC  
TACGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCGTACGTGCCCATAGACAAGG  
AGGTGAAGATCGACGGGTTTTACATGCGCATGACCCTGAAAGTGCTG  
ACCCTGAGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCAACGACAGGATGCACC  
GTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCTGAGCGACCAGGAGCT  
GATGCATAGTCTGCAGCGGGCCCTGACCGGGGCGGGACCGAGGGG  
GAGAGCTACTTTGACATGGGCGCGGACCTGCACTGGCAGCCCAGCC  
GCCGGGCCCTGGAGGCGGCGGCAGGACCCTACGTAGAAGAGGTGGA  
CGATGAGGTGGACGAGGAGGGCGAGTACCTGGAAGACTGATGGCGC  
GACCGTATTTTTGCTAGATGCAACAACAACAGCCACCTCCTGATCCC

[0907]

GCGATGCGGGCGGCGCTGCAGAGCCAGCCGTCCGGCATTAACCTCTC  
GGACGATTGGACCCAGGCCATGCAACGCATCATGGCGCTGACGACC  
CGCAACCCCGAAGCCTTTAGACAGCAGCCCCAGGCCAACCGGCTCTC  
GGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGGCCCTCGCGCTCCAACCCACGCACG  
AGAAGGTCCTGGCCATCGTGAACGCGCTGGTGGAGAACAAGGCCAT  
CCGCGGCGACGAGGCCGGCCTGGTGTACAACGCGCTGCTGGAGCGC  
GTGGCCCGCTACAACAGCACCAACGTGCAGACCAACCTGGACCGCA  
TGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGCCCAGCGCGAGCGGTTCCA  
CCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGCGCTGAACGCCTTCCTCA  
GCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCCGGGGCCAGGAGGACTACACCAA  
CTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATGGTGACCGAGGTGCCCCAGAGCG  
AGGTGTACCAGTCCGGGCGGACTACTTCTTCCAGACCAGTCGCCAG  
GGCTTGACAGACCGTGAACCTGAGCCAGGCTTTCAAGAACTTGACAGG  
CCTGTGGGGCGTGACAGGCCCGGTGCGGGACCGCGCGACGGTGTCTG  
AGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGCCTGCTGCTGCTGCTGGTGGCCCC  
CTTCACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTCGTACCTGGGGTACC  
TGATTAACCTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGGCGCACGTGGACGA  
GCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCGCGCCCTGGGCCAG  
GACGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAACCTTTTGCTGACCAA  
CCGGTCGCAGAAGATCCCGCCCCAGTACGCGCTCAGCACCGAGGAG  
GAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTGGGCCTGTTCTCTGAT  
GCAGGAGGGGGCCACCCCCAGCGCCGCGCTCGACATGACCGCGCGC  
AACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGCCCGTTCATCAATAA  
ACTGATGGACTACTTGATCGGGCGGCCGCCATGAACTCTGACTATT  
TCACCAACGCCATCCTGAATCCCCACTGGCTCCCGCCGCGGGGTTT  
TACACGGGCGAGTACGACATGCCCCACCCCAATGACGGGTTCTCTGTG  
GGACGATGTGGACAGCAGCGTGTCTCCCCCGACCGGGTGCTAACG  
AGCGCCCCTTGTGGAAGAAGGAAGGCAGCGACCGACGCCCCTCTC  
GGCGCTGTCCGGCCGCGAGGGTGCTGCCCGCGCGGTGCCCGAGGCC  
GCCAGTCCTTTCCCGAGCTTGCCCTTCTCGCTGAACAGTATCCGCAGC  
AGCGAGCTGGGCAGGATCACGCGCCCGCGCTTGCTGGGCGAAGAGG  
AGTACTTGAATGACTCGCTGTTGAGACCCGAGCGGGAGAAGAAGTTC  
CCCAATAACGGGATAGAAAGCCTGGTGGACAAGATGAGCCGCTGGA  
AGACGTATGCGCAGGAGCACAGGGACGATCCCCGGGCGTCGCAGGG  
GGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCCGCCGTAAACGCCGGTGGCACGAC  
AGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGATGAGGACTCCGCCGACGACA  
GCAGCGTGTGGACTTGGGTGGGAGTGGTAACCCGTTCTGCTCACCTG  
CGCCCCCGTATCGGGCGCATGATGTAAGAGAAACCGAAAATAAATG  
ATACTACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGCGTTCTGTTCTCTCTGT  
TGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCGTACCCGGAGGGTCTCTC  
CTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGCGATGGCGGCGGCGGC  
GATGCAGCCCCCGCTGGAGGCTCCTTACGTGCCCCCGCGGTACCTGG  
CGCCTACGGAGGGGCGGAACAGCATTCGTTACTCGGAGCTGGCACC  
CTTGACGATACACCCGGTTGTACCTGGTGGACAACAAGTCGGCGG  
ACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCACAGCAACTTCCTGACC  
ACCGTGGTGCAGAACAATGACTTCACCCCCACGGAGGCCAGCACCC  
AGACCATCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGTGGGGCGGGCCAGCTGAA  
AACCATCATGCACACCAACATGCCCAACGTGAACGAGTTCATGTACA  
GCAACAAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCCGCAAGACCCCCAA  
TGGGGTGACAGTGACAGAGGATTATGATGGTAGTCAGGATGAGCTG

[0908]

AAGTATGAATGGGTGGAATTTGAGCTGCCCCGAAGGCAACTTCTCGGT  
GACCATGACCATCGACCTGATGAACAACGCCATCATCGACAATTACT  
TGCGCGTGGGGCGGCAGAACGGGGTGCTGGAGAGCGACATCGGCGT  
GAAGTTCGACACTAGGAACTTCAGGCTGGGCTGGGACCCCGTGACC  
GAGCTGGTCATGCCCCGGGTGTACACCAACGAGGCTTTCCATCCCGA  
TATTGTCTTGCTGCCCCGGCTGCGGGGTGGACTTCACCGAGAGCCGCC  
TCAGCAACCTGCTGGGCATTTCGCAAGAGGCAGCCCTTCCAGGAAGG  
CTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAGGGGGGCAACATCCCCGCGC  
TCCTGGATGTCGACGCCTATGAGAAAAGCAAGGAGGATGCAGCAGC  
TGAAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTCTACCGAGGTCAGGGGC  
GATAATTTTGCAAGCGCCGCAGCAGTGGCAGCGGCCGAGGCGGCTG  
AAACCGAAAGTAAGATAGTCATTCAGCCGGTGGAGAAGGATAGCAA  
GAACAGGAGCTACAACGTACTACCGGACAAGATAAACACCGCCTAC  
CGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACATATGGCGACCCCGAGAAGGGCG  
TGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCACTCGGACGTCACCTGCGGCGTG  
GAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCCGACATGATGCAAGACCCGGTCAC  
CTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTGGGCGCCG  
AGCTCCTGCCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGCAGGCCGTC  
TACTCGCAGCAGCTGCGCGCCTTCACCTCGCTTACGCACGTCTTCAA  
CCGCTTCCCCGAGAACCAGATCCTCGTCCGCCCGCCCGCGCCACCA  
TTACCACCGTCAGTGAAAACGTTCTGCTCTCACAGATCACGGGACC  
CTGCCGCTGCGCAGCAGTATCCGGGGAGTCCAGCGCGTGACCGTTAC  
TGACGCCAGACGCCGCACCTGCCCCCTACGTCTACAAGGCCCTGGGCA  
TAGTCGCGCCGCGCGTCTCTCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCCATTCT  
TCATCTCGCCCAGTAATAACACCGGTTGGGGCCTGCGCGCGCCAGC  
AAGATGTACGGAGGCGCTCGCCAACGCTCCACGCAACACCCCGTGC  
GCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCTCCCTGGGGCGCCCTCAAGGGCCGC  
GTGCGGTGCGGCACCAACCGTCGACGACGTGATCGACCAGGTGGTGG  
CCGACGCGCGCAACTACACCCCGCCGCGCGCCCGTCTCCACCGTG  
GACGCCGTTCATCGACAGCGTGGTGGCCGACGCGCGCCGGTACGCC  
GCGCCAAGAGCCGGCGGGCGGCATCGCCCGGCGGCACCGGAGCAC  
CCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGCTGCGCAGGGCCAGGCGC  
ACGGGACGCAGGGCCATGCTCAGGGCGGCCAGACGCGCGGCTTCAG  
GCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGACGCGCGGCCACGGCGGCGGC  
AGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCGCGGCGAGGGAACGTGTAC  
TGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCGCGTGCCCGTGCGCACCCG  
CCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTCGCGATGTTGATGTGTCCCA  
GCGGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAAATTCAAGGAAGAGATGCTCC  
AGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCCTGCGGTGGTGAAGGAGGA  
AAGAAAGCCCCGAAAATCAAGCGGGTCAAAAAGGACAAAAGGA  
AGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGTTTGTGCGCGAGTTC  
GCCCCCGGCGGCGCGTGTCAGTGGCGCGGGCGGAAGGTGCAACCGG  
TGCTGAGACCCGGCACCAACCGTGGTCTTACGCCCCGGCGAGCGCTCC  
GGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGAGGTGTACGGGGATGATG  
ATATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGTCTTACGGC  
AAGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATCCCGC  
TGGACCACGGCAACCCACGCCGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGACG  
CAGGTGCTGCCGACCGCGGCGCCGCGCCGGGGGTTCAGCGCGAGG  
GCGAGGATCTGTACCCACCATGCAGCTGATGGTGCCCAAGCGCCAG  
AAGCTGGAAGACGTGCTGGAGACCATGAAGGTGGACCCGGACGTGC

[0909]

AGCCCGAGGTCAAGGTGCGGCCCATCAAGCAGGTGGCCCCGGGCCT  
GGGCGTGCAGACCGTGGACATCAAGATTCCACGGAGCCCATGGAA  
ACGCAGACCGAGCCCATGATCAAGCCCAGCACCAGCACCATGGAGG  
TGCAGACGGATCCCTGGATGCCATCGGCTCCTAGTCGAAGACCCCGG  
CGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCTGCTGATGCCCAACTACGCGCTGCA  
TCCTTCCATCATCCCCACGCCGGGCTACCGCGGCACGCGTTCTACC  
GCGGTCATACCAGCAGCCGCCGCCGCAAGACCACCACTCGCCGCCG  
CCGTCGCCGCACCGCCGCTGCAACCACCCCTGCCGCCCTGGTGCGGA  
GAGTGTAACCGCCGCGGCCGCGCACCTCTGACCCTGCCGCGCGCGCGC  
TACCACCCGAGCATCGCCATTAAACTTTTCGCCTGCTTTGCAGATCA  
ATGGCCCTCACATGCCGCCCTTCGCGTTCCATTACGGGCTACCGAGG  
AAGAAAACCGCGCCGTAGAAGGCTGGCGGGGAACGGGATGCGTCGC  
CACCACCACCGCGCGCGCGGCCATCAGCAAGCGGTTGGGGGGAG  
GCTTCCTGCCCGCGCTGATCCCCATCATCGCCGCGGCGATCGGGGCG  
ATCCCCGGCATTGCTTCCGTGGCGGTGCAGGCCTCTCAGCGCCACTG  
AGACACACTTGGAACATCTTGTAATAAACCAATGGACTCTGACGCT  
CCTGGTCCTGTGATGTGTTTTCGTAGACAGATGGAAGACATCAATTT  
TTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCACGCGGCCGTTTCATGGGCACCT  
GGAGCGACATCGGCACCAGCCAACCTGAACGGGGGCGCCTTCAATTG  
GAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAGAATTTTCGGGTCCACGCTTAAAA  
CCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCACCACAGGGCAGGCGCTGAG  
GGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAGCAGAAGGTGGTTCGATGGG  
CTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGACCTGGCCAACCAGGCCGT  
GCAGCGGCAGATCAACAGCCGCCTGGACCCGGTGCCGCCCGCCGGC  
TCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGAGGAGGAGCTGCCTCCCCTGGACA  
AGCGGGGCGAGAAGCGACCCCCGCCCGATGCGGAGGAGACGCTGCT  
GACGCACACGGACGAGCCGCCCGGTACGAGGAGGCGGTGAACTG  
GGTCTGCCCACCACGCGGCCCATCGCGCCCTGGCCACCGGGGTGCT  
GAAACCCGAAAAGCCCGCGACCCTGGACTTGCTCCTCCCCAGCCTT  
CCCGCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCCTGCCGCCGGTGGCCGTGGCC  
CGCGCGCGACCCGGGGGCACCGCCCGCCCTCATGCGAACTGGCAGA  
GCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGGGAGTGCAGAGTGTGAAGCG  
CCGCCGCTGCTATTAAACCTACCGTAGCGCTTAACTTGCTTGCTGTG  
TGTGTATGTATTATGTCGCCGCCGCGCTGTCCACCAGAAGGAGGAG  
TGAAGAGGCGCGTCCCGAGTTGCAAGATGGCCACCCCATCGATGCT  
GCCCCAGTGGGCGTACATGCACATCGCCGGACAGGACGCTTCGGAG  
TACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTGCCCGCGCCACAGACACCTA  
CTTCAGTCTGGGGAACAAGTTTAGGAACCCACGGTGGCGCCACGC  
ACGATGTGACCACCGACCGCAGCCAGCGGCTGACGCTGCGCTTCGTG  
CCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTACTCGTACAAAGTGCGCTACA  
CGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCTGGACATGGCCAGCACCTA  
CTTTGACATCCGCGGCGTGCTGGATCGGGGCCCTAGCTTCAAACCT  
ACTCCGGCACCGCCTACAACAGTCTGGCCCCCAAGGGAGCACCCAA  
CACTTGTCAGTGGACATATAAAGCCGATGGTGAAACTGCCACAGAA  
AAAACCTATACATATGGAAATGCACCCGTGCAGGGCATTAAACATCAC  
AAAAGATGGTATTCAACTTGAACTGACACCGATGATCAGCCAATCT  
ACGCAGATAAAACCTATCAGCCTGAACCTCAAGTGGGTGATGCTGA  
ATGGCATGACATCACTGGTACTGATGAAAAGTATGGAGGCAGAGCT  
CTTAAGCCTGATACCAAAATGAAGCCTTGTTATGGTTCTTTTGCCAA  
GCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAATGTGAAAACAGGAACA

[0910]

GGCACTACTAAAGAATATGACATAGACATGGCTTTCTTTGACAACAG  
AAGTGC GGCTGCTGCTGGCCTAGCTCCAGAAATTGTTTTGTATACTG  
AAAATGTGGATTTGGAAACTCCAGATACCCATATTGTATACAAAGCA  
GGCACAGATGACAGCAGCTCTTCTATTAATTTGGGTCAGCAAGCCAT  
GCCCAACAGACCTAACTACATTGGTTTCAGAGACAACCTTTATCGGGC  
TCATGTACTACAACAGCACTGGCAATATGGGGGTGCTGGCCGGTCAG  
GCTTCTCAGCTGAATGCTGTGGTTGACTTGCAAGACAGAAACACCGA  
GCTGTCTACCAGCTCTTGCTTGACTCTCTGGGTGACAGAACCCGGT  
ATTTACAGTATGTGGAATCAGGCGGTGGACAGCTATGATCCTGATGTG  
CGCATTATTGAAAATCATGGTGTGGAGGATGAACTTCCCAACTATTG  
TTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGAACAGATACTTATCAGGGAATTA  
AGGCTAATGGAAGTATCAAACACATGGACCAAGATGACAGTGT  
CAATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGGTAATCCATTCGCCATGGAA  
ATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAACTTCCTCTACGCCAACGT  
GGCCCTGTACCTGCCCGACTCTTACAAGTACACGCCGGCCAATGTTA  
CCCTGCCCAACCAACCAACACCTACGATTACATGAACGGCCGGGTG  
GTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCAACATCGGGGCGCGCTG  
GTCGCTGGATCCCATGGACAACGTGAACCCCTTCAACCACCAACCGCA  
ATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCTGGGCAACGGGCGCTAC  
GTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAATTTTTCGCCATCAAGAG  
CCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCTTACACCTACGAGTGGAACCTCCGCA  
AGGACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTCCCTCGGCAACGACCTGCGC  
ACGGACGGGGCCTCCATCTCCTTACCAGCATCAACCTCTACGCCAC  
CTTCTTCCCCATGGCGCACAAACGCGCTCCACGCTCGAGGCCATGC  
TGCGCAACGACACCAACGACCAGTCCTTCAACGACTACCTCTCGGCG  
GCCAACATGCTCTACCCCATCCCGGCCAACGCCACCAACGTGCCCAT  
CTCCATCCCCTCGCGCAACTGGGCGCCTTCCGCGGCTGGTCTTAC  
GCGTCTCAAGACCAAGGAGACGCCCTCGCTGGGCTCCGGGTTCGACC  
CCTACTTCGTCTACTCGGGCTCCATCCCCTACCTCGACGGCACCTTCT  
ACCTCAACCACACCTTCAAGAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCC  
GTCAGCTGGCCCGGCAACGACCGGCTCCTGACGCCCAACGAGTTCGA  
AATCAAGCGCACCGTCGACGGCGAGGGCTACAACGTGGCCCAAGTGC  
AACATGACCAAGGACTGGTTCTTGGTCCAGATGCTGGCCCACTACAA  
CATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCCCGAGGGCTACAAGGACCGCA  
TGTA CTCTTCTTCCGCAACTTCCAGCCCATGAGCCGCCAGGTGGTG  
GACGAGGTCAACTACAAGGACTACCAGGCGGTACCCCTGGCCTACC  
AGCACAACAACCTCGGGCTTCGTGGCTACCTCGCGCCCAACCATGCGC  
CAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACCTACCCCTACCCGCTCATCGGCAA  
GAGCGCCGTCACCAGCGTCACCCAGAAAAAGTTCTCTGCGACAGG  
GTCATGTGGCGCATCCCCTTCTCCAGCAACTTCATGTCCATGGGCGC  
GCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTATGCCAACTCCGCCACG  
CGCTAGACATGAATTTCAAGTCGACCCCATGGATGAGTCCACCCTT  
CTCTATGTTGTCTTTCGAAGTCTTCGACGTGCTCCGAGTGCACCAGCCC  
CACCGCGGCGTCATCGAGGCGGTCTACCTGCGCACCCCTTCTCGGC  
CGGTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTGCAAGCCATGGCCGC  
GGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCATCCGCGACCTGGGC  
TGCGGGCCCTACTTCTTGGGCACCTTCGATAAGCGCTTCCCGGGATT  
CATGGCCCCGCACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAACACGGCCGGCC  
GCGAGACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCCTGGAACCCGCG  
CTCGAACACCTGCTACCTCTTCGACCCCTTCGGGTTCTCGGACGAGC

[0911]

GCCTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGC  
AGCGCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACCCTGGAAAAGTCCA  
CCCAGACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCGCCTGCGGGCTCTTCTGC  
TGCATGTTCTCTGCACGCCCTTCGTGCACTGGCCCGACCGCCCCATGGA  
CAAGAACCCCCACCATGAACTTGCTGACGGGGGTGCCCAACGGCATG  
CTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCACCCTGCGCCGCAACCAGGAGG  
CGCTCTACCGCTTCCTCAACTCCCACTCCGCCTACTTTCGCTCCCACC  
GCGCGCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTTCGACCGCATGAATCAAGA  
CATGTAAACCGTGTGTGTATGTTAAATGTCTTTAATAAACAGCACTTT  
CATGTTACACATGCATCTGAGATGATTTATTTAGAAATCGAAAGGGT  
TCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCGCGGGCAGGGACACGTTGCGGAA  
CTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAACTCGGGGATCAGCAGTTTGGGCA  
GCGGGGTGTGCGGGAAGGAGTCGGTCCACAGCTTCCGCGTCAGTTGC  
AGGGCGCCAGCAGGTTCGGGCGCGGAGATCTTGAAATCGCAGTTGG  
GACCCGCGTTCGCGCGCGGGAGTTGCGGTACACGGGGTTGCAGCAC  
TGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTCACGCTCGCCAGCACCGTCCG  
GTCGGTGATGCTCTCCACGTGAGGTCTTCGGCGTTGGCCATCCCGA  
AGGGGGTTCATCTTGCAAGGTCTGCCTTCCCATGGTGGGCACGCACCCG  
GGCTTGTTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATCAGCATCATCTGGGC  
CTGGTCGGCGTTTCATCCCCGGGTACATGGCCTTCATGAAAGCCTCCA  
ATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCTCGGTGAAGAAGACC  
CCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTTGGTGGCGCACCCGGCGTCGTG  
CACGCAGCAGCGCGCGTCTGTTGGCCAGCTGCACCACGCTGCGCC  
CCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCGGTGCGGGTTCTCCTTCAGC  
GCGCGCTGCCCGTTCTCGCTCGCCACATCCATCTCGATCATGTGCTCC  
TTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACCGCAGCTTGCCCTCGGC  
CTCGGTGCACCCGTGCAGCCACAGCGCGCACCCGGTGCCTCCAGT  
TCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGCGTGCACGAAGCCCTGCAGGAA  
GCGGCCCCATCATGGTGGTTCAGGGTCTTGTGCTAGTGAAGGTCAGCG  
GAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGTGGCAGATGCGGCGG  
TACACCTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAAGTTGGCTTTTCAGGTC  
GGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCATCAGCATAGTCATGATTTCCATAC  
CCTTCTCCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCTCATAGGGTTCTTCACC  
ATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGGGTTCGCTCTCGTCCAG  
GGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCTTCTCGGTGATCCGCACCGGGG  
GGTAGCTGAAGCCCACGGCCGCCAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTTCG  
TCCTCGCTGTCTGGCTGACGTCCTGCAGGACCACATGCTTGGTCTTG  
CGGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGAGATGTTGGAGATGG  
CGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCCTACTATCTCTTCTCTTC  
TTGGTCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTCTCTTCGGGGGCAGAG  
GCGGAGGCGACGGGCTCTCGCCGCGCGACTTGGCGGATGGCTGGC  
AGAGCCCCCTTCCGCGTTTCGGGGGTGCGCTCCCGGCGGCGCTCTGACT  
GACTTCCTCCGCGGCCCGGCCATTGTGTTCTCCTAGGGAGGAACAACA  
AGCATGGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCCATCTGCCCCCACC GC  
CGACGAGAAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCG  
CCCAGCCCCGCCACCTCCGACGCGGCCGTCCAGACATGCAAGAGAT  
GGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGGCTATGTGACGCCCGCGGAG  
CACGAGGAGGAGCTGGCAGTGCCTTTTACAAGAAGAGATACACC  
AAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAATGAGCAGAGTCAGGCTG  
GGCTCGAGCATGACGGCGACTACCTCCACCTGAGCGGGGGGGAGGA

[0912]

CGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCGGCAGGCCACCATCGTCAAGGATG  
CGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCTCAGCGTGGAGGAGCTCAGC  
CGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGCGCGTGCCCCCAAGCG  
CCAGCCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCCGCGCCTCAACTTCTACC  
CGGTCTTCGCGGTGCCCGAGGCCCTGGCCACCTACCACATCTTTTCA  
AGAACCAAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGCGCCAACCGCACCCGCGCC  
GACGCCCTTTTCAACCTGGGTCCCGGCGCCCGCCTACCTGATATCGC  
CTCCTTGGAAGAGGTTCCCAAGATCTTCGAGGGTCTGGGCAGCGACG  
AGACTCGGGCCGCGAACGCTCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGCATGA  
GCACCACAGCGCCCTGGTTCGAGTTGGAAGGCGACAACGCGCGGCTG  
GCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAGCTGACCCATTTTCGCTACCCGGC  
TCTGAACCTGCCCCCAAAGTCATGAGCGCGGTTCATGGACCAGGTGC  
TCATCAAGCGCGCGTCGCCCATCTCCGAGGACGAGGGCATGCAAGA  
CTCCGAGGAGGGCAAGCCCGTGGTCAGCGACGAGCAGCTGGCCCGG  
TGGCTGGGTCTAATGCTAGTCCCCAGAGTTTGGAAGAGCGGCGCAA  
ACTCATGATGGCCGTGGTTCCTGGTGACCGTGGAGCTGGAGTGCCTGC  
GCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGACCCTGCGCAAGGTCGAGGAGAA  
CCTGCACTACCTCTTCAGGCACGGGTTCGTGCGCCAGGCCTGCAAGA  
TCTCCAACGTGGAGCTGACCAACCTGGTCTCCTACATGGGCATCTTG  
CACGAGAACCGCCTGGGGCAGAACGTGCTGCACACCACCCTGCGCG  
GGGAGGCCCGGCGCGACTACATCCGCGACTGCGTCTACCTCTACCTC  
TGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTGTGGCAGCAGTGTCTGG  
AGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTCTGCAAGCTCCTGCAGAAGAACCT  
CAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGACGAGCGCACACCACCGCCTCGGAC  
CTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCAGGCTGACGCTGCGCAA  
CGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCATGTTGCAAAACTTTTCGT  
CTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCCGCCACCTGCTCCGCGC  
TGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCCGCGAGTGCCCCCGCCG  
CTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGCCAACTACCTGGCCTA  
CCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCGAGGGCCTGCTCGAG  
TGCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCACCGCTCCCTGGCCTG  
CAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCATCGGCACCTTCGAGT  
TGCAAGGGGCCAGCGAAGGCGAGGGTTCAGCCGCCAAGGGGGGTCT  
GAAACTACCCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTTCG  
TGCCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAA  
TCCCATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTCCGCCTGCGTCATACCCAGGG  
GGCGATCCTGGCCCAATTGCAAGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAAT  
TCTTGCTGAAAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTCGACCCCAGACCGGT  
GAGGAGCTCAACCCCGGCTTCCCCCAGGATGCCCCGAGGAAACAAG  
AAGCTGAAAGTGGAGCTGCCGCCCGTGGAGGATTTGGAGGAAGACT  
GGGAGAACAGCAGTCAGGCAGAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACT  
GGGACAGCACTCAGGCAGAGGAGGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGA  
GGAAGACGAGGAGGAGGCAGAGGAGGAGGTGGAAGAAGCAGCCGC  
CGCCAGACCGTCGTCTCCTCGGCGGGGAGAAAGCAAGCAGCACGGAT  
ACCATCTCCGCTCCGGGTCCGGGTCCCGCTCGACCACACAGTAGATG  
GGACGAGACCGGACGATTCCCGAACCCACCACCCAGACCGGTAAG  
AAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCTGGCGGGGGCACA AAAACGCCA  
TCGTCTCCTGCTTGCAGGCCTGCGGGGGCAACATCTCCTTACCCGG  
CGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAACTTTCCCCGCAACATCTTG  
CATTACTACCGTCACCTCCACAGCCCCTACTACTTCCAAGAAGAGGC

[0913]

AGCAGCAGCAGAAAAAGACCAGCAGAAAACCAGCAGCTAGAAAAT  
CCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCGCGGCGAACGAGCC  
GGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTTTCCACCCCTCTATG  
CCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCAGGAGCAGGAACTGAAAGTCAA  
GAACCGTTCTCTGCGCTCGCTACCCGCAGTTGTCTGTATCACAAGA  
GCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAGGACGCCGAGGCTCTCTTC  
AACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAGCCCGCGCCCCGCCA  
GTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTACCTGTGCCCTTCGCCCTAG  
CCGCCTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGATTCCACGCCTTACAT  
GTGGAGCTACCAGCCCCAGATGGGCCTGGCCGCCGGTGGCGCCAG  
GACTACTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCGCCGGGCCCCGCGATGAT  
CTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCCCACCGAAACCAGATACTCCTAG  
AACAGTCAGCGCTACCGCCACGCCCCGCAATCACCTCAATCCGCGT  
AATTGGCCCCGCCGCCCTGGTGTACCAGGAAATTCCCCAGCCCACGAC  
CGTACTACTTCCGCGAGACGCCCAGGCCGAAGTCCAGCTGACTAACT  
CAGGTGTCCAGCTGGCGGGCGGCGCCACCCTGTGTCTGTCACCGCCCC  
GCTCAGGGGTATAAAGCGGCTGGTGATCCGGGGCAGAGGCACACAGC  
TCAACGACGAGGTGGTGAGCTCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGA  
GTCTTCCAACCTCGCCGGATCGGGGAGATCTTCCTTCACGCCTCGTCA  
GGCCGTCTGACTTTGGAGAGTTCGTCTCGCAGCCCCGCTCGGGTG  
GCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGAGGAGTTCCTCCCTCGGTCTAC  
TTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCACTACCCGGACGAGTTTCATC  
CCGAACCTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGTGGACGGCTACGATTGAA  
ACTAATCACCCCTTATCCAGTGAAATAAAGATCATATTGATGATGA  
TTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTTGATTTGAAATAAAGATACAA  
TCATATTGATGATTTGAGTTTAAACAAAAATAAAGAATCACTTACT  
TGAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCTGCCAACACCACTT  
CACTCCCCTCTTCCCAGCTCTGGTACTGCAGGCCCCGGCGGGCTGCA  
AACTTCTCCACACGCTGAAGGGGATGTCAAATTCCTCCTGTCCCTC  
AATCTTCATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAGCGCGTCCGGGTG  
GATGATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGCAGACAACGCACC  
GACCGTGCCCTTCATCAACCCCCCTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCA  
AGAGAAGCCCCTGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCA  
CCACCAAGAACGGGGAAATCACCTCAAGCTGGGAGAGGGGGTGGGA  
CCTCGATTCTCGGGAAAACCTCATCTCCAACACGGCCACCAAGGCCG  
CCGCCCTCTCAGTTTTTCCAACAACACCATTTCCCTTAACATGGATC  
ACCCCTTTTACACTAAAGATGGAAAATTATCCTTACAAGTTTCTCCAC  
CATTAATATACTGAGAACAAGCATTCTAAACACACTAGCTTTAGGT  
TTTGGATCAGGTTTAGGACTCCGTGGCTCTGCCTTGGCAGTACAGTT  
AGTCTCTCCACTTACATTTGATACTGATGGAAACATAAAGCTTACCTT  
AGACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGGAGATGCAATTGAAAGCAAC  
ATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAAATTTGAAGATGGAGCCATAGCAA  
CCAACATTGGAAATGGGTTAGAGTTTGAAGCAGTAGTACAGAAAC  
AGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAAACTTGGATCTGGCC  
TTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGGTAACAAAGAAGA  
CGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCCATCACCAAACTGTC  
AAATACTCGCAGAAAATGATGCAAACTAACACTTTGCTTGACTAAA  
TGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCAGTCTTAGTTGTAGGAAG  
TGGAACCTAAACCCCATTAAGTGGCACCGTAAGCAGTGCTCAGGTGT  
TTCTACGTTTTGATGCAAACGGTGTCTTTTAACAGAACATTCTACAC

[0914]

TAAAAAAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGATAGCATAGATGGCAC  
TCCATATACCAATGCTGTAGGATTCATGCCCAATTTAAAAGCTTATC  
CAAAGTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGT  
ATACATGAATGGAGATGTTTCAAACCTATGCTTCTCACTATAACCC  
TCAATGGTACTGATGACAGCAACAGTACATATTCAATGTCATTTTCA  
TACACCTGGACTAATGGAAGCTATGTTGGAGCAACATTTGGGGCTAA  
CTCTTATACCTTCTCATACATCGCCCAAGAATGAACACTGTATCCCAC  
CCTGCATGCCAACCCTTCCCACCCCACTCTGTGGAACAACTCTGAA  
ACACAAAATAAAATAAAGTTCAAGTGTTTTATTGATTCAACAGTTTT  
ACAGGATTCGAGCAGTTATTTTTCTCTCCACCCTCCCAGGACATGGAA  
TACACCACCCTCTCCCCCGCACAGCCTTGAACATCTGAATGCCATT  
GGTGATGGACATGCTTTTGGTCTCCACGTTCCACACAGTTTCAGAGC  
GAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACCCTCCGGGCACTC  
CCGCATCTGCACCTCACAGCTCAACAGCTGAGGATTGTCCTCGGTGG  
TCGGGATCACGGTTATCTGGAAGAAGCAGAAGAGCGGCGGTGGGAA  
TCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTGGTGTCGCATCAGGCCCCG  
CAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAAGCTGCTGCTCAGGGGGT  
CCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCCACGGCCCTCAGCATC  
AGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCATGCGGATCTCGCTCAG  
GTCGCTGCAGTACGTGCAACACAGAACCACCAGGTTGTTCAACAGTC  
CATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAACTCATCGCGGGAAGGATGCTA  
CCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAAATCAAGTGGTGCCC  
CCTCCAGAACACGCTGCCCACGTACATGATCTCCTTGGGCATGTGGC  
GGTTCACCACCTCCCGGTACCACATCACCTCTGGTTGAACATGCAG  
CCCCGGATGATCCTGCGGAACCACAGGGCCAGCACCGCCCCGCCCCG  
CCATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAATGGCAATGGAGGAC  
CCACCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCTGAACAAGTCTATGT  
TGGCACAGCACAGGCATATGCTCATGCATCTCTTCAGCACTCTCAAC  
TCCTCGGGGGTCAAAACCATATCCCAGGGCACGGGGAACCTTTGCAG  
GACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCCTCGCACAGAACTTACA  
TTGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGCACCGGGTGATCCTC  
CACCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCACAGCGTGGTAAGGGG  
GCCGGCCGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGCTGATCGTGTTGCGG  
ACCGTGTCATGATGCAGTTGCTTTTCGGACATTTTCGTACTTGCTGTAG  
CAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGCCGGCGGGCGGTCTCG  
GCGCTTGAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAAACAGCCACTCTCTCA  
GACCGTGCAGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATC  
ATGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACCGTGGAATGGGCCAGAC  
CCAGCCAGATGATGCAATTTTGTGTTGGGTTTCGGTGACGGCGGGGGAG  
GGAAGAACAGGAAGAACCATGATTAACCTTTTAATCCAAACGGTCTC  
GGAGTACTTCAAAATGAAGATCGCGGAGATGGCACCTCTCGCCCCCG  
CTGTGTTGGTGGAAAATAACAGCCAGGTCAAAGGTGATACGGTTCTC  
GAGATGTTCCACGGTGGCTTCCAGCAAAGCCTCCACGCGCACATCCA  
GAAACAAGACAATAGCGAAAGCGGGAGGGTTCTCTAATTCTCAAT  
CATCATGTTACACTCCTGCACCATCCCCAGATAATTTTCATTTTCCA  
GCCTTGAATGATTCGAACTAGTTCTGAGGTAAATCCAAGCCAGCCA  
TGATAAAGAGCTCGCGCAGAGCGCCCTCCACCGGCATTCTTAAGCAC  
ACCCTCATAATTCCAAGATATTCTGCTCCTGGTTACCTGCAGCAGAT  
TGACAAGCGGAATATCAAAATCTCTGCCGCGATCCCTGAGCTCCTCC  
CTCAGCAATAACTGTAAGTACTCTTTCATATCCTCTCCGAAATTTTA

GCCATAGGACCACCAGGAATAAGATTAGGGCAAGCCACAGTACAGA  
TAAACCGAAGTCCTCCCCAGTGAGCATTGCCAAATGCAAGACTGCTA  
TAAGCATGCTGGCTAGACCCGGTGATATCTTCCAGATAACTGGACAG  
AAAATCGCCCAGGCAATTTTAAAGAAAATCAACAAAAGAAAAATCC  
TCCAGGTGGACGTTTAGAGCCTCGGGAACAACGATGAAGTAAATGC  
AAGCGGTGCGTTCCAGCATGGTTAGTTAGCTGATCTGTAGAAAAAAC  
AAAAATGAACATTAAACCATGCTAGCCTGGCGAACAGGTGGGTAAA  
TCGTTCTCTCCAGCACCAGGCAGGCCACGGGGTCTCCGGCGCGACCC  
TCGTAAAAAATTGTCGCTATGATTGAAAACCATCACAGAGAGACGTTT  
CCGGTGGCCGGCGTGAATGATTGACAAGATGAATACACCCCCGGA  
ACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAAAGCGCCCGAGGAAGCAATAAG  
GCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCGGA  
TGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAATTACTCCCCTC  
CTGCACAGGCAGCAAAGCCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAA  
GCCTCAGCGTCCATAGCTTACCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCA  
AGAGTCAGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCT  
CAATATATAGCCCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAA  
AATACCCGCCAAATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAAACC  
GGTGACACACTCAAAAAAATACGCGCACTTCCTCAAACGCCCAAAA  
CTGCCGTCATTTCCGGGTTCACGCTACGTATCAAAACACGACTTT  
CAAATTCCGTCGACCGTTAAAAACGTCACCCGCCCGCCCCCTAACGG  
TCGCCCCGTCTCTCAGCCAATCAGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAAC  
ACCTCATTTGCATATTAACGCGCACAAAAAGTTTGAGGTATATTATT  
GATGATGG

[0915]

**ChAdV68-CMT-TSNA (SEQ ID NO:68)**

CATCATCAATAATATACCTCAAACTTTTGTGCGCGTTAATATGCAA  
ATGAGGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGG  
ATGAGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTGTATGACGTGG  
TTGCGAGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTC  
AAACGAGGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCGCGCTC  
TCTGACAGGAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGG  
GCCATTTTCGCGCGAAACTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAA  
TTTCGCGTTTATGGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGAC  
TTTGACCGATTACGTGGGGGTTTCGATTACCGTGTTTTTACCTAAAT  
TTCCGCGTACGGTGTCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCT  
GATCGCCAGGGTATTTAAACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTC  
TTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGAT  
CTACACTTTGAAAGTAGGGATAACAGGGTAATGACATTGATTATTGA  
CTAGTTGTTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCA  
TATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCCGCTGG  
CTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATG  
TTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTG  
GAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCA  
TATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCG  
CCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCCTACTTGGC  
AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTT  
GGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTT  
CCAAGTCTCCACCCCATGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCA  
AAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGA  
CGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAG

[0916]

AGCTCTCCCTATCAGTGATAGAGATCTCCCTATCAGTGATAGAGATC  
GTCGACGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAACGCCATC  
CACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACAGCGATCGCGCCACCATGGC  
TGGCATGACCGAGTACAAGCTAGTCGTTGTGGGAGCTGGAGATGTG  
GGCAAATCTGCTCTGACCATTCAGCTGATTCAGGGCACAGATCTGGA  
TCACCAGGAGAAGTGTCTGAGCAGGCTGTACGACCACATGCCAGAA  
GGATTAACCCCTCTTATGGGAGTGAGCTCTTCTTCTGCTCTGGCCAGA  
CTGGGACTGCCTATGGATAAGCTGAACAAGATCACAGCTCCTGCCTC  
TCAGAAACTGAGACAGCTGCAGAAGATGGAGACCCCTGAACTGCTG  
CCTTGTGGATATCTGGTGGAGGAGAATACCACAATCAGCGTGACCGT  
GAAAGGCCTGGAAGCCCAGAACAAGATCAAAGGCTGTACCGGCTCT  
GTGAATATGACACTGCAGAGAGCTTCTGCCGCCCTAAGACAGGAG  
GAGGAGGAGAAGCTGCTGCCTACAATAATACATTAGTGGCCAGACA  
TGTGCCCCAGATCCCTAAGCCTGACAGCCTGGTTGGCCTGAGCGATG  
AATTAGGAAAAAGAGACACATTTGCCGAGAGCCTGATCCGGAGAAT  
GGCCTCTGCCGGCTACCTGTTCTGGATATCATCACATATGTTGTGTT  
TGCCGTGACCTTCGTGCTGGGAGTTCTGGGCGGCCTGAATACCGAGA  
CCAATGAAAAAGCTCTTGAAGCCGTGTTTGGCAAGTACGGCAGAATC  
GTGGAGGTGCTGGGCGGCAGATCTTGTGAAGAATTAACAGCTGTGTT  
ACCACCTCCTCAGCTGCTTGGCAGACGGTTCAACTTCTTCAGCTACA  
GCTACGTTGCTGCTGGCTCTTCTGGCAACAACCTACGACCTGATGGCC  
CAGCCTATTACACCTGGACCTGATACAACACCTCTGCCTGTGACCGA  
TACATCTTCTGTGTCTACCGGACACGCCACATCTCTGCCAGTGACAG  
ATGCTGGACTGAGAGTGACAGAGTCTAAAGGACACAGCGATTCTTG  
GCACCTGAGCCTGGATACAGCCATCAGGGTGAATACCCCTAAGCTGG  
TTTCTGAAGTGGAAGAGCTGAACAAGAGCATCACCGCCCTGAGGGA  
GAAGTTACTGCAGATGGTGGGAAGCCGATAGACCTGGAAACCTGTTTA  
TTGGAGGCCTGAACACCGAGACCAATGAGGACTCTCCCGTGAAGGA  
TGAAGTGGTGGTGAACGATCAATGGGGCCAGAATTGTAGCTGCCATC  
ATGGAGGCTACGAGTTCCTGATCTGCACAGGACAATCGTGTCTGAG  
TGCGATGTGTATCTGACCTACATGCTGAGACAGGCTGCTCTGCAGCT  
GTTCTTCGACCTGTATCACAGCATCCCTAGCAGCTTTTCTCCTCTGGT  
TCTGAGCTGTCTGGTGCAGCCTCTGGAAGATGTGGAAGTGATGGAGA  
AGGATGGCACAACCTTTAGCTGTGAGGTGAGCCACGATGAGGTGCCT  
CGGACATATGGACCCGTGTTTATGTGTCTGGGAGGACTGCTGACCAT  
GCTGGCTGGAGCTGTTTGGCTGACAGTTGGACCCGGACCAGGCGCCA  
AATTTGTGCTGCTTGGACACTGAAAGCTGCTGCTGGGCCCCGGACCA  
GGCCAGTACATCAAGGCCAACTCTAAGTTTATCGGCATCACCGAATT  
GGGACCTGGACCCGGCTAGTAGTGAGTTTAAACTCCCATTTAAATGT  
GAGGGTTAATGCTTCGAGCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTT  
GGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTG  
AAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATA  
AACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAG  
GGGGAGATGTGGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAACCTCTACAAAT  
GTGGTAAAATAACTATAACGGTCCTAAGGTAGCGAGTGAGTAGTGTT  
CTGGGGCGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAATAACTGAAATCT  
GTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCGGCTCCTTTG  
AGGGAGGGGTATTACGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTCCCTCCTGG  
GCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGGCCGGC  
CCGTGCAGCCCGCGAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAGC

[0917]

TCTTCGTCGTTGGACGCAGCTGCCGCCGCAGCTGCTGCATCTGCCGC  
CAGCGCCGTGCGCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACT  
CTGGTGGCCAACTCGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGA  
GGAGAAGCTGTTGCTGCTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGC  
GCCTGGGCGAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGAC  
GCGGGCCGCGGTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAA  
TAAATAAACGGAGACGGTTGTTGATTTTAACACAGAGTCTGAATCTT  
TATTTGATTTTTTCGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATC  
ATTGAGCACCCGGTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTT  
GGATGTTGAGGTACATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTA  
GCTCCATTGCAGGGCCTCGTGCTCGGGGGTGGTGTGTGTAATCACCC  
AGTCATAGCAGGGGCGCAGGGCATGGTGTGTCACAATATCTTTGAGG  
AGGAGACTGATGGCCACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTACAAA  
TCTGTTGAGCTGGGAGGGATGCATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATC  
TTGGCCTGGATCTTGAGATTGGCGATGTTACCGCCCAGATCCCGCCT  
GGGGTTCATGTTGTGCAGGACCACCAGCACGGTGTATCCGGTGCCT  
TGGGGAATTTATCATGCAACTTGAAGGGAAGGCGTGAAAGAATTT  
GGCGACGCCTTTGTGCCCCGCCAGGTTTCCATGCACTCATCCATGAT  
GATGGCGATGGGCCCCGTGGGCGGCGGCCTGGGCAAAGACGTTTCGG  
GGGTCCGACACATCATAGTTGTGGTCTGGGTGAGGTCATCATAGGC  
CATTTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTGCCGGACTGGGGGACAAAG  
GTTCCCTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCCTCACAGATCTGCATCTCC  
CAGGCTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCGGGGCGA  
TAAAGAACACGGTTTCCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGCCGAAAG  
CAAGTTCCGGAGCAGCTGGGACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCCGTAG  
ATGACCCCGATGACCGGTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGC  
TGCCGTCTCCCGGAGGAGGGGGGCCACCTCGTTCATCATCTCGCGC  
ACGTGCATGTTCTCGCGCACCAAGTTCGCCCAGGAGGCGCTCTCCCC  
CAGGGATAGGAGCTCCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTTCAGCGGCTTG  
AGTCCGTCCGCCATGGGCATTTTGGAGAGGGTTTGTGCAAGAGTTC  
CAGGCGGTCCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTCGATCCA  
GCAGACCTCCTCGTTTCGCGGGTTGGGACGGCTGCGGGAGTAGGGCA  
CCAGACGATGGGCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCTTCCAGGGT  
CGCAGCGTCCGCGTCAGGGTGGTCTCCGTACCGGTGAAGGGGTGCGC  
GCCGGGCTGGGCGCTTGCGAGGGTGCCTTCAGGCTCATCCGGCTGG  
TCGAAAACCGCTCCCGATCGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAGGTAGCAA  
TTGACCATGAGTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTGGC  
GCGGAGCTTACCTTTGGAAGTCTGCCCGCAGGCGGGACAGAGGAGG  
GACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGGGCGAGGAAGACGGACTCGGGGG  
CGTAGGCGTCCGCGCCGAGTGGGCGCAGACGGTCTCGCACTCCACG  
AGCCAGGTGAGGTCCGGGCTGGTCCGGGTCAAAAACCAAGTTTCCCGC  
CGTTCTTTTTGATGCGTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCC  
CCGCTGGGTGACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCGTAGACCGACTTTA  
TGGGCCGGTCTCGAGCGGTGTGCCGCGGTCTCTCGTAGAGGAAC  
CCCGCCCACTCCGAGACGAAAGCCCGGTCCAGGCCAGCACGAAGG  
AGGCCACGTGGGACGGGTAGCGGTCTGTTGTCCACCAGCGGGTCCAC  
CTTTTCCAGGGTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGA  
AGGTGATTGGCTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGCC  
GGGGGGGTATAAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTTC  
CGGATCGCTGTCCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCT

[0918]

CGAAGGCGGGCATGACCTCGGCACTCAGGTTGTCAGTTTCTAGAAAC  
GAGGAGGATTTGATATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTCAAGA  
GCCCCCTCGTCCATCTGGTCAGAAAAGACGATCTTTTTGTGTGTCGAGCT  
TGGTGGCGAAGGAGCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTTGGCGAT  
GGAGCGCATGGTCTGGTTTTTTTCCTTGTGCGGCGGCTCCTTGGCGGC  
GATGTTGAGCTGCACGTACTCGCGCGCCACGCACTTCCATTGCGGGA  
AGACGGTGGTCAGCTCGTCGGGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGA  
TTATGCAGGGTGATGAGGTCCACACTGGTGGCCACCTCGCCGCGCAG  
GGGCTCATTAGTCCAGCAGAGGCGTCCGCCCTTGC GCGAGCAGAAG  
GGGGGCAGGGGGTCCAGCATGACCTCGTCGGGGGGGTGCGCATCGA  
TGGTGAAGATGCCGGGCAGGAGGTGCGGGTCAAAGTAGCTGATGGA  
AGTGGCCAGATCGTCCAGGGCAGCTTGCCATTGCGGCACGGCCAGCG  
CGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTGCCCCAGGGCATGGGATGGGT  
AAGCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTCTGTAGACGTAGAGGGGC  
TCCTCGAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGGAT  
GCTGGCGCGCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGC  
CCCGGGCCCCAGGTTGGTGCGACTGGGCTTTTCGCGCGGTTAGACGAT  
CTGGCGGAAAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCCTTTGG  
AAGATGTTGAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGCGGATGA  
AGTGGGCGTAGGAGTCTTGACGCTTGCGGACGAGCTCGGCGGTGACT  
AGGACGTCCAGAGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCCTGGATGATGTCATA  
CTTGAGCTGTCCCTTTTGTTCACAGCTCGCGGTTGAGAAGGAACTC  
TTCGCGGTCCCTCCAGTACTCTTCGAGGGGGAACCCGTCCTGATCTG  
CACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGA ACTGGTTGACGGCCTTG TAGGGC  
CAGCAGCCCTTCTCCACGGGGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCTTGCG  
CAGGGAGGTGTGCGTGAGGGCGAAAGTGTCCCTGACCATGACCTTG  
AGGAACTGGTGCTTGAAGTCGATATCGTCGCAGCCCCCTGCTCCCA  
GAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTG TAGGCGGGGTGGGCAAAGCG  
AAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCCGCGCGGGGCATAAAGT  
TGCGAGTGATGCGGAAAGGTTGGGGCACCTCGGCCCGGTTGTTGATG  
ACCTGGGCGGGCAGCACGATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTTGTGGCC  
CACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGGC  
AGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTTCGCTGAGCCC  
GTGCTGCTCGAGCGCCAGTCGCGGAGATGGGGGTGGGCGCGGAGG  
AAGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGCAGACGGTCCC  
GGTACTGACGGA ACTGCTGCCCCGACGGCCATTTTTTCGGGGGTGACG  
CAGTAGAAGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCTG  
GAGGGCGAGATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTCGTCCCCGGAG  
AGTTTCATGACCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACC  
CCATCCAGGTGTAGGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTCG  
GTGCGAGGATGCGAGCCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCCACC  
AATTGGAGGAATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACG  
GCGCGCCGAACACTCGTGCTTGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCT  
CGCAACGCTGCACGGGATGCACGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTT  
CCTTTGACGAGGAATTTCA GTGGGAAGTGGAGTCGTGGCGCCTGCAT  
CTCGTGCTGTACTACGTGCTGGTGGTTCGGCCTGGCCCTCTTCTGCCTC  
GATGGTGGTCATGCTGACGAGCCCCGCGCGGGAGGCAGGTCCAGACC  
TCGGCGCGAGCGGGTCGGAGAGCGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCG  
GAGCTGTCCAGGGTCTTGAGACGCTGCGGAGTCAGGTCA GTGGGCA  
GCGGCGGCGCGCGGTTGACTTGCAGGAGTTTTTCCAGGGCGCGCGG

[0919]

AGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGCGCCATTGGTGGCGACGTC  
GATGGCTTGACAGGGTCCCGTGCCCCTGGGGTGTGACCACCGTCCCC  
GTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGGCGACGGGGGCGGTGCCTCTTCCATG  
GTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGGCAGGGGCGGCTC  
GGGGCCCCGAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGTCGGCGCCGCGCGCG  
GGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCGGAGAAGACTGGCGTGAGCGACGA  
CGCGACGGTTGACGTCTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAAGGCCACG  
GGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTTCGACAGAATCAATCTC  
GGTATCGTTGACGGCGGCCTGCCGCAGGATCTCTTGACAGTCGCCCC  
AGTTGTCCTGGTAGGCGATCTCGGTCATGAACTGCTCGATCTCCTCCT  
CTTGAAGGTCTCCGCGGCCCGCGCGCTCCACGGTGGCCGCGAGGTGCG  
TTGGAGATGCGGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCATGCCCGCCTC  
GTTCCAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGATCGCGGGCG  
CGCATGACCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAGA  
CCGCGTAGTTGCAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGCC  
GATGTGCTCGGTGACGAAGAAATACATGATCCAGCGGCGGAGCGGC  
ATCTCGCTGACGTGCGCCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTA  
AAAGTCCACGGCGAAGTTGAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACG  
GTCAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCG  
CACCTCGCGCTCGAAGGCCCGCGGAGTTCCTCCACTTCCTCTTCTTC  
CTCCTCCACTAACATCTCTTCTACTTCCTCCTCAGGCGGCAGTGGTGG  
CGGGGGAGGGGGCCTGCGTCCCGGCGGCGCACGGGCAGACGGTCG  
ATGAAGCGCTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGCATGGTCTCGGT  
GACGGCGCGCCCGTCTCGCGGGGCGCGCAGCGTGAAGACGCCGCCG  
CGCATCTCCAGGTGGCCGGGGGGGTCCCGTTGGGCAGGGAGAGGG  
CGCTGACGATGCATCTTATCAATTGCCCGTAGGGACTCCGCGCAAG  
GACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGGATCTGAAAACCGCTGAACGA  
AGGCTTCGAGCCAGTCGCAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACGGTTTCT  
TCTGGCGGGTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGT  
GATGAAGTTGAAATAGGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGG  
AGCACCAGGTCTTTGGGCCCGGCTTGCTGGATGCGCAGACGGTCGGC  
CATGCCCCAGGCGTGGTCCTGACACCTGGCCAGGTCTTGAGTAGT  
CCTGCATGAGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCCTCGCCCGCGCGGCCG  
TGCATGCGCGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCA  
GGTCGGCGACGACGCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGT  
GAGGGTGGTCTGGAAGTCATCAAAGTCGACGAAGCGGTGGTAGGCT  
CCGGTGTTGATGGTGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGACCAAGTTGAC  
GGTCTGGTGGCCCGGACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGT  
AGGCGCGCGTGTCTGAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAAGTA  
CTGGTAGCCGATGAGGAAGTGCGGCGGCGGCTGGCGGTAGAGCGGC  
CATCGCTCGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCTCGAGCATGG  
TGCGGTGGTAGCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCG  
GCGGTGGTGGAGGCGCGCGGGAACCTCGCGGACGCGGTTCCAGATGT  
TGCGCAGCGGCAGGAAGTAGTTCATGGTGGGCACGGTCTGGCCCGT  
GAGGCGCGCGCAGTCGTGGATGCTCTATACGGGCAAAAACGAAAGC  
GGTCAGCGGCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGAACGGGTTG  
GGCTGCGCGTGTACCCCGGTTCTGAATCTCGAATCAGGCTGGAGCCGC  
AGCTAACGTGGTATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCCTGCACCAA  
CCCTCCAGGATACGGAGGCGGGTCGTTTTGCAACTTTTTTTGGAGG  
CCGGATGAGACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCCGACCGCGATGGCTC

[0920]

GCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGC  
CCCGGTTTCGAGGCCGGCCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCT  
GCCCCGTCGTTTCCAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTAC  
GGAGCGAGCCCCCTCTTTTGT TTTGT TTTGT TTTGT TTTGTGCCAGATGCATCCCCG  
TACTGCGGCAGATGCGCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCCC  
CCTCCACAGCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGC  
CACGACCGCCGCGGCCGCGGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGAT  
CACCAGCTGGCCTTGGAAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCGCCTGGGGG  
CGTCGTCGCCGAGCGGCACCCGCGCGTGCAGATGAAAAGGGACGC  
TCGCGAGGCCTACGTGCCCAAGCAGAACCTGTTTCAGAGACAGGAGC  
GGCGAGGAGCCCGAGGAGATGCGCGCGGCCCGGTTCCACGCGGGGC  
GGGAGCTGCGGCGCGGCCTGGACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGACGA  
GGATTTTCGAGGCGGACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGCG  
CACGTGGCCGCGGCCAACCTGGTCACGGCGTACGAGCAGACCGTGA  
AGGAGGAGAGCAACTTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCAC  
CCTGATCGCGCGGAGGAGGTGACCCTGGGCCTGATGCACCTGTGGG  
ACCTGCTGGAGGCCATCGTGCAGAACCCACCAGCAAGCCGCTGAC  
GGCGCAGCTGTTCTTGGTGGTGCAGCATACTCGGGACAACGAAGCG  
TTCAGGGAGGCGCTGCTGAATATCACCGAGCCCGAGGGCCGCTGGCT  
CCTGGACCTGGTGAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCG  
GGCTGCCGCTGTCCGAGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTG  
AGTTTGGGCAAGTACTACGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCGTACGT  
GCCCATAGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGGTTTACATGCGCATG  
ACCCTGAAAGTGCTGACCCTGAGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCA  
ACGACAGGATGCACCGTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCT  
GAGCGACCAGGAGCTGATGCATAGTCTGCAGCGGGCCCTGACCGGG  
GCCGGGACCGAGGGGGAGAGCTACTTTGACATGGGCGCGGACCTGC  
ACTGGCAGCCCAGCCGCGGGCCTTGAGAGCGGCGGCAGGACCCTA  
CGTAGAAGAGGTGGACGATGAGGTGGACGAGGAGGGCGAGTACCTG  
GAAGACTGATGGCGCGACCGTATTTTTTGCTAGATGCAACAACAACAG  
CCACCTCCTGATCCCGCGATGCGGGCGGCGCTGCAGAGCCAGCCGTC  
CGGCATTAACCTCCTCGGACGATTGGACCCAGGCCATGCAACGCATCA  
TGGCGCTGACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGACAGCAGCCCCA  
GGCCAACCGGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGCCTTCGCGCT  
CCAACCCACGCACGAGAAGGTCCTGGCCATCGTGAACGCGCTGGT  
GGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAGGCCGGCCTGGTGTACAAC  
GCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCGCTACAACAGCACCAACGTGCAGA  
CCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGCCCA  
GCGCGAGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGCGC  
TGAACGCCTTCCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCCGGGGCCAG  
GAGGACTACACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATGGTGACCGA  
GGTGCCCCAGAGCGAGGTGTACAGTCCGGGGCCGGACTIONTCTTCC  
AGACCAGTCGCCAGGGCTTGACAGACCGTGAACCTGAGCCAGGCTTTC  
AAGAACTTGAGGGCCTGTGGGGCGTGCAGGCCCGGTCGGGGACC  
GCGCGACGGTGTGAGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGCCTGCTGCTG  
CTGCTGGTGGCCCCCTTCACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTC  
GTACCTGGGCTACCTGATTAACTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGG  
CGCACGTGGACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCG  
CGCCCTGGGCCAGGACGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAAC  
TTTTTGCTGACCAACCGGTGCGAGAAGATCCCGCCCCAGTACGCGCT

[0921]

CAGCACCGAGGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTG  
GGCCTGTTCCCTGATGCAGGAGGGGGCCACCCCCAGCGCCGCGCTCGA  
CATGACCGCGCGCAACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGC  
CCGTTCATCAATAAACTGATGGACTACTTGCATCGGGCGGGCCGCGCAT  
GAACTCTGACTATTTACCAACGCCATCCTGAATCCCCACTGGCTCC  
CGCCGCGGGGTTCTACACGGGCGAGTACGACATGCCCGACCCCAAT  
GACGGGTTCCCTGTGGGACGATGTGGACAGCAGCGTGTTCTCCCCCG  
ACCGGGTGCTAACGAGCGCCCCCTTGTGGAAGAAGGAAGGCAGCGAC  
CGACGCCCCGTCTCGGGCGCTGTCCGGCCGCGAGGGTGCTGCCGCGGC  
GGTGCCCGAGGCCGCGCAGTCCTTTCCCGAGCTTGCCCTTCTCGCTGA  
ACAGTATCCGCAGCAGCAGCTGGGCAGGATCACGCGCCCCGCGCTT  
GCTGGGCGAAGAGGAGTACTTGAATGACTCGCTGTTGAGACCCGAG  
CGGGAGAAGAACTTCCCCAATAACGGGATAGAAAGCCTGGTGGACA  
AGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGGGACGATCC  
CCGGGCGTCGCAGGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCGCCCGTAAA  
CGCCGGTGGCACGACAGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGATGAGG  
ACTCCGCCGACGACAGCAGCGTGTTGGACTTGGGTGGGAGTGGTAA  
CCCGTTTCGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGCGCATGATGTAAGAGA  
AACCGAAAATAAATGATACTACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGC  
GTTTCGTTTCTTCTCTGTGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCG  
TACCCGGAGGGTCTCTCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGC  
GATGGCGGGCGGGCGGCGATGCAGCCCCCGCTGGAGGCTCCTTACGTGC  
CCCCGCGGTACCTGGCGCCTACGGAGGGGCGGAACAGCATTTCGTTAC  
TCGGAGCTGGCACCCCTTGTACGATACCACCCGGTTGTACCTGGTGG  
CAACAAGTCGGCGGACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCAC  
AGCAACTTCCTGACCACCGTGGTGCAGAACAAATGACTTCACCCCCAC  
GGAGGCCAGCACCCAGACCATCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGTGG  
GCCGCCAGCTGAAAACCATCATGCACACCAACATGCCCAACGTGA  
ACGAGTTCATGTACAGCAACAAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCC  
CGCAAGACCCCCAATGGGGTGACAGTGACAGAGGATTATGATGGTA  
GTCAGGATGAGCTGAAGTATGAATGGGTGGAATTTGAGCTGCCCGA  
AGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATCGACCTGATGAACAACGCCA  
TCATCGACAATTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAACGGGGTGCTGGA  
GAGCGACATCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGAACTTCAGGCTGGGC  
TGGGACCCCGTGACCGAGCTGGTCATGCCCGGGGTGTACACCAACG  
AGGCTTTCCATCCCGATATTGCTTTGCTGCCCGGCTGCGGGGTGGAC  
TTCACCGAGAGCCGCCTCAGCAACCTGCTGGGCATTTCGAAGAGGCA  
GCCCTTCAGGAAGGCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAGGGG  
GGCAACATCCCCGCGCTCCTGGATGTGACGCGCTATGAGAAAAGCA  
AGGAGGATGCAGCAGCTGAAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTC  
TACCGAGGTCAGGGGCGATAATTTTGCAAGCGCCGCAGCAGTGGA  
GCGGCCGAGGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATTACGCCGG  
TGGAGAAGGATAGCAAGAACAGGAGCTACAACGTAACCTACCGGACAA  
GATAAACACCGCCTACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACCTATGGCG  
ACCCCGAGAAGGGCGTGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCACCTCGGAC  
GTCACCTGCGGCGTGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCGACATGAT  
GCAAGACCCGGTCACCTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACC  
CGGTGGTGGGCGCCGAGCTCCTGCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTTC  
AACGAGCAGGCCGTCTACTCGCAGCAGCTGCGCGCCTTCACCTCGCT  
TACGCACGTCTTCAACCGCTTCCCCGAGAACCAGATCCTCGTCCGCC

[0922]

CGCCCGCGCCACCATTACCACCGTCAGTGAAAACGTTCTGCTCTC  
ACAGATCACGGGACCCTGCCGCTGCGCAGCAGTATCCGGGGAGTCC  
AGCGCGTGACCGTTACTGACGCCAGACGCCGCACCTGCCCTACGTC  
TACAAGGCCCTGGGCATAGTCGCGCCGCGCGTCTCTCGAGCCGCAC  
CTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGCCAGTAATAACACCGGTTGGG  
GCCTGCGCGCGCCAGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGCCAACGCTC  
CACGCAACACCCCGTGCGCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCTCCCTGGG  
GCGCCCTCAAGGGCCGCGTGCGGTGCGGCACCACCGTCGACGACGT  
GATCGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTACACCCCCGCCGCC  
GCGCCCGTCTCCACCGTGGACGCCGTCATCGACAGCGTGGTGGCCGA  
CGCGCGCCGGTACGCCCGCGCCAAGAGCCGGCGGGCGGCATCGCC  
CGGCGGCACCGGAGCACCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGC  
TGCGCAGGGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCCATGCTCAGGGCGGC  
CAGACGCGCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGACGC  
GCGGCCACGGCGGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCGC  
GGCGAGGGAACGTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCG  
CGTGCCCGTGCGCACCCGCCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTC  
GCGATGTTGATGTGTCCCAGCGGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAA  
TTCAAGGAAGAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCC  
TGCGGTGGTGAAGGAGGAAAGAAAGCCCCGAAAATCAAGCGGGTC  
AAAAAGGACAAAAAGGAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTG  
GAGTTTGTGCGGAGTTCCGCCCCCGCGGCGCGTGCAAGTGGCGCGG  
GCGGAAGGTGCAACCGGTGCTGAGACCCGGCACCAACCGTGGTCTTC  
ACGCCCGGCGAGCGCTCCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGA  
GGTGTACGGGGATGATGATATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGCGCCTG  
GGCGAGTTTGTCTACGGCAAGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAGGAAG  
AGGCGGTGTCCATCCCGCTGGACCACGGCAACCCACGCGCGAGCCTC  
AAGCCCGTGACCTTGCAGCAGGTGCTGCCGACCGCGGCGCGCGCC  
GGGGGTTCAAGCGCGAGGGCGAGGATCTGTACCCACCATGCAGCT  
GATGGTGCCCAAGCGCCAGAAGCTGGAAGACGTGCTGGAGACCATG  
AAGGTGGACCCGGACGTGCAGCCCGAGGTCAAGGTGCGGCCCATCA  
AGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGGCGTGAGACCGTGACATCAAGAT  
TCCCACGGAGCCCATGGAAACGCAGACCGAGCCCATGATCAAGCCC  
AGCACCAAGACCATGGAGGTGCAGACGGATCCCTGGATGCCATCGG  
CTCCTAGTCGAAGACCCCGGCGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCTGCTG  
ATGCCCAACTACGCGCTGCATCCTTCCATCATCCCCACGCCGGGCTA  
CCGCGGCACGCGCTTCTACCGCGGTCATACCAGCAGCCGCCGCCGCA  
AGACCACCACTCGCCGCCCGCGTCGCCGCACCGCCGCTGCAACCACC  
CCTGCCGCCCTGGTGCGGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGCACCTCT  
GACCCTGCCGCGCGCGCTACCAACCGAGCATCGCCATTTAACTT  
TCGCCTGCTTTGCAGATCAATGGCCCTCACATGCCGCTTCGCGTTCC  
CATTACGGGCTACCGAGGAAGAAAACCGCGCCGCTAGAAGGCTGGCG  
GGGAACGGGATGCGTCGCCACCACCACCGGCGGGCGGCGGCCATCA  
GCAAGCGGTTGGGGGGAGGCTTCTGCCCGCGCTGATCCCCATCATC  
GCCGCGGCGATCGGGGCGATCCCCGGCATTGCTTCCGTGGCGGTGCA  
GGCCTCTCAGCGCCACTGAGACACACTTGGAACATCTTGTAATAAA  
CCAATGGACTCTGACGCTCCTGGTCCTGTGATGTGTTTTTCGTAGACA  
GATGGAAGACATCAATTTTTTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCACGC  
GGCCGTTTCATGGGCACCTGGAGCGACATCGGCACCAGCCAACTGAA  
CGGGGGCGCCTTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAGAATT

[0923]

TCGGGTCCACGCTTAAACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCAC  
CACAGGGCAGGCGCTGAGGGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAG  
CAGAAGGTGGTCGATGGGCTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGG  
ACCTGGCCAACCAGGCCGTGCAGCGGCAGATCAACAGCCGCTGGA  
CCCGGTGCCGCCCCGCGGCTCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGAGGAG  
GAGCTGCCTCCCCTGGACAAGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGCCCCG  
ATGCGGAGGAGACGCTGCTGACGCACACGGACGAGCCGCCCCCGTA  
CGAGGAGGCGGTGAAACTGGGTCTGCCACCACGCGGCCCATCGCG  
CCCCTGCCACCAGGGGTGCTGAAACCCGAAAAGCCCGCGACCCTGG  
ACTTGCCCTCCTCCCCAGCCTTCCCGCCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCC  
TGCCGCGCGGTGGCCGTGGCCCGCGCGCGACCCGGGGGCACCGCCCG  
CCCTCATGCGAACTGGCAGAGCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGG  
GAGTGCAGAGTGTGAAGCGCCGCGCTGCTATTAAACCTACCGTAGC  
GCTTAAC TTGCTTGTCTGTGTGTGTATGTATTATGTCGCCGCCGCCG  
TGTCACCAGAAGGAGGAGTGAAGAGGCGCGTCCCGAGTTGCAAG  
ATGGCCACCCCATCGATGCTGCCCCAGTGGGCGTACATGCACATCGC  
CGGACAGGACGCTTCGGAGTACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTG  
CCCGCGCCACAGACACCTACTTCAGTCTGGGGAACAAGTTTAGGAAC  
CCCACGGTGGCGCCACGCACGATGTGACCACCGACCGCAGCCAGC  
GGCTGACGCTGCGCTTCGTGCCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTAC  
TCGTACAAAGTGCGCTACACGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCT  
GGACATGGCCAGCACCTACTTTGACATCCGCGGCGTGCTGGATCGGG  
GCCCTAGCTTCAAACCCTACTCCGGCACCGCCTACAACAGTCTGGCC  
CCCAAGGGAGCACCCAACACTTGTCAGTGGACATATAAAGCCGATG  
GTGAAACTGCCACAGAAAAAACCTATACATATGGAAATGCACCCGT  
GCAGGGCATTAACATCAGAAAAGATGGTATTCAACTTGGAAGTAC  
ACCGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAAAACCTATCAGCCTGAACC  
TCAAGTGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCACTGGTACTGATGAAA  
AGTATGGAGGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAAAATGAAGCCTTGT  
TATGGTTCTTTTGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAA  
TGTGAAAACAGGAACAGGCACTACTAAAGAATATGACATAGACATG  
GCTTTCTTTGACAACAGAAGTGCGGCTGCTGCTGGCCTAGCTCCAGA  
AATTGTTTGTATACTGAAAATGTGGATTTGGAAACTCCAGATACCC  
ATATTGTATACAAAGCAGGCACAGATGACAGCAGCTCTTCTATTAAT  
TTGGGTCAGCAAGCCATGCCAACAGACCTAACTACATTGGTTTCAG  
AGACAAC TTTATCGGGCTCATGTACTACAACAGCACTGGCAATATGG  
GGGTGCTGGCCGGTCAGGCTTCTCAGCTGAATGCTGTGGTTGACTTG  
CAAGACAGAAACACCGAGCTGTCCTACCAGCTCTTGCTTGACTCTCT  
GGGTGACAGAACCCGGTATTTCAGTATGTGGAATCAGGCGGTGGAC  
AGCTATGATCCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGGTGTGGAGGA  
TGAAC TTCCCAACTATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGAACAG  
ATACTTATCAGGGAATTAAGGCTAATGGAAGTATCAAACACATGG  
ACCAAAGATGACAGTGTCAATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGGTA  
ATCCATTGCGCATGGAAATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAAC  
TTCTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTGCCCGACTCTTACAAGTAC  
ACGCCGGCCAATGTTACCCTGCCACCAACACCAACACCTACGATTA  
CATGAACGGCCGGGTGGTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCA  
ACATCGGGGCGCGCTGGTTCGCTGGATCCCATGGACAACGTGAACCCC  
TTCAACCAACACCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCT  
GGGCAACGGGCGCTACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAAT

[0924]

TTTTCGCCATCAAGAGCCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCCTACACCTACG  
AGTGGAACCTTCCGCAAGGACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTCCCTC  
GGCAACGACCTGCGCACGGACGGGGCCTCCATCTCCTTACACGAT  
CAACCTCTACGCCACCTTCTTCCCCATGGCGCACAAACACGGCCTCCA  
CGCTCGAGGCCATGCTGCGCAACGACACCAACGACCAGTCCTTCAAC  
GACTACCTCTCGGCGGCCAACATGCTCTACCCCATCCCGGCCAACGC  
CACCAACGTGCCCATCTCCATCCCCTCGCGCAACTGGGCCGCCTTCC  
GCGGCTGGTCTTACGCGTCTCAAGACCAAGGAGACGCCCTCGCTG  
GGCTCCGGGTTCGACCCCTACTTCGTCTACTCGGGCTCCATCCCCTAC  
CTCGACGGCACCTTCTACCTCAACCACACCTTCAAGAAGGTCTCCAT  
CACCTTCGACTCCTCCGTCAGCTGGCCCGGCAACGACCGGCTCCTGA  
CGCCCAACGAGTTCGAAATCAAGCGCACCGTCGACGGCGAGGGCTA  
CAACGTGGCCCAAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTCCTGGTCCAGA  
TGCTGGCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCCCGAG  
GGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTCCGCAACTTCCAGCCCAT  
GAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAACTACAAGGACTACCAGGCC  
GTCACCTTGGCCTACCAGCACAACTCGGGCTTCGTCCGCTACCT  
CGCGCCCAACATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACCTACCCCT  
ACCCGCTCATCGGCAAGAGCGCCGTCACCAGCGTCACCCAGAAAAA  
GTTCTCTGCGACAGGGTCATGTGGCGCATCCCCTTCTCCAGCAACTT  
CATGTCCATGGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTATG  
CCAACCTCCGCCACGCGCTAGACATGAATTTTCGAAGTCGACCCCATG  
GATGAGTCCACCTTCTCTATGTTGTCTTCGAAGTCTTCGACGTCGTC  
CGAGTGCACCAGCCCCACCGCGGCGTCATCGAGGCGCTACCTGCG  
CACCCCTTCTCGGCCGGTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTG  
CAAGCCATGGCCGCGGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCA  
TCCGCGACCTGGGCTGCGGGCCCTACTTCCTGGGCACCTTCGATAAG  
CGCTTCCCGGGATTTCATGGCCCCGCACAAGCTGGCCTGCGCCATCGT  
CAACACGGCCCGGCCGCGAGACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTC  
GCCTGGAACCCGCGCTCGAACACCTGCTACCTCTTCGACCCCTTCGG  
GTTCTCGGACGAGCGCCTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACGAGG  
GCCTGCTGCGCCGCGAGCGCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACC  
CTGGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCGCTG  
CGGGCTCTTCTGCTGCATGTTCTGACCGCCTTCGTGCACTGGCCCGA  
CCGCCCATGGACAAGAACCCCAACATGAACCTTGCTGACGGGGGTG  
CCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCACCCTGCGCCG  
CAACCAGGAGGCGCTCTACCGCTTCCTCAACTCCCACTCCGCCTACT  
TTCGCTCCCACCGCGCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTTCGACCGC  
ATGAATCAAGACATGTAAACCGTGTGTGTATGTTAAATGTCTTTAAT  
AAACAGCACTTTCATGTTACACATGCATCTGAGATGATTTATTAGA  
AATCGAAAGGGTCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCCGCGGGCAGGGA  
CACGTTGCGGAACTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAACCTCGGGGATCA  
GCAGTTTGGGACGCGGGGTGTGCGGGAAGGAGTCGGTCCACAGCTT  
CCGCGTCAGTTGCAGGGCGCCAGCAGGTGCGGCGCGGAGATCTTG  
AAATCGCAGTTGGGACCCGCGTCTGCGCGCGGGAGTTGCGGTACAC  
GGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTACGCTCG  
CCAGCACCGTCGCGTCGGTGATGCTCTCCACGTCGAGGTCTCGGCG  
TTGGCCATCCCGAAGGGGGTCACTTGCAGGTCTGCCTTCCATGGT  
GGGCACGCACCCGGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATC  
AGCATCATCTGGGCCTGGTCGGCGTTCATCCCCGGGTACATGGCCTT

[0925]

CATGAAAGCCTCCAATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCT  
CGGTGAAGAAGACCCCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTTGGTGGC  
GCACCCGGCGTCTGTGCACGCAGCAGCGCGCTCGTTGTTGGCCAGCT  
GCACCACGCTGCGCCCCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCGGTCTG  
GGGTTCTCCTTCAGCGCGCGCTGCCCCTTCTCGCTCGCCACATCCATC  
TCGATCATGTGCTCCTTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACCG  
CAGCTTGCCCTCGGCCTCGGTGCACCCGTGCAGCCACAGCGCGCACC  
CGGTGCACTCCCAGTTCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGCGTGCACG  
AAGCCCTGCAGGAAGCGGCCCATCATGGTGGTTCAGGGTCTTGTGCT  
AGTGAAGGTCAGCGGAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGT  
GGCAGATGCGGCGGTACACCTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAA  
GTTGGCTTTCAGGTGCGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCATCAGCATAG  
TCATGATTTCCATACCCTTCTCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCTC  
ATAGGGTTCTTCACCATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGG  
GTCGCTCTCGTCCAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCTTCTCGGT  
GATCCGCACCCGGGGGGTAGCTGAAGCCCACGGCCGCCAGCTCCTCCT  
CGGCCTGTCTTTCGTCTCTCGCTGTCCTGGCTGACGTCTTGCAGGACCA  
CATGCTTGGTCTTGCAGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGA  
GATGTTGGAGATGGCGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCCTA  
CTATCTCTTCTCTTCTTGGTCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTC  
TCTTCGGGGGCAGAGGCGGAGGCGACGGGCTCTCGCCGCCGCGACT  
TGCGGATGGCTGGCAGAGCCCCCTTCCGCGTTCCGGGGGTGCGCTCCC  
GGCGGCGCTCTGACTGACTTCTTCCGCGGCCGGCCATTGTGTTCTCCT  
AGGGAGGAACAACAAGCATGGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCC  
ATCTGCCCCCACC GCCGACGAGAAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGC  
TTAACCGCCCCGCCGCCAGCCCCGCCACCTCCGACGCGGCCGTCCC  
AGACATGCAAGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGGCTAT  
GTGACGCCCCGCGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTGCGCTTTTCAC  
AAGAAGAGATACACCAAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAATG  
AGCAGAGTCAGGCTGGGCTCGAGCATGACGGCGACTACCTCCACCT  
GAGCGGGGGGGAGGACGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCGGCAGGCC  
ACCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCTCAG  
CGTGGAGGAGCTCAGCCGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGC  
GCGTGCCCCCAAGCGCCAGCCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCC  
GCGCCTCAACTTCTACCCGGTCTTTCGCGGTGCCCCGAGGCCCTGGCCA  
CCTACCACATCTTTTTCAAGAACCAAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGC  
GCCAACCGCACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAACCTGGGTCCCGGCGC  
CCGCCTACCTGATATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTCCCAAGATCTTCG  
AGGGTCTGGGCAGCGACGAGACTCGGGCCGCGAACGCTCTGCAAGG  
AGAAGGAGGAGAGCATGAGCACCACAGCGCCCTGGTCGAGTTGGAA  
GGCGACAACGCGCGGCTGGCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAGCTGA  
CCCATTTCGCCTACCCGGCTCTGAACCTGCCCCCAAAGTCATGAGC  
GCGGTCATGGACCAGGTGCTCATCAAGCGCGCTCGCCCATCTCCGA  
GGACGAGGGCATGCAAGACTCCGAGGAGGGCAAGCCCGTGGTCAGC  
GACGAGCAGCTGGCCCGGTGGCTGGGTCTTAATGCTAGTCCCCAGAG  
TTTGGAAGAGCGGCGCAAACTCATGATGGCCGTGGTCTTGGTGACCG  
TGGAGCTGGAGTGCCTGCGCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGACCCTG  
CGCAAGGTCGAGGAGAACCTGCACTACCTCTTCAGGCACGGGTTTCGT  
GCGCCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGACCAACCTGGTCT  
CCTACATGGGCATCTTGACGAGAACCGCCTGGGGCAGAACGTGCTG

[0926]

CACACCACCTGCGCGGGGAGGCCCGGCGCGACTACATCCGCGACT  
GCGTCTACCTCTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTG  
TGCCAGCAGTGTCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTCTGCAAGC  
TCCTGCAGAAGAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGACGAGCG  
CACCACCGCCTCGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCA  
GGCTGACGCTGCGCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCATG  
TTGCAAACTTTTCGCTCTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCC  
GCCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCCGC  
GAGTGCCCCCGCCGCTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGC  
CAACTACCTGGCCTACCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCG  
AGGGCCTGCTCGAGTGCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCAC  
CGCTCCCTGGCCTGCAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCAT  
CGGCACCTTCGAGTTGCAAGGGCCCCAGCGAAGGCGAGGGTTCAGCC  
GCCAAGGGGGGTCTGAAACTCACCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCT  
ACTTGCGCAAGTTCGTGCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGG  
TTCTACGAGGACCAATCCCATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTCCGGCCTG  
CGTCATCACCCAGGGGGCGATCCTGGCCCAATTGCAAGCCATCCAGA  
AATCCCGCCAAGAATTCTTGCTGAAAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTC  
GACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTCAACCCCGGCTTCCCCAGGATGC  
CCCGAGGAAACAAGAAGCTGAAAGTGGAGCTGCCGCCCGTGGAGGA  
TTTGAGGGAAGACTGGGAGAACAGCAGTCAGGCAGAGGAGGAGGA  
GATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTCAGGCAGAGGAGGACAGCCTG  
CAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAGGCAGAGGAGGAGGTG  
GAAGAAGCAGCCGCCGCCAGACCGTCGTCCTCGGCGGGGGAGAAAG  
CAAGCAGCACGGATACCATCTCCGCTCCGGGTCCGGGTCCCGCTCGA  
CCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGACGATTCCCGAACCCACCA  
CCCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCTGGCGGGG  
GCACAAAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGCAGGCCTGCGGGGGCAACA  
TCTCCTTCACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAACTTTC  
CCCGCAACATCTTGCAATTACTACCGTCACCTCCACAGCCCCTACTACT  
TCCAAGAAGAGGCAGCAGCAGCAGAAAAAGACCAGCAGAAAAACCA  
GCAGCTAGAAAATCCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCG  
CGGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTT  
TCCCACCCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCAGGAGCAGG  
AACTGAAAGTCAAGAACCGTTCTCTGCGCTCGCTACCCGCAGTTGT  
CTGTATCACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAGGACG  
CCGAGGCTCTCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAG  
CCCGCGCCCGCCAGTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTCACCTG  
TGCCCTTCGCCCTAGCCGCCTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGAT  
TCCCACGCCTTACATGTGGAGCTACCAGCCCCAGATGGGCCTGGCCG  
CCGGTGCCGCCAGGACTACTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCGCC  
GGGCCCGCGATGATCTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCACCGAA  
ACCAGATACTCCTAGAACAGTCAGCGCTCACCGCCACGCCCCGCAAT  
CACCTCAATCCGCGTAATTGGCCCGCCGCCCTGGTGTACCAGGAAAT  
TCCCCAGCCCACGACCGTACTACTTCCGCGAGACGCCCAGGCCGAAG  
TCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGGCGGGCGGCGCCACCCTG  
TGTCGTCACCGCCCCGCTCAGGGTATAAAGCGGCTGGTGATCCGGGG  
CAGAGGCACACAGCTCAACGACGAGGTGGTGAGCTCTTCGCTGGGT  
CTGCGACCTGACGGAGTCTTCCAACCTCGCCGGATCGGGGAGATCTTC  
CTTCACGCCTCGTCAGGCCGTCCTGACTTTGGAGAGTTCGTCTCTCGCA

[0927]

GCCCCGCTCGGGTGGCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGAGGAGTTCA  
CTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCACTACC  
CGGACGAGTTCATCCCGAACTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGTGGAC  
GGCTACGATTGAACTAATCACCCCTTATCCAGTGAAATAAAGATC  
ATATTGATGATGATTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTTGATTTGA  
AATAAAGATACAATCATATTGATGATTTGAGTTTAACAAAAAATAA  
AGAATCACTTACTTGAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCT  
GCCAACACCACTTCACTCCCTCTTCCCAGCTCTGGTACTGCAGGCCC  
CGGCGGGCTGCAAACCTCCTCCACACGCTGAAGGGGATGTCAAATTC  
CTCCTGTCCCTCAATCTTCATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAG  
CGCGTCCGGGTGGATGATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGC  
AGACAACGCACCGACCGTGCCCTTCATCAACCCCCCTTCGTCTCTTC  
AGATGGATTCCAAGAGAAGCCCTGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGG  
CCGACCCCGTCACCACCAAGAACGGGGAAATCACCTCAAGCTGGG  
AGAGGGGGTGGACCTCGATTCTCGGGAAAACATCTCCAACACG  
GCCACCAAGGCCGCGCCCTCTCAGTTTTTCCAACAACACCATTTC  
CCTTAACATGGATCACCCCTTTTACACTAAAGATGGAAAATTATCCT  
TACAAGTTTCTCCACCATTAATATACTGAGAACAAGCATTCTAAAC  
ACACTAGCTTTAGGTTTTGGATCAGGTTTAGGACTCCGTGGCTCTGCC  
TTGGCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTTGATACTGATGGAAA  
CATAAAGCTTACCTTAGACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGGAGATG  
CAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAAATTTGAAGA  
TGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTAGAGTTTGAAGC  
AGTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAA  
ACTTGGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTG  
GTAACAAAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCC  
ATCACCAAAGTGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGCAAACTAACA  
CTTTGCTTGACTAAATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCACT  
CTTAGTTGTAGGAAGTGGAAACCTAAACCCATTACTGGCACCGTAA  
GCAGTGCTCAGGTGTTTCTACGTTTTGATGCAAACGGTGTTCTTTTAA  
CAGAACATTCTACACTAAAAAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGA  
TAGCATAGATGGCACTCCATATACCAATGCTGTAGGATTCATGCCCA  
ATTTAAAAGCTTATCCAAAGTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAAT  
ATAGTAGGGCAAGTATACATGAATGGAGATGTTTCAAAACCTATGCT  
TCTCACTATAACCCCTCAATGGTACTGATGACAGCAACAGTACATATT  
CAATGTCAATTTTCATACACCTGGACTAATGGAAGCTATGTTGGAGCA  
ACATTTGGGGCTAACTCTTATACCTTCTCATACATCGCCCAAGAATG  
AACACTGTATCCCACCCTGCATGCCAACCCCTCCCACCCCACTCTGTG  
GAACAAACTCTGAAACACAAAATAAAATAAAGTTCAAGTGTTTTATT  
GATTCAACAGTTTTACAGGATTCGAGCAGTTATTTTCTCCACCCTC  
CCAGGACATGGAATACACCACCCTCTCCCCCGCACAGCCTTGAACA  
TCTGAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTTGGTCTCCACGTTCCACA  
CAGTTTCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACC  
CTCCGGGCACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTCAACAGCTGAGGAT  
TGTCTCGGTGGTGGGATCACGGTTATCTGGAAGAAGCAGAAGAG  
CGGCGGTGGGAATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTGGTGTG  
GCATCAGGCCCCGCAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAAGCTG  
CTGCTCAGGGGGTCCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCCAC  
GGCCCTCAGCATCAGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCATGC  
GGATCTCGCTCAGGTGCTGTCAGTACGTGCAACACAGAACCACCAG

[0928]

GTTGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAAACTCATCG  
CGGGAAGGATGCTACCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAA  
ATCAAGTGGTGGCCCCCTCCAGAACACGCTGCCCACGTACATGATCTC  
CTTGGGCATGTGGCGGTTACCCACCTCCCGGTACCACATCACCCCTCT  
GGTTGAACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGGAACCACAGGGCCAG  
CACCGCCCCGCCCGCCATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAA  
TGGCAATGGAGGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCT  
GAACAAGTCTATGTTGGCACAGCACAGGCATATGCTCATGCATCTCT  
TCAGCACTCTCAACTCCTCGGGGGTCAAAACCATATCCCAGGGCACG  
GGGAACTCTTGACAGGACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCCTC  
GCACAGAACTTACATTGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAG  
CACCGGGTGATCCTCCACCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCAC  
AGCGTGGTAAGGGGGCCGGCCGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGC  
TGATCGTGTTGCGGACCGTGTCATGATGCAGTTGCTTTCGGACATTTT  
CGTACTTGCTGTAGCAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGC  
CGGCGGCGGTCTCGGCGCTTGGAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAAA  
CAGCCACTCTCTCAGACCGTGCAGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGA  
TGAAGATCCCATCATGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACCGTG  
GAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGATGCAATTTTGTGGGTTTCGGT  
GACGGCGGGGGAGGGAAGAACAGGAAGAACCATGATTAACTTTAA  
TCCAAACGGTCTCGGAGTACTTCAAAATGAAGATCGCGGAGATGGC  
ACCTCTCGCCCCCGCTGTGTTGGTGGAAAATAACAGCCAGGTCAAAG  
GTGATACGGTTCTCGAGATGTTCCACGGTGGCTTCCAGCAAAGCCTC  
CACGCGCACATCCAGAAACAAGACAATAGCGAAAGCGGGAGGGTTC  
TCTAATTCCTCAATCATCATGTTACACTCCTGCACCATCCCCAGATAA  
TTTTCAATTTTCCAGCCTTGAATGATTTCGAAGTAGTTCTGAGGTAAA  
TCCAAGCCAGCCATGATAAAGAGCTCGCGCAGAGCGCCCTCCACCG  
GCATTCTTAAGCACACCCCTCATAATTCCAAGATATTCTGCTCCTGGT  
CACCTGCAGCAGATTGACAAGCGGAATATCAAAATCTCTGCCGCGAT  
CCCTGAGCTCCTCCCTCAGCAATAACTGTAAGTACTCTTTCATATCCT  
CTCCGAAATTTTATGCCATAGGACCACCAGGAATAAGATTAGGGCAA  
GCCACAGTACAGATAAACCAGAGTCTTCCCCAGTGAGCATTGCCAA  
ATGCAAGACTGCTATAAGCATGCTGGCTAGACCCGGTGATATCTTCC  
AGATAACTGGACAGAAAATCGCCAGGCAATTTTTAAGAAAATCAA  
CAAAAGAAAAATCCTCCAGGTGGACGTTTAGAGCCTCGGGAACAAC  
GATGAAGTAAATGCAAGCGGTGCGTTCAGCATGGTTAGTTAGCTGA  
TCTGTAGAAAAAACAAAAATGAACATTAAACCATGCTAGCCTGGCG  
AACAGGTGGGTAAATCGTTCTCTCCAGCACCAGGCAGGCCACGGGG  
TCTCCGGCGCGACCCCTCGTAAAAATTGTGCTATGATTGAAAACCAT  
CACAGAGAGACGTTCCCGGTGGCCGGCGTGAATGATTGACAAGAT  
GAATACACCCCCGGAACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAAAGCGCC  
CGAGGAAGCAATAAGGCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCAGCAA  
AGCGATGCCATGCGGATGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAAA  
ATGTAATTACTCCCCCTCTGCACAGGCAGCAAAGCCCCCGATCCCTC  
CAGGTACACATACAAAGCCTCAGCGTCCATAGCTTACCGAGCAGCA  
GCACACAACAGGCGCAAGAGTCAGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTG  
TCCACCCGCTCTCTGCTCAATATATAGCCCAGATCTACACTGACGTA  
AAGGCCAAAGTCTAAAAATACCCGCCAAATAATCACACACGCCCCAG  
CACACGCCCAGAAACCGGTGACACACTCAAAAAAATACGCGCACTT  
CCTCAAACGCCCAAAACTGCCGTCATTTCCGGGTCCCACGCTACGT

[0929]

CATCAAAACACGACTTTCAAATTCCGTCGACCGTTAAAAACGTCACC  
CGCCCCGCCCCTAACGGTCGCCCCGTCTCTCAGCCAATCAGCGCCCCG  
CATCCCCAAATTCAAACACCTCATTTGCATATTAACGCGCACAAAAA  
GTTTGAGGTATATTATTGATGATG

**ChAdV68-E4d-CMT-TSNA (SEQ ID NO:69)**

CATCATCAATAATATACCTCAAACTTTTGTGCGCGTTAATATGCAA  
ATGAGGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGG  
ATGAGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTTGATGACGTGG  
TTGCGAGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTC  
AAACGAGGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTC  
TCTGACAGGAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGG  
GCCATTTTCGCGCGAAAACTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAA  
TTTCGCGTTTATGGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGAC  
TTTGACCGATTACGTGGGGGTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAAT  
TTCCGCGTACGGTGTCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCT  
GATCGCCAGGGTATTTAAACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGGCCACTC  
TTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGAT  
CTACACTTTGAAAGTAGGGATAACAGGGTAATGACATTGATTATTGA  
CTAGTTGTTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCA  
TATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCCGCTGG  
CTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATG  
TTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTG  
GAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCA  
TATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCG  
CCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCTACTTGGC  
AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTT  
GGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTT  
CCAAGTCTCCACCCCATTTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCA  
AAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCTGTAATAACCCCGCCCCGTTGA  
CGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAG  
AGCTCTCCCTATCAGTGATAGAGATCTCCCTATCAGTGATAGAGATC  
GTCGACGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCCTGGAACGCCATC  
CACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACAGCGATCGCGCCACCATGGC  
TGGCATGACCGAGTACAAGCTAGTCGTTGTGGGAGCTGGAGATGTG  
GGCAAATCTGCTCTGACCATTCAGCTGATTCAGGGCACAGATCTGGA  
TCACCAGGAGAAGTGTCTGAGCAGGCTGTACGACCACATGCCAGAA  
GGATTAACCCCTCTTATGGGAGTGAGCTCTTCTTCTGCTCTGGCCAGA  
CTGGGACTGCCTATGGATAAGCTGAACAAGATCACAGCTCCTGCCTC  
TCAGAACTGAGACAGCTGCAGAAGATGGAGACCCCTGAACTGCTG  
CCTTGTGGATATCTGGTGGAGGAGAATACCACAATCAGCGTGACCGT  
GAAAGGCCTGGAAGCCCAGAAACAAGATCAAAGGCTGTACCGGCTCT  
GTGAATATGACACTGCAGAGAGCTTCTGCCGCCCTAAGACAGGAG  
GAGGAGGAGAAGCTGCTGCCTACAATAATACATTAGTGGCCAGACA  
TGTGCCCCAGATCCCTAAGCCTGACAGCCTGGTTGGCCTGAGCGATG  
AATTAGGAAAAAGAGACACATTTGCCGAGAGCCTGATCCGGAGAAT  
GGCCTCTGCCGGCTACCTGTTCTTGATATCATCACATATGTTGTGTT  
TGCCGTGACCTTCGTGCTGGGAGTTCTGGGCGGCCTGAATACCGAGA  
CCAATGAAAAAGCTCTTGAAGCCGTGTTTGGCAAGTACGGCAGAATC  
GTGGAGGTGCTGGGCGGCAGATCTTGTGAAGAATTAACAGCTGTGTT  
ACCACCTCCTCAGCTGCTTGGCAGACGGTTCAACTTCTTCAGCTACA

[0930]

GCTACGTTGCTGCTGGCTCTTCTGGCAACAACCTACGACCTGATGGCC  
CAGCCTATTACACCTGGACCTGATACAACACCTCTGCCTGTGACCGA  
TACATCTTCTGTGTCTACCGGACACGCCACATCTCTGCCAGTGACAG  
ATGCTGGACTGAGAGTGACAGAGTCTAAAGGACACAGCGATTCTTG  
GCACCTGAGCCTGGATACAGCCATCAGGGTGAATACCCCTAAGCTGG  
TTTCTGAAGTGGAAGAGCTGAACAAGAGCATCACCGCCCTGAGGGA  
GAAGTTACTGCAGATGGTGGGAAGCCGATAGACCTGGAAACCTGTTTA  
TTGGAGGCCTGAACACCGAGACCAATGAGGACTCTCCCGTGAAGGA  
TGAAGTGGTGGTGAACGATCAATGGGGCCAGAATTGTAGCTGCCATC  
ATGGAGGCTACGAGTTCCCTGATCTGCACAGGACAATCGTGTCTGAG  
TGCGATGTGTATCTGACCTACATGCTGAGACAGGCTGCTCTGCAGCT  
GTTCTTCGACCTGTATCACAGCATCCCTAGCAGCTTTTCTCCTCTGGT  
TCTGAGCTGTCTGGTGCAGCCTCTGGAAGATGTGGAAGTGATGGAGA  
AGGATGGCACAACCTTTAGCTGTGAGGTGAGCCACGATGAGGTGCCT  
CGGACATATGGACCCGTGTTTATGTGTCTGGGAGGACTGCTGACCAT  
GGTGGCTGGAGCTGTTTGGCTGACAGTTGGACCCGGACCAGGCGCCA  
AATTTGTTGCTGCTTGGACACTGAAAGCTGCTGCTGGGCCCCGGACCA  
GGCCAGTACATCAAGGCCAACTCTAAGTTTATCGGCATCACCGAATT  
GGGACCTGGACCCGGCTAGTAGTGAGTTTAAACTCCCATTTAAATGT  
GAGGGTTAATGCTTCGAGCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTT  
GGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTG  
AAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATA  
AACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTGAG  
GGGGAGATGTGGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAAT  
GTGGTAAAATAACTATAACGGTCCTAAGGTAGCGAGTGAGTAGTGTT  
CTGGGGCGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAATAACTGAAATCT  
GTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCGGCTCCTTTG  
AGGGAGGGGTATTCAGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTCCCTCCTGG  
GCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGGCCGGC  
CCGTGCAGCCCGCGAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAGC  
TCTTCGTCGTTGGACGCAGCTGCCGCCGCAGCTGCTGCATCTGCCGC  
CAGCGCCGTGCGCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACT  
CTGGTGGCCAACCTCGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGA  
GGAGAAGCTGTTGCTGCTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGC  
GCCTGGGCGAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGAC  
GCGGGCCGCGGTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAA  
TAAATAAACGGAGACGGTTGTTGATTTTAACACAGAGTCTGAATCTT  
TATTTGATTTTTCGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATC  
ATTGAGCACCCGGTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTT  
GGATGTTGAGGTACATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTA  
GCTCCATTGCAGGGCCTCGTGCTCGGGGGTGGTGTGTGTAATCACCC  
AGTCATAGCAGGGGCGCAGGGCATGGTGTGTCACAATATCTTTGAGG  
AGGAGACTGATGGCCACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTACAAA  
TCTGTTGAGCTGGGAGGGATGCATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATC  
TTGGCCTGGATCTTGAGATTGGCGATGTTACCGCCCAGATCCCGCCT  
GGGGTTCATGTTGTGCAGGACCACCAGCACGGTGTATCCGGTGCAT  
TGGGGAATTTATCATGCAACTTGAAGGGAAGGCGTGAAAGAATTT  
GGCGACGCCTTTGTGCCCCGCCAGGTTTTCCATGCACTCATCCATGAT  
GATGGCGATGGGCCCCGTGGGCGGCGGCCTGGGCAAAGACGTTTCGG  
GGGTCCGACACATCATAGTTGTGGTCCTGGGTGAGGTCATCATAGGC

[0931]

CATTTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTGCCGGACTGGGGGACAAAG  
GTTCCCTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCCTCACAGATCTGCATCTCC  
CAGGCTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCGGGGCGA  
TAAAGAACACGGTTTCCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGCGGAAAG  
CAAGTTCCGGAGCAGCTGGGACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCCGTAG  
ATGACCCCGATGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGC  
TGCCGTCTCCCGGAGGAGGGGGGCCACCTCGTTCATCATCTCGCGC  
ACGTGCATGTTCTCGCGCACCAGTTCGCCAGGAGGCGCTCTCCCC  
CAGGGATAGGAGCTCCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTTCAGCGGCTTG  
AGTCCGTCGGCCATGGGCATTTTGGAGAGGGTTTGTGCAAGAGTTC  
CAGGCGGTCCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTCGATCCA  
GCAGACCTCCTCGTTTCGCGGGTTGGGACGGCTGCGGGAGTAGGGCA  
CCAGACGATGGGCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCTTCCAGGGT  
CGCAGCGTCCGCGTCAGGGTGGTCTCCGTACGGTGAAGGGGTGCGC  
GCCGGGCTGGGCGCTTGCGAGGGTGCGCTTCAGGCTCATCCGGCTGG  
TCGAAAACCGCTCCCGATCGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAGGTAGCAA  
TTGACCATGAGTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTGGC  
GCGGAGCTTACCTTTGGAAGTCTGCCCGCAGGCGGGACAGAGGAGG  
GACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGGGCGAGGAAGACGGACTCGGGGG  
CGTAGGCGTCCGCGCCGAGTGGGCGCAGACGGTCTCGCACTCCACG  
AGCCAGGTGAGGTCCGGGCTGGTCCGGGTCAAAAACCAAGTTTCCCGC  
CGTCTTTTTGATGCGTTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCC  
CCGCTGGGTGACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCCGTAGACCGACTTTA  
TGGGCCGGTCTCGAGCGGTGTGCCGCGTCTCCTCGTAGAGGAAC  
CCCGCCCACTCCGAGACGAAAGCCCGGTCCAGGCCAGCACGAAGG  
AGGCCACGTGGGACGGGTAGCGGTCTGTGCCACCAGCGGGTCCAC  
CTTTTCCAGGGTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGA  
AGGTGATTGGCTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGCC  
GGGGGGGTATAAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTTC  
CGGATCGCTGTCCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCT  
CGAAGGCGGGCATGACCTCGGCACTCAGGTTGTCAGTTTCTAGAAAC  
GAGGAGGATTTGATATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTCAAGA  
GCCCCCTCGTCCATCTGGTCAGAAAAGACGATCTTTTTGTTGTGAGCT  
TGGTGGCGAAGGAGCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTTGGCGAT  
GGAGCGCATGGTCTGGTTTTTTTCTTGTGCGGCGCGTCTTGGCGGC  
GATGTTGAGCTGCACGTA CTGCGCGCCACGCACTTCCATTGCGGGA  
AGACGGTGGTCAGCTCGTCCGGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGA  
TTATGCAGGGTGATGAGGTCCACACTGGTGGCCACCTCGCCGCGCAG  
GGGCTCATTAGTCCAGCAGAGGCGTCCGCCCTTGCGCGAGCAGAAG  
GGGGGCAGGGGGTCCAGCATGACCTCGTCCGGGGGGTTCGGCATCGA  
TGGTGAAGATGCCGGGCAGGAGGTCCGGGTCAAAGTAGCTGATGGA  
AGTGGCCAGATCGTCCAGGGCAGCTTGCCATTGCGGCACGGCCAGCG  
CGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTGCCCCAGGGCATGGGATGGGT  
AAGCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTCGTAGACGTAGAGGGGC  
TCCTCGAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGGAT  
GCTGGCGCGCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGC  
CCCGGGCCCAAGTTGGTGCAGCTGGGCTTTTCGGCGCGGTAGACGAT  
CTGGCGGAAAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCCTTTGG  
AAGATGTTGAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGCGGATGA  
AGTGGGCGTAGGAGTCTTGCAGCTTGGCGACGAGCTCGGCGGTGACT

[0932]

AGGACGTCCAGAGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCCTGGATGATGTCATA  
CTTGAGCTGTCCCTTTTGTTCACAGCTCGCGGTTGAGAAGGAACTC  
TTCGCGGTCTTCCAGTACTCTTCGAGGGGGAACCCGTCTGATCTG  
CACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAACTGGTTGACGGCCTTGTAGGCG  
CAGCAGCCCTTCTCCACGGGGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCTTGCG  
CAGGGAGGTGTGCGTGAGGGCGAAAGTGTCCCTGACCATGACCTTG  
AGGAACTGGTGCTTGAAGTCGATATCGTCGCAGCCCCCTGCTCCCA  
GAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTGTAGGCGGGGTTGGGCAAAGCG  
AAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCCGCGCGGGGCATAAAGT  
TGCGAGTGATGCGGAAAGGTTGGGGCACCTCGGCCCCGTTGTTGATG  
ACCTGGGCGGCGAGCACGATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTTGTGGCC  
CACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGGC  
AGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTCGCTGAGCCC  
GTGCTGCTCGAGCGCCAGTCGGCGAGATGGGGGTTGGCGCGGAGG  
AAGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGCAGACGGTCCC  
GGTACTGACGGAAGTCTGCCCCAGGGCCATTTTTTCGGGGGTGACG  
CAGTAGAAGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCTG  
GAGGGCGAGATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTCGTCCCCGGAG  
AGTTTCATGACCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACC  
CCATCCAGGTGTAGGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTCG  
GTGCGAGGATGCGAGCCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCCACC  
AATTGGAGGAATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACG  
GCGCGCCGAACACTCGTGCTTGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCT  
CGCAACGCTGCACGGGATGCACGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTT  
CCTTTGACGAGGAATTTCAAGTGGGAAGTGGAGTCGTGGCGCCTGCAT  
CTCGTGCTGTACTACGTGCTGGTGGTCGGCCTGGCCCTCTTCTGCCTC  
GATGGTGGTCATGCTGACGAGCCCGCGCGGGAGGCAGGTCCAGACC  
TCGGCGCGAGCGGGTCGGAGAGCGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCG  
GAGCTGTCCAGGGTCTGAGACGCTGCGGAGTCAGGTCAAGTGGGCA  
GCGGCGGCGCGCGGTTGACTTGCAGGAGTTTTTCCAGGGCGCGCGGG  
AGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGCGCCATTGGTGGCGACGTC  
GATGGCTTGCAGGGTCCCGTGCCCCCTGGGGTGTGACCACCGTCCCCC  
GTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGGCGACGGGGGCGGTGCCTCTTCCATG  
GTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGGCAGGGGCGGCTC  
GGGGCCCCGAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGTCGGCGCCGCGCGCG  
GGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCCGAGAAGACTGGCGTGAGCGACGA  
CGCGACGGTTGACGTCCTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAAGGCCACG  
GGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTTCGACAGAATCAATCTC  
GGTATCGTTGACGGCGGCCTGCCGCAGGATCTCTTGACGTCGCCCCG  
AGTTGTCCTGGTAGGCGATCTCGGTCATGAACTGCTCGATCTCCTCCT  
CTTGAAGGTCTCCGCGGCCGGCGCGCTCCACGGTGGCCGCGAGGTCTG  
TTGGAGATGCGGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCATGCCCGCCTC  
GTTCCAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGATCGCGGGCG  
CGCATGACCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAGA  
CCGCGTAGTTGCAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGCC  
GATGTGCTCGGTGACGAAGAAATACATGATCCAGCGGCGGAGCGGC  
ATCTCGCTGACGTCGCCCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTA  
AAAGTCCACGGCGAAGTTGAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACG  
GTCAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCG  
CACCTCGCGCTCGAAGGCCCCCGGGAGTTCTTCCACTTCTTCTTCTC

[0933]

CTCTCCACTAACATCTCTTCTACTTCTCCTCCTCAGGCGGCAGTGGTGG  
CGGGGGAGGGGGCCTGCGTCCCGCGCGGCACGGGCAGACGGTCCG  
ATGAAGCGCTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGCATGGTCTCGGT  
GACGGCGCGCCCGTCTCGCGGGGGCCGACGCGTGAAGACGCCGCCG  
CGCATCTCCAGGTGGCCGGGGGGGTCCCCGTTGGGCAGGGAGAGGG  
CGCTGACGATGCATCTTATCAATTGCCCGTAGGGACTCCGCGCAAG  
GACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGGATCTGAAAACCGCTGAACGA  
AGGCTTCGAGCCAGTCGCAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACGGTTTCT  
TCTGGCGGGTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGT  
GATGAAGTTGAAATAGGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGG  
AGCACCAGGTCTTTGGGCCCGGCTTGCTGGATGCGCAGACGGTCGGC  
CATGCCCCAGGCGTGGTCTGACACCTGGCCAGGTCTTGTAGTAGT  
CCTGCATGAGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCCTCGCCCGCGCGGCCG  
TGCATGCGCGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCA  
GGTCGGCGACGACGCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGT  
GAGGGTGGTCTGGAAGTCATCAAAGTCGACGAAGCGGTGGTAGGCT  
CCGGTGTTGATGGTGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGACCAGTTGAC  
GGTCTGGTGGCCCCGACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGT  
AGGCGCGCGTGTCTGAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAAGTA  
CTGGTAGCCGATGAGGAAGTGCGGCGGCGGCTGGCGGTAGAGCGGC  
CATCGCTCGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCCTCGAGCATGG  
TGCGGTGGTAGCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCG  
GCGGTGGTGGAGGCGCGCGGGAACCTCGCGGACGCGGTTCCAGATGT  
TGCGCAGCGGCAGGAAGTAGTTCATGGTGGGCACGGTCTGGCCCCGT  
GAGGCGCGCGCAGTCGTGGATGCTCTATACGGGCAAAAACGAAAGC  
GGTCAGCGGCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGAACGGGTTG  
GGCTGCGCGTGTACCCCGGTTCTGAATCTCGAATCAGGCTGGAGCCGC  
AGCTAACGTGGTATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCCTGCACCAA  
CCCTCCAGGATACGGAGGCGGGTCGTTTTTGCAACTTTTTTTTGGAGG  
CCGGATGAGACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCCGACCGCGATGGCTC  
GCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGC  
CCCGGTTTCGAGGCCGGCCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCT  
GCCCCGTGTTTTCCAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTAC  
GGAGCGAGCCCCCTTTTTGTTTTGTTTTGTTTTTGCCAGATGCATCCCG  
TACTGCGGCAGATGCGCCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCCC  
CCTCCACAGCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGC  
CACGACCGCCGCGGCCCGCGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGAT  
CACCAGCTGGCCTTGGAAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCGCCTGGGGG  
CGTCGTCGCCGAGCGGCACCCGCGCGTGCAGATGAAAAGGGACGC  
TCGCGAGGCCTACGTGCCCAAGCAGAACCTGTTCAGAGACAGGAGC  
GGCGAGGAGCCCGAGGAGATGCGCGCGGCCCCGGTTCCACGCGGGGC  
GGGAGCTGCGGCGCGGCCTGGACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGACGA  
GGATTTTCGAGGCGGACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGCG  
CACGTGGCCGCGGCCAACCTGGTCACGGCGTACGAGCAGACCGTGA  
AGGAGGAGAGCAACTTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCAC  
CCTGATCGCGCGCGAGGAGGTGACCCTGGGCCTGATGCACCTGTGGG  
ACCTGCTGGAGGCCATCGTGCAGAACCCACCAGCAAGCCGCTGAC  
GGCGCAGCTGTTCTGGTGGTGCAGCATAGTCGGGACAACGAAGCG  
TTCAGGGAGGCGCTGCTGAATATCACCGAGCCCGAGGGCCGCTGGCT  
CCTGGACCTGGTGAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCG

[0934]

GGCTGCCGCTGTCCGAGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTG  
AGTTTGGGCAAGTACTACGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCGTACGT  
GCCCATAGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGGTTTTACATGCGCATG  
ACCTGAAAGTGCTGACCCTGAGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCA  
ACGACAGGATGCACCGTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCT  
GAGCGACCAGGAGCTGATGCATAGTCTGCAGCGGGCCCTGACCGGG  
GCCGGGACCGAGGGGGAGAGCTACTTTGACATGGGCGCGGACCTGC  
ACTGGCAGCCCAGCCGCGGGCCTTGAGAGCGGCGGCAGGACCCTA  
CGTAGAAGAGGTGGACGATGAGGTGGACGAGGAGGGCGAGTACCTG  
GAAGACTGATGGCGCGACCGTATTTTTGCTAGATGCAACAACAACAG  
CCACCTCCTGATCCCGCGATGCGGGCGGCGCTGCAGAGCCAGCCGTC  
CGGCATTAACCTCTCGGACGATTGGACCCAGGCCATGCAACGCATCA  
TGGCGCTGACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGACAGCAGCCCCA  
GGCCAACCGGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGCCCTCGCGCT  
CCAACCCACGCACGAGAAGGTCCTGGCCATCGTGAACGCGCTGGT  
GGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAGGCCGGCCTGGTGTACAAC  
GCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCCGCTACAACAGCACCAACGTGCAGA  
CCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGCCCA  
GCGCGAGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGCGC  
TGAACGCCTTCCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCCGGGGCCAG  
GAGGACTACACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATGGTGACCGA  
GGTGCCCCAGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGGCCGGACTIONTCTTCC  
AGACCAGTCGCCAGGGCTTGCGAGACCGTGAACCTGAGCCAGGCTTTC  
AAGAACTTGCAAGGGCCTGTGGGGCGTGCAGGCCCCCGGTCGGGGACC  
GCGCGACGGTGTGAGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGCCTGCTGCTG  
CTGCTGGTGGCCCCCTTACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTC  
GTACCTGGGCTACCTGATTAACTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGG  
CGCACGTGGACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCG  
CGCCCTGGGCCAGGACGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAAC  
TTTTTGCTGACCAACCGGTCGCAGAAGATCCCGCCCCAGTACGCGCT  
CAGCACCGAGGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTG  
GGCCTGTTCTGATGCAGGAGGGGGCCACCCCGAGCGCCGCGCTCGA  
CATGACCGCGCGCAACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGC  
CCGTTTCAATAAACTGATGGACTACTTGCATCGGGCGGCGCCCAT  
GAACTCTGACTATTTACCAACGCCATCCTGAATCCCCACTGGCTCC  
CGCCGCCGGGGTTCTACACGGGCGAGTACGACATGCCCGACCCCAAT  
GACGGGTTCCTGTGGGACGATGTGGACAGCAGCGTGTCTCCCCCG  
ACCGGGTGCTAACGAGCGCCCCCTTGTGGAAGAAGGAAGGCAGCGAC  
CGACGCCCGTCTCGGCGCTGTCCGGCCGCGAGGGTGCTGCCGCGGC  
GGTGCCCGAGGCCCGCCAGTCCTTTCCCGAGCTTGCCCTTCTCGCTGA  
ACAGTATCCGCAGCAGCGAGCTGGGCAGGATCACGCGCCCCGCGCTT  
GCTGGGCGAAGAGGAGTACTTGAATGACTCGCTGTTGAGACCCGAG  
CGGGAGAAGAACTTCCCAATAACGGGATAGAAAGCCTGGTGGACA  
AGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGGGACGATCC  
CCGGGCGTCGAGGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCGCCCGTAAA  
CGCCGGTGGCACGACAGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGATGAGG  
ACTCCGCCGACGACAGCAGCGTGTGGACTTGGGTGGGAGTGGTAA  
CCCGTTGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGCGCATGATGTAAGAGA  
AACCGAAAATAAATGATACTACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGC  
GTTCTGTTCTTCTGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCG

[0935]

TACCCGGAGGGTCCTCCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGC  
GATGGCGGGCGGCGGCGATGCAGCCCCGCTGGAGGCTCCTTACGTGC  
CCCCGCGGTACCTGGCGCCTACGGAGGGGCGGAACAGCATTTCGTTAC  
TCGGAGCTGGCACCCTTGTACGATACCACCCGGTTGTACCTGGTGGA  
CAACAAGTCGGCGGACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCAC  
AGCAACTTCCTGACCACCGTGGTGCAGAACAAATGACTTCACCCCCAC  
GGAGGCCAGCACCCAGACCATCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGTGG  
GGCGGCCAGCTGAAAACCATCATGCACACCAACATGCCCAACGTGA  
ACGAGTTCATGTACAGCAACAAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCC  
CGCAAGACCCCCAATGGGGTGACAGTGACAGAGGATTATGATGGTA  
GTCAGGATGAGCTGAAGTATGAATGGGTGGAATTTGAGCTGCCCCGA  
AGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATCGACCTGATGAACAACGCCA  
TCATCGACAATTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAACGGGGTGCTGGA  
GAGCGACATCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGAACTTCAGGCTGGGC  
TGGGACCCCCGTGACCGAGCTGGTCATGCCCGGGGTGTACACCAACG  
AGGCTTTCCATCCCGATATTGCTTTGCTGCCCGGGTGCAGGGGTGGAC  
TTCACCGAGAGCCGCTCAGCAACCTGCTGGGCATTTCGCAAGAGGCA  
GCCCTTCCAGGAAGGCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAGGGG  
GGCAACATCCCCGCGCTCCTGGATGTGACGCCTATGAGAAAAGCA  
AGGAGGATGCAGCAGCTGAAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTC  
TACCGAGGTCAGGGGCGATAATTTTGCAAGCGCCGCAGCAGTGCCA  
GCGGCCGAGGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATTTCAGCCGG  
TGGAGAAGGATAGCAAGAACAGGAGCTACAACGTAACCTACCGGACAA  
GATAAACACCGCCTACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACCTATGGCG  
ACCCCGAGAAGGGCGTGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCACCTCGGAC  
GTCACCTGCGGCGTGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCGACATGAT  
GCAAGACCCGGTCACCTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACC  
CGGTGGTGGGCGCCGAGCTCCTGCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTTC  
AACGAGCAGGCCGTCTACTCGCAGCAGCTGCGCGCCTTCACCTCGCT  
TACGCACGTCTTCAACCGCTTCCCCGAGAACCAGATCCTCGTCCGCC  
CGCCCGCGCCACCATTACCACCGTCAGTGAAAACGTTCTGCTCTC  
ACAGATCACGGGACCTGCGCTGCGCAGCAGTATCCGGGGAGTCC  
AGCGCGTGACCGTTACTGACGCCAGACGCCGCACCTGCCCTACGTC  
TACAAGGCCCTGGGCATAGTCGCGCCGCGCGTCTCTCGAGCCGCAC  
CTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGCCAGTAATAACACCGGTTGGG  
GCCTGCGCGCGCCAGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGCCAACGCTC  
CACGCAACACCCCGTGCGCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCTCCCTGGG  
GCGCCCTCAAGGGCCGCGTGCGGTGCGGCACCAACCGTCGACGACGT  
GATCGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTACACCCCGCCGCC  
GCGCCCGTCTCCACCGTGGACGCCGTCATCGACAGCGTGGTGGCCGA  
CGCGCGCCGGTACGCCCGCGCCAAGAGCCGCGCGCGCGCATCGCC  
CGGCGGCACCGGAGCACCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGC  
TGCGCAGGGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCCATGCTCAGGGCGGC  
CAGACGCGCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGACGC  
GCGGCCACGGCGGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCGC  
GGCGAGGGAACGTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCG  
CGTGCCCGTGCGCACCCGCCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTC  
GCGATGTTGATGTGTCCCAGCGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAAA  
TTCAAGGAAGAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCC  
TGCGGTGGTGAAGGAGGAAAGAAAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTC

[0936]

AAAAAGGACAAAAAGGAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTG  
GAGTTTGTGCGCGAGTTTCGCCCCCGGCGGCGCGTGCAGTGGCGCGG  
GCGGAAGGTGCAACCGGTGCTGAGACCCGGCACCACCGTGGTCTTC  
ACGCCCCGGCGAGCGCTCCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGA  
GGTGTACGGGGATGATGATATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGCGCCTG  
GGCGAGTTTGCTTACGGCAAGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAGGAAG  
AGGCGGTGTCCATCCCGCTGGACCACGGCAACCCACGCCGAGCCTC  
AAGCCCGTGACCTTGACGACAGGTGCTGCCGACCGCGGCGCCGCGCC  
GGGGGTTCAAGCGCGAGGGCGAGGATCTGTACCCACCATGCAGCT  
GATGGTGCCCAAGCGCCAGAAGCTGGAAGACGTGCTGGAGACCATG  
AAGGTGGACCCGGACGTGCAGCCCGAGGTCAAGGTGCGGCCCATCA  
AGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGGCGTGCAGACCGTGGACATCAAGAT  
TCCCACGGAGCCCATGGAAACGCAGACCGAGCCCATGATCAAGCCC  
AGCACCAGCACCATGGAGGTGCAGACGGATCCCTGGATGCCATCGG  
CTCCTAGTCGAAGACCCCGGCGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCTGCTG  
ATGCCCAACTACGCGCTGCATCCTTCCATCATCCCCACGCCGGGCTA  
CCGCGGCACGCGCTTCTACCGCGGTTCATACCAGCAGCCGCCCGCCGA  
AGACCACCACTCGCCGCCGCCGTCGCCGCACCGCCGCTGCAACCACC  
CCTGCCGCCCTGGTGCGGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGCACCTCT  
GACCCTGCCGCGCGCGCTACCACCCGAGCATCGCCATTTAACTT  
TCGCCTGCTTTGCAGATCAATGGCCCTCACATGCCGCCTTCGCGTTCC  
CATTACGGGCTACCGAGGAAGAAAACCGCGCCGTAGAAGGCTGGCG  
GGGAACGGGATGCGTCGCCACCACCACCGGCGGCGGCGCGCCATCA  
GCAAGCGGTTGGGGGGAGGCTTCTGCCCCGCGCTGATCCCCATCATC  
GCCGCGGCGATCGGGGCGATCCCCGGCATTGCTTCCGTGGCGGTGCA  
GGCCTCTCAGCGCCACTGAGACACACTTGGAACATCTTGTAATAAA  
CCAATGGACTCTGACGCTCCTGGTCTGTGATGTGTTTTCGTAGACA  
GATGGAAGACATCAATTTTTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCACGC  
GGCCGTTTCATGGGCACCTGGAGCGACATCGGCACCAGCCAACTGAA  
CGGGGGCGCCTTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAGAATT  
TCGGGTCCACGCTTAAACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCAC  
CACAGGGCAGGCGCTGAGGGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAG  
CAGAAGGTGGTCGATGGGCTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGG  
ACCTGGCCAACCAGGCCGTGCAGCGGCAGATCAACAGCCGCCTGGA  
CCCGGTGCCGCCCGCCGGCTCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGAGGAG  
GAGCTGCCTCCCCTGGACAAGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGCCCCG  
ATGCGGAGGAGACGCTGCTGACGCACACGGACGAGCCGCCCCCGTA  
CGAGGAGGCGGTGAACTGGGTCTGCCACCACGCGGCCCATCGCG  
CCCCTGGCCACCGGGGTGCTGAAACCCGAAAAGCCCGCGACCCTGG  
ACTTGCTCCTCCCCAGCCTTCCCGCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCC  
TGCCGCGGTGGCCGTGGCCCGCGCGCGACCCGGGGGCACCGCCCCG  
CCCTCATGCGAACTGGCAGAGCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGG  
GAGTGCAGAGTGTGAAGCGCCGCCGCTGCTATTAAACCTACCGTAGC  
GCTTAACCTTGCTTGTCTGTGTGTGTATGTATTATGTGCGCCGCCGCCG  
TGTCCACCAGAAGGAGGAGTGAAGAGGCGCGTCGCCGAGTTGCAAG  
ATGGCCACCCCATCGATGCTGCCCCAGTGGGCGTACATGCACATCGC  
CGGACAGGACGCTTCGGAGTACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTG  
CCCGCGCCACAGACACCTACTTCAGTCTGGGGAACAAGTTTAGGAAC  
CCCACGGTGGCGCCACGCACGATGTGACCACCGACCGCAGCCAGC  
GGCTGACGCTGCGCTTCGTGCCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTAC

[0937]

TCGTACAAAGTGCGCTACACGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCT  
GGACATGGCCAGCACCTACTTTGACATCCGCGGCGTGCTGGATCGGG  
GCCCTAGCTTCAAACCCTACTCCGGCACCGCCTACAACAGTCTGGCC  
CCCAAGGGAGCACCCAACACTTGTCAAGTGGACATATAAAGCCGATG  
GTGAAACTGCCACAGAAAAAACCTATACATATGGAAATGCACCCGT  
GCAGGGCATTAAACATCACAAAAGATGGTATTCAACTTGGAACTGAC  
ACCGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAAAACCTATCAGCCTGAACC  
TCAAGTGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCACTGGTACTGATGAAA  
AGTATGGAGGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAAAATGAAGCCTTGT  
TATGGTTCTTTTGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAA  
TGTGAAAACAGGAACAGGCACTACTAAAGAATATGACATAGACATG  
GCTTTCTTTGACAACAGAAGTGCGGCTGCTGCTGGCCTAGCTCCAGA  
AATTGTTTGTATACTGAAAATGTGGATTTGGAACTCCAGATACCC  
ATATTGTATACAAAGCAGGCACAGATGACAGCAGCTCTTCTATTAAT  
TTGGGTCAGCAAGCCATGCCCAACAGACCTAACTACATTGGTTTCAG  
AGACAACCTTATCGGGCTCATGTACTACAACAGCACTGGCAATATGG  
GGGTGCTGGCCGGTCAGGCTTCTCAGCTGAATGCTGTGGTTGACTTG  
CAAGACAGAAACACCGAGCTGTCTACCAGCTCTTGCTTGACTCTCT  
GGGTGACAGAACCCGGTATTTCAAGTATGTGGAATCAGGCGGTGGAC  
AGCTATGATCCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGGTGTGGAGGA  
TGAACCTCCCAACTATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGAACAG  
ATACTTATCAGGGAATTAAGGCTAATGGAACCTGATCAAACCATG  
ACCAAAGATGACAGTGTCAATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGGTA  
ATCCATTCGCCATGGAAATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAAC  
TTCTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTGCCCCGACTCTTACAAGTAC  
ACGCCGGCCAATGTTACCCTGCCACCAACACCAACACCTACGATTA  
CATGAACGGCCGGGTGGTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCA  
ACATCGGGGCGCGCTGGTTCGCTGGATCCCATGGACAACGTGAACCCC  
TTCAACCACCACCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCT  
GGGCAACGGGCGCTACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAAT  
TTTTCGCCATCAAGAGCCTCCTGCTCCTGCCCCGGGTCCTACACCTACG  
AGTGGAACCTCCGCAAGGACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTCCCTC  
GGCAACGACCTGCGCACGGACGGGGCCTCCATCTCCTTACCAGCAT  
CAACCTCTACGCCACCTTCTTCCCCATGGCGCACAAACACGGCCTCCA  
CGCTCGAGGCCATGCTGCGCAACGACACCAACGACCAGTCTTCAAC  
GACTACCTCTCGGCGGGCAACATGCTCTACCCCATCCCGGCCAACGC  
CACCAACGTGCCCATCTCCATCCCTCGCGCAACTGGGCGGCCTTCC  
GCGGCTGGTTCCTTACGCGTCTCAAGACCAAGGAGACGCCCTCGCTG  
GGCTCCGGGTTTCGACCCCTACTTCGTCTACTCGGGCTCCATCCCCTAC  
CTCGACGGCACCTTCTACCTCAACCACACCTTCAAGAAGGTCTCCAT  
CACCTTCGACTCCTCCGTCAGCTGGCCCCGGCAACGACCGGCTCCTGA  
CGCCCAACGAGTTCGAAATCAAGCGCACCGTCGACGGCGAGGGCTA  
CAACGTGGCCCAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTCTTGGTCCAGA  
TGCTGGCCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCCCGAG  
GGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTCGCAACTTCCAGCCCAT  
GAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAACTACAAGGACTACCAGGCC  
GTCACCTTGGCCTACCAGCACAACTCGGGCTTCGTTCGGCTACCT  
CGCGCCCAACATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACCTACCCCT  
ACCCGCTCATCGGCAAGAGCGCCGTCACCAGCGTCACCCAGAAAAA  
GTTCTCTGCGACAGGGTCATGTGGCGCATCCCTTCTCCAGCAACTT

[0938]

CATGTCCATGGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTATG  
CCAACTCCGCCCACGCGCTAGACATGAATTTCTGAAGTCGACCCCATG  
GATGAGTCCACCTTCTCTATGTTGTCTTCGAAGTCTTCGACGTCGTC  
CGAGTGCACCAGCCCCACCGCGGCGTCATCGAGGCCGTCTACCTGCG  
CACCCCTTCTCGGCCGTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTG  
CAAGCCATGGCCGCGGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCA  
TCCGCGACCTGGGCTGCGGGCCCTACTTCCTGGGCACCTTCGATAAG  
CGCTTCCCGGGATTTCATGGCCCCGCACAAGCTGGCCTGCGCCATCGT  
CAACACGGCCGCGCGAGACCGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTC  
GCCTGGAACCCGCGCTCGAACACCTGCTACCTCTTCGACCCCTTCGG  
GTTCTCGGACGAGCGCCTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACGAGG  
GCCTGCTGCGCCGACGCGCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACC  
CTGGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCGCGCTG  
CGGGCTCTTCTGCTGCATGTTCTGCACGCTTCGTGCACTGGCCCGA  
CCGCCCCATGGACAAGAACCCACCATGAACTTGCTGACGGGGGTG  
CCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCACCCTGCGCCG  
CAACCAGGAGGCGCTCTACCGCTTCCTCAACTCCCCTCCGCTACT  
TTCGCTCCCACCGCGCGCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTTCGACCGC  
ATGAATCAAGACATGTAAACCGTGTGTGTATGTTAAATGTCTTTAAT  
AAACAGCACTTTCATGTTACACATGCATCTGAGATGATTTATTTAGA  
AATCGAAAGGGTCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCGCGGGCAGGGA  
CACGTTGCGGAACTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAACCTCGGGGATCA  
GCAGTTTGGGCAGCGGGGTGTGCGGGAAGGAGTCGGTCCACAGCTT  
CCGCGTCAGTTGCAGGGCGCCCAGCAGGTCGGGCGCGGAGATCTTG  
AAATCGCAGTTGGGACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGTTGCGGTACAC  
GGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTCACGCTCG  
CCAGCACCGTCGCGTCGGTGATGCTCTCCACGTCGAGGTCTTCGGCG  
TTGGCCATCCCGAAGGGGGTCATCTTCAGGTCTGCCTTCCCATGGT  
GGGCACGCACCCGGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATC  
AGCATCATCTGGGCCTGGTCGGCGTTCATCCCCGGGTACATGGCCTT  
CATGAAAGCCTCCAATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCT  
CGGTGAAGAAGACCCCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTTGGTGGC  
GCACCCGGCGTCGTGCACGCAGCAGCGCGCGTCGTTGTTGGCCAGCT  
GCACCACGCTGCGCCCCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCGGTG  
GGGTTCTCCTTCAGCGCGCGCTGCCCGTTCTCGCTCGCCACATCCATC  
TCGATCATGTGCTCCTTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACCG  
CAGCTTGCCCTCGGCCTCGGTGCACCCGTGCAGCCACAGCGCGCACC  
CGGTGCACTCCCAGTTCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGCGTGCACG  
AAGCCCTGCAGGAAGCGGCCCATCATGGTGGTCAGGGTCTTGTGCT  
AGTGAAGGTCAGCGGAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGT  
GGCAGATGCGGCGGTACACCTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAA  
GTTGGCTTTCAGGTGCGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCATCAGCATAG  
TCATGATTTCCATAACCCTTCTCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCTC  
ATAGGGTTCTTACCATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGG  
GTCGCTCTCGTCCAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCTTCTCGGT  
GATCCGCACCGGGGGGTAGCTGAAGCCCACGGCCGCCAGCTCCTCCT  
CGGCCTGTCTTTCGTCTCTCGCTGTCTGGCTGACGTCCTGCAGGACCA  
CATGCTTGGTCTTTCGGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGA  
GATGTTGGAGATGGCGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCCTA  
CTATCTCTTCTCTTCTTGGTCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTC

[0939]

TCTTCGGGGGCAGAGGCGGAGGCGACGGGCTCTCGCCGCCGCGACT  
TGCGCGATGGCTGGCAGAGCCCCCTTCCGCGTTTCGGGGGTGCGCTCCC  
GGCGGCGCTCTGACTGACTTCCTCCGCGGCCGGCCATTGTGTTCTCCT  
AGGGAGGAACAACAAGCATGGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCC  
ATCTGCCCCCACC GCCGACGAGAAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGC  
TTAACCGCCCCGCCGCCAGCCCCGCCACCTCCGACGCGGCCGTCCC  
AGACATGCAAGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGGCTAT  
GTGACGCCCCGCGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTGCGCTTTTCAC  
AAGAAGAGATACACCAAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAATG  
AGCAGAGTCAGGCTGGGCTCGAGCATGACGGCGACTACCTCCACCT  
GAGCGGGGGGGAGGACGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCCGGCAGGCC  
ACCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCTCAG  
CGTGGAGGAGCTCAGCCGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGC  
GCGTGCCCCCAAGCGCCAGCCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCC  
GCGCCTCAACTTCTACCCGGTCTTCGCGGTGCCCGAGGCCCTGGCCA  
CCTACCACATCTTTTTCAAGAACCAAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGC  
GCCAACCGCACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAACCTGGGTCCCCGGCGC  
CCGCCTACCTGATATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTCCCAAGATCTTCG  
AGGGTCTGGGCAGCGACGAGACTCGGGCCGCGAACGCTCTGCAAGG  
AGAAGGAGGAGAGCATGAGCACCACAGCGCCCTGGTCGAGTTGGAA  
GGCGACAACGCGCGGCTGGCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAGCTGA  
CCCATTTTCGCCTACCCGGCTCTGAACCTGCCCCCAAGTTCATGAGC  
GCGGTCATGGACCAGGTGCTCATCAAGCGCGCGTCGCCCATCTCCGA  
GGACGAGGGCATGCAAGACTCCGAGGAGGGCAAGCCCGTGGTCAGC  
GACGAGCAGCTGGCCCCGGTGGCTGGGTCTTAATGCTAGTCCCCAGAG  
TTTGGAAGAGCGGCGCAAACCTCATGATGGCCGTGGTCTTGGTGACCG  
TGGAGCTGGAGTGCCTGCGCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGACCCTG  
CGCAAGGTCGAGGAGAACCTGCACTACCTCTTCAGGCACGGGTTCGT  
GCGCCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGACCAACCTGGTCT  
CCTACATGGGCATCTTGCACGAGAACCGCCTGGGGCAGAACGTGCTG  
CACACCACCTGCGCGGGGAGGCCCGCGCGACTACATCCGCGACT  
GCGTCTACCTCTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTG  
TGGCAGCAGTGTCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTCTGCAAGC  
TCCTGCAGAAGAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGACGAGCG  
CACCACCGCCTCGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCA  
GGCTGACGCTGCGCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCATG  
TTGCAAAACTTTTCGCTCTTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCC  
GCCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCCGC  
GAGTGCCCCCGCCGCTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGC  
CAACTACCTGGCCTACCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCG  
AGGGCCTGCTCGAGTGCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCAC  
CGCTCCCTGGCCTGCAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCAT  
CGGCACCTTCGAGTTGCAAGGGCCCAGCGAAGGCGAGGGTTACGCC  
GCCAAGGGGGGTCTGAAACTCACCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCT  
ACTTGCGCAAGTTCGTGCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGG  
TTCTACGAGGACCAATCCCATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTCGGCCTG  
CGTCATCACCCAGGGGGCGATCCTGGCCCAATTGCAAGCCATCCAGA  
AATCCCGCCAAGAATTCTTGCTGAAAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTC  
GACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTCAACCCCGGCTTCCCCCAGGATGC  
CCCGAGGAAACAAGAAGCTGAAAGTGGAGCTGCCGCCCGTGGAGGA

[0940]

TTTGGAGGAAGACTGGGAGAACAGCAGTCAGGCAGAGGAGGAGGA  
GATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTCAGGCAGAGGAGGACAGCCTG  
CAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAGGCAGAGGAGGAGGTG  
GAAGAAGCAGCCGCCGCCAGACCGTCTGTCCTCGGCGGGGGAGAAAG  
CAAGCAGCACGGATACCATCTCCGCTCCGGGTGCGGGTCCCGCTCGA  
CCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGACGATTCCCGAACCCACCA  
CCCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCTGGCGGGG  
GCACAAAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGAGGCCTGCGGGGGCAACA  
TCTCCTTCACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAAC TTTC  
CCCGCAACATCTTGCAATTACTACCGTCACCTCCACAGCCCCTACTACT  
TCCAAGAAGAGGCAGCAGCAGCAGAAAAAGACCAGCAGAAAACCA  
GCAGCTAGAAAATCCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCG  
CGGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTT  
TCCCACCCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCAGGAGCAGG  
AACTGAAAGTCAAGAACCGTTCTCTGCGCTCGCTCACCCGCAGTTGT  
CTGTATCACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAGGACG  
CCGAGGCTCTCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAG  
CCCGCGCCCGCCCAGTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTCACCTG  
TGCCCTTCGCCCTAGCCGCCTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGAT  
TCCCACGCCTTACATGTGGAGCTACCAGCCCAGATGGGCCTGGCCG  
CCGGTGCCGCCCAGGACTACTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCGCC  
GGGCCCCGCGATGATCTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCACCGAA  
ACCAGATACTCCTAGAACAGTCAGCGCTCACCGCCACGCCCCGCAAT  
CACCTCAATCCGCGTAATTGGCCCCGCCGCCCTGGTGTACCAGGAAAT  
TCCCCAGCCCACGACCGTACTACTTCCGCGAGACGCCCAGGCCGAAG  
TCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGGCGGGCGGCGCCACCCTG  
TGTCGTCACCGCCCCGCTCAGGGTATAAAGCGGCTGGTGTATCCGGGG  
CAGAGGCACACAGCTCAACGACGAGGTGGTGAGCTCTTCGCTGGGT  
CTGCGACCTGACGGAGTCTTCCAACCTCGCCGGATCGGGGAGATCTTC  
CTTCACGCCTCGTCAGGCCGTCTGACTTTGGAGAGTTCTGTCCTCGCA  
GCCCCGCTCGGGTGGCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGAGGAGTTCA  
CTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCACTACC  
CGGACGAGTTCATCCCGAACTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGTGGAC  
GGCTACGATTGAACTAATACCCCTTATCCAGTGAAATAAAGATC  
ATATTGATGATGATTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTTGATTTGA  
AATAAAGATACAATCATATTGATGATTTGAGTTTAACAAAAAATAA  
AGAATCACTTACTTGAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCT  
GCCAACACCACTTCACTCCCTCTTCCAGCTCTGGTACTGCAGGCCC  
CGGCGGGCTGCAAACCTCCTCCACACGCTGAAGGGGATGTCAAATTC  
CTCCTGTCCCTCAATCTTCATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAG  
CGCGTCCGGGTGGATGATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGC  
AGACAACGCACCGACCGTGCCCTTCATCAACCCCCCTTCGTCTCTTC  
AGATGGATTCCAAGAGAAGCCCCTGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGG  
CCGACCCCGTCACCACCAAGAACGGGGAAATCACCTCAAGCTGGG  
AGAGGGGGTGGACCTCGATTCTCGGGAAAACATCTCCAACACG  
GCCACCAAGGCCGCCGCCCTCTCAGTTTTTCCAACAACACCATTTT  
CCTTAACATGGATCACCCCTTTTACACTAAAGATGGAAAATTATCCT  
TACAAGTTTCTCCACCATTAATATACTGAGAACAAGCATTTCTAAAC  
ACACTAGCTTTAGGTTTTGGATCAGGTTTAGGACTCCGTGGCTCTGCC  
TTGGCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTTGATACTGATGGAAA

[0941]

CATAAAGCTTACCTTAGACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGGAGATG  
CAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAAATTTGAAGA  
TGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTAGAGTTTGGAAGC  
AGTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAA  
ACTTGGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTG  
GTAACAAAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCC  
ATCACCAAACGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGCAAAACTAACA  
CTTTGCTTGACTAAATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCAGT  
CTTAGTTGTAGGAAGTGGAACCTAAACCCCACTTACTGGCACCCTAA  
GCAGTGCTCAGGTGTTTCTACGTTTTGATGCAAACGGTGTTCTTTTAA  
CAGAACATTCTACACTAAAAAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGA  
TAGCATAGATGGCACTCCATATACCAATGCTGTAGGATTCATGCCCA  
ATTTAAAAGCTTATCCAAAGTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAAT  
ATAGTAGGGCAAGTATACATGAATGGAGATGTTTCAAACCTATGCT  
TCTCACTATAACCCCTCAATGGTACTGATGACAGCAACAGTACATATT  
CAATGTCAATTTTCATACACCTGGACTAATGGAAGCTATGTTGGAGCA  
ACATTTGGGGCTAACTCTTATACCTTCTCATAACATCGCCCAAGAATG  
AACACTGTATCCCACCCTGCATGCCAACCCCTTCCCACCCCACTCTGTG  
GAACAAACTCTGAAACACAAAATAAAATAAAGTTCAAGTGTTTTATT  
GATTCAACAGTTTTACAGGATTCGAGCAGTTATTTTTCCTCCACCCTC  
CCAGGACATGGAATACACCACCCTCTCCCCCGCACAGCCTTGAACA  
TCTGAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTTGGTCTCCACGTTCCACA  
CAGTTTCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACC  
CTCCGGGCACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTCAACAGCTGAGGAT  
TGTCCTCGGTGGTCGGGATCACGGTTATCTGGAAGAAGCAGAAGAG  
CGGCGGTGGGAATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTGGTGTC  
GCATCAGGCCCCGCAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAAGCTG  
CTGCTCAGGGGGTCCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCCAC  
GGCCCTCAGCATCAGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCCATGC  
GGATCTCGCTCAGGTGCTGTCAGTACGTGCAACACAGAACCACCAG  
GTTGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAAACTCATCG  
CGGGAAGGATGCTACCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAA  
ATCAAGTGGTGCCCCCTCCAGAACACGCTGCCACGTACATGATCTC  
CTTGGGCATGTGGCGGTTACACACCTCCCGGTACCACATCACCCCTCT  
GGTTGAACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGGAACCACAGGGCCAG  
CACCGCCCCGCCCGCCATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAA  
TGGCAATGGAGGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCT  
GAACAAGTCTATGTTGGCACAGCACAGGCATATGCTCATGCATCTCT  
TCAGCACTCTCAACTCCTCGGGGGTCAAACCATATCCCAGGGCACG  
GGGAACCTTTGCAGGACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCCTC  
GCACAGAACTTACATTGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAG  
CACCGGGTGATCCTCCACCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCAC  
AGCGTGGTAAAGGGGGCCGGCCGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGC  
TGATCGTGTTCCGACCGTGTCATGATGCAGTTGCTTTCGGACATTTT  
CGTACTTGCTGTAGCAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGC  
CGGCGGCGGTCTCGGCGCTTGGAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAAA  
CAGCCACTCTCTCAGACCGTGCAGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGA  
TGAAGATCCCATCATGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACCGTG  
GAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGATGCAATTTTGTGGGTTTCGGT  
GACGGCGAGCCTCGGGAACAACGATGAAGTAAATGCAAGCGGTGCG

[0942]

```

TTCCAGCATGGTTAGTTAGCTGATCTGTAGAAAAACAAAAATGAAC
ATTAAACCATGCTAGCCTGGCGAACAGGTGGGTAAATCGTTCTCTCC
AGCACCAGGCAGGCCACGGGGTCTCCGGCGCGACCTCGTAAAAAT
TGTCGCTATGATTGAAAACCATCACAGAGAGACGTTCCCGGTGGCCG
GCGTGAATGATTGACAAGATGAATACACCCCCGGAACATTGGCGTC
CGCGAGTGAAAAAAGCGCCCGAGGAAGCAATAAGGCACTACAATG
CTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCGGATGAAGCACAA
AATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAATTACTCCCCTCCTGCACAGGC
AGCAAAGCCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAAGCCTCAGCGTC
CATAGCTTACCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCAAGAGTCAGAGA
AAGGCTGAGCTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCTCAATATATAGC
CCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAAAATACCCGCCA
AATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAAACCGGTGACACACT
CAAAAAAATACGCGCACTTCCTCAAACGCCCAAACTGCCGTCATTT
CCGGGTTCACGCTACGTCATCAAAACACGACTTTCAAATTCCGTC
GACCGTTAAAAACGTCACCCGCCCGCCCTAACGGTCGCCCGTCTC
TCAGCCAATCAGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAACACCTCATTTGC
ATATTAACGCGCACAAAAGTTTGAGGTATATTATTGATGATG

```

[0943] XXIII. TET<sub>r</sub>调控盒表达系统中的免疫原性

[0944] 在正常CMV启动子 (ChAdV-MAG) 或TET<sub>o</sub>调控启动子 (TET-ChAdV-MAG) 的控制下, 用  $1 \times 10^{10}$  VP的表达模型抗原盒的ChAdV68疫苗对Balb/c小鼠实施免疫。疫苗接种后12天收集脾脏并制成单细胞悬浮液。使用ICS测量CD8T细胞中的抗原特异性IFN- $\gamma$ 产生。如图48和表43所示, 当用从TET<sub>o</sub>调控启动子表达的抗原盒对小鼠实施免疫时, 体内功效相同或更好。因此, 受调控的ChAd载体在体内诱发对疫苗靶标的CD8+免疫应答方面同样有效, 并且可能更有效。

[0945] 如上文更详细描述, 还用ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (“ChAdV 68-CMV-MAG;” SEQ ID NO:2) 或ChAdV68-E4d-CMT-MAG (SEQ ID NO:71) 对恒河猴实施免疫, 其中每个组也施用抗CTLA4抗体 (伊匹单抗)。在用6种不同恒河猴Mamu-A\*01I类表位刺激后, 通过ELISpot分析T细胞反应的IFN- $\gamma$ 产生。如图42B和图42C所示, 并且在表41B (ChAdV68-CMV-MAG) 和表41C (ChAdV68-E4d-CMT-MAG) 中进行定量, 用以在E4缺失的载体背景中的“CMT”反应区为特征的构建体进行免疫展现至少等效的免疫应答, 在CMT-E4缺失载体中应答增加有积极趋势。

[0946] 表43-ChAdV68-MAG和ChAdV68-Teto-MAG免疫小鼠中的%CD8+反应

[0947]

| ChAdV68-MAG 1e10 VP | 小鼠# | %CD8+ | ChAdV68-TET <sub>o</sub> -MAG 1e10 VP | 小鼠# | %CD8+ |
|---------------------|-----|-------|---------------------------------------|-----|-------|
|                     | 1   | 9.35  |                                       | 1   | 17.58 |
|                     | 2   | 9.31  |                                       | 2   | 16.88 |
|                     | 3   | 17.60 |                                       | 3   | 18.93 |
|                     | 4   | 10.08 |                                       | 4   | 9.59  |
|                     | 5   | 6.06  |                                       | 5   | 24    |
|                     | 6   | 8.15  |                                       | 6   | 16.28 |
|                     | 7   | 10.08 |                                       | 7   | 18.92 |
|                     | 8   | 9.87  |                                       | 8   | 22.24 |
| 中值                  |     | 9.61  | 中值                                    |     | 18.25 |

[0948] XXIV. 患者群体的选择

[0949] 一种或多种抗原用于使用本文描述的经修饰的腺病毒、例如E4修饰的腺病毒来配制疫苗组合物。将疫苗施用至患者,例如以治疗癌症。在某些情况下,例如使用伴随诊断或常用的癌症基因组NGS测定来选择患者,例如FoundationOne、FoundationOne CDx、Guardant360、Guardant OMNI或MSK IMPACT。示例性的患者选择标准如下所述。

[0950] 患者选择

[0951] 通过考虑肿瘤基因表达、体细胞突变状态和患者HLA类型来进行共享新抗原疫苗接种的患者选择。具体来说,如果满足以下条件,则患者视为符合疫苗疗法:

[0952] (a) 患者携带预测或已知呈递疫苗中包含的表位的HLA等位基因,并且患者肿瘤表达具有表位序列的基因,或

[0953] (b) 患者携带预测或已知呈递疫苗中包含的表位的HLA等位基因,并且患者肿瘤携带引起表位序列的突变,或

[0954] (c) 与(b)相同,但还要求患者肿瘤表达具有高于特定阈值(例如1TPM或10TPM)的突变的基因,或

[0955] (d) 与(b)相同,但还要求患者肿瘤表达高于特定阈值的突变(例如,在RNA水平下观察到至少1个突变读数)

[0956] (e) 与(b)相同,但还要求(c)和(d)中的附加标准

[0957] (f) 以上任何一项,但还任选地要求在肿瘤中未检测到呈递HLA等位基因的丧失

[0958] 通过任何已建立的方法(包括RNASeq、微阵列、PCR、Nanostring、ISH、质谱法或IHC)在RNA或蛋白质水平上测量基因表达。基因表达阳性的阈值通过数种方法确定,包括:(1) HLA等位基因在各种基因表达水平下预测表位呈递的概率,(2) 如通过质谱法测量的基因表达与HLA表位呈递的相关性,和/或(3) 以不同水平表达基因的患者获得疫苗接种的临床益处。进一步扩大患者选择范围,以要求多于1个表位的阳性,例如,疫苗中包含至少2个、3个、4个或5个表位。

[0959] 体细胞突变状态可通过任何已建立的方法进行评估,包括外显子组测序(NGSDNASeq)、靶向外显子组测序(基因小组)、转录组测序(RNASeq)、Sanger测序、基于PCR的基因分型测定(例如Taqman或液滴数字PCR)、基于质谱的方法(例如,通过Sequenom),或本领域技术人员已知的任何其他方法。

[0960] 使用所描述的任何方法,例如通过质谱法,鉴定另外的新共享新抗原。将这些新近鉴定的共享新抗原并入本文所述的疫苗盒中。

[0961] 先前已验证的新抗原另外验证为由其他HLA等位基因呈递,并且告知针对疫苗盒的新抗原选择和/或扩大潜在的可治疗群体。

[0962] 包含新型新抗原能够扩宽可处理的肿瘤类型(例如EGFR突变的NSCLC)或包含具有新肿瘤类型的患者。

[0963] 某些序列

[0964] 本文所提及的载体、盒和抗体在下文描述并通过SEQ ID NO提及。

全长 ChAdVC68 序列“ChAdV68.5WTnt”(SEQ ID NO:1); 具有在五个位置被取代的相应 ATCC VR-594 核苷酸的 AC\_000011.1 序列; 位置 6 的 W = A 或 T

[0965]

```
CCATCWTCAATAATATACCTCAAACCTTTTTGTGCGCGTTAATATGCAAA
TGAGGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGGATG
AGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTTGATGACGTGGTTGCG
AGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTCAAACGA
GGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTCTCTGACAG
GAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGGGGCCATTTTCG
CGGAAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAATTTTCGCGTTTAT
GGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGACTTTGACCGATTAC
GTGGGGGTTTTCGATTACCGTGTTTTTTCACCTAAATTTCCGCGTACGGTGT
CAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCTGATCGCCAGGGTATTTA
AACCTGCGCTCTCCAGTCAAGAGGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGAAG
AGTTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGATCTACACTTTGAAAGATGAGG
CACCTGAGAGACCTGCCCCGATGAGAAAAATCATCATCGCTTCCGGGAAC
GAGATTCTGGAACCTGGTGGTAAATGCCATGATGGGCGACGACCCTCCG
GAGCCCCCACCCCATTTGAGACACCTTCGCTGCACGATTTGTATGATC
TGGAGGTGGATGTGCCCCGAGGACGATCCCAATGAGGAGGCGGTAAATG
ATTTTTTTAGCGATGCCGCGCTGCTAGCTGCCGAGGAGGCTTCGAGCTC
TAGCTCAGACAGCGACTCTTCACTGCATACCCCTAGACCCGGCAGAGGT
GAGAAAAAGATCCCCGAGCTTAAAGGGGAAGAGATGGACTTGCGCTGC
TATGAGGAATGCTTGCCCCGAGCGATGATGAGGACGAGCAGGCGATC
CAGAACGCAGCGAGCCAGGGAGTGCAAGCCGCCAGCGAGAGCTTTGCG
CTGGACTGCCCGCCTCTGCCCGGACACGGCTGTAAGTCTTGTGAATTTT
ATCGCATGAATACTGGAGATAAAGCTGTGTTGTGTGCACTTTGCTATAT
GAGAGCTTACAACCATTTGTGTTTACAGTAAGTGTGATTAAGTTGAACCT
TAGAGGGAGGCAGAGAGCAGGGTGACTGGGCGATGACTGGTTTATTTA
TGTATATATGTTCTTTATATAGGTCCCGTCTCTGACGCAGATGATGAGA
CCCCCACTACAAAGTCCACTTCGTCACCCCCAGAAATTGGCACATCTCC
ACCTGAGAATATTGTTAGACCAGTTCTGTAGAGCCACTGGGAGGAGA
GCAGCTGTGGAATGTTTGGATGACTTGCTACAGGGTGGGGTTGAACCTT
TGGACTTGTGTACCCGGAACGCCCCAGGCACTAAGTGCCACACATGTG
TGTTTACTTGAGGTGATGTCAGTATTTATAGGGTGTGGAGTGCAATAAA
AAATGTGTTGACTTTAAGTGCGTGTTTATGACTCAGGGGTGGGGACTG
TGAGTATATAAGCAGGTGCAGACCTGTGTGGTTAGCTCAGAGCGGCAT
GGAGATTTGGACGGTCTTGGAAGACTTTTACAAGACTAGACAGCTGCTA
GAGAACGCCTCGAACGGAGTCTCTTACCTGTGGAGATTCTGCTTCGGTG
GCGACCTAGCTAGGCTAGTCTACAGGGCCAAACAGGATTATAGTGAAC
AATTTGAGGTATTTTGAGAGAGTGTTCTGGTCTTTTGGACGCTCTTAAC
TTGGGCCATCAGTCTCACTTTAACCAGAGGATTTTCGAGAGCCCTTGATT
TACTACTCCTGGCAGAACCACTGCAGCAGTAGCCTTTTTTGCTTTTATT
CTTGACAAATGGAGTCAAGAAACCCATTTTCAGCAGGGATTACCAGCTG
```

[0966]

GATTTCTTAGCAGTAGCTTTGTGGAGAACATGGAAGTGCCAGCGCCTGA  
ATGCAATCTCCGGCTACTTGCCGGTACAGCCGCTAGACACTCTGAGGAT  
CCTGAATCTCCAGGAGAGTCCCAGGGCACGCCAACGTCGCCAGCAGCA  
GCAGCAGGAGGAGGATCAAGAAGAGAACCCGAGAGCCCGCCTGGACC  
CTCCGGCGGAGGAGGAGGAGTAGCTGACCTGTTTCTGAACTGCGCCG  
GGTGCTGACTAGGTCTTCGAGTGGTCGGGAGAGGGGGATTAAGCGGGA  
GAGGCATGATGAGACTAATCACAGAACTGAACTGACTGTGGGTCTGAT  
GAGTCGCAAGCGCCCAGAAACAGTGTGGTGGCATGAGGTGCAGTCGAC  
TGGCACAGATGAGGTGTCTGGTGATGCATGAGAGGTTTTCTCTAGAACA  
GTCAAGACTTGTTGGTTAGAGCCTGAGGATGATTGGGAGGTAGCCATCA  
GGAATTATGCCAAGCTGGCTCTGAGGCCAGACAAGAAGTACAAGATTA  
CTAAGCTGATAAATATCAGAAATGCCTGCTACATCTCAGGGAATGGGG  
CTGAAGTGGAGATCTGTCTCCAGGAAAGGGTGGCTTTCAGATGCTGCAT  
GATGAATATGTACCCGGGAGTGGTGGGCATGGATGGGGTTACCTTTATG  
AACATGAGGTTTCAGGGGAGATGGGTATAATGGCACGGTCTTTATGGCC  
AATACCAAGCTGACAGTCCATGGCTGCTCCTTCTTTGGGTTTAATAACA  
CCTGCATCGAGGCCTGGGGTCAGGTCTGGTGTGAGGGGCTGCAGTTTTTC  
AGCCAACTGGATGGGGGTCTGTTGGCAGGACCAAGAGTATGCTGTCCGT  
GAAGAAATGCTTGTGTTGAGAGGTGCCACCTGGGGGTGATGAGCGAGGG  
CGAAGCCAGAATCCGCCACTGCGCCTCTACCGAGACGGGCTGCTTTGTG  
CTGTGCAAGGGCAATGCTAAGATCAAGCATAATATGATCTGTGGAGCCT  
CGGACGAGCGCGGCTACCAGATGCTGACCTGCGCCGGCGGGAACAGCC  
ATATGCTGGCCACCGTACATGTGGCTTCCCATGCTCGCAAGCCCTGGCC  
CGAGTTCGAGCACAATGTCATGACCAGGTGCAATATGCATCTGGGGTCC  
CGCCGAGGCATGTTTCATGCCCTACCAGTGCAACCTGAATTATGTGAAGG  
TGCTGCTGGAGCCCGATGCCATGTCCAGAGTGAGCCTGACGGGGGTGTT  
TGACATGAATGTGGAGGTGTGGAAGATTCTGAGATATGATGAATCCAA  
GACCAGGTGCCGAGCCTGCGAGTGCGGAGGGAAGCATGCCAGGTTCGA  
GCCCCGTGTGTGTGGATGTGACGGAGGACCTGCGACCCGATCATTTGGTG  
TTGCCCTGCACCGGGACGGAGTTCGGTTCCAGCGGGGAAGAATCTGACT  
AGAGTGAGTAGTGTTCTGGGGCGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGA  
ATAACTGAAATCTGTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAG  
CGGCTCCTTTGAGGGAGGGGTATTCAGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTC  
CCCTCCTGGGCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGAC  
GGCCGGCCCCGTGCAGCCCCGCAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCC  
TGAGCTCTTCGTCGTTGGACGCAGCTGCCGCCGACGCTGCTGCATCTGC  
CGCCAGCGCCGTGCGCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCAC  
TCTGGTGGCCAACTCGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGAG  
GAGAAGCTGTTGCTGCTGATGGCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGCGCC  
TGGGCGAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGACGCGGG  
CCGCGGTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAATAAATAA  
ACGGAGACGGTTGTTGATTTTAACACAGAGTCTGAATCTTTATTTGATTT  
TTCGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATCATTGAGCACCCG  
GTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTTGGATGTTGAGGTAC  
ATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGCAGGGCC  
TCGTGCTCGGGGGTGGTGTGTAATCACCCAGTCATAGCAGGGGCGCA  
GGGCATGGTGTTGCACAATATCTTTGAGGAGGAGACTGATGGCCACGG  
GCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTACAAATCTGTTGAGCTGGGAGGGATG  
CATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATCTTGGCCTGGATCTTGAGATTGGC  
GATGTTACCGCCCAGATCCCGCCTGGGGTTCATGTTGTGCAGGACCACC

[0967]

AGCACGGTGTATCCGGTGCACCTTGGGGAATTTATCATGCAACTTGGAAG  
GGAAGGCGTGAAAGAATTTGGCGACGCCTTTGTGCCCCGCCAGGTTTTC  
CATGCACTCATCCATGATGATGGCGATGGGCCCCGTGGGCGGCGGCCTG  
GGCAAAGACGTTTCGGGGGTCGGACACATCATAGTTGTGGTCCTGGGTG  
AGGTCATCATAGGCCATTTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTGCCGGA  
GGGGGACAAAGGTACCCTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCCTCACAGA  
TCTGCATCTCCCAGGCTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTG  
CGGGGCGATAAAGAACACGGTTTCCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGC  
CGAAAGCAAGTTCCGGAGCAGCTGGGACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCC  
GTAGATGACCCCGATGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACA  
GCTGCCGTCTCCCGGAGGAGGGGGGCCACCTCGTTCATCATCTCGCGC  
ACGTGCATGTTCTCGCGCACCAAGTTCCGCCAGGAGGCGCTCTCCCCCA  
GGGATAGGAGCTCCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTCAGCGGCTTGAGTC  
CGTCGGCCATGGGCATTTTGGAGAGGGTTTGTGCAAGAGTTCCAGGCG  
GTCCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTCGATCCAGCAGACCT  
CCTCGTTTCGCGGGTTGGGACGGCTGCGGGAGTAGGGCACCAGACGAT  
GGGCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCCCTTCCAGGGTCCGACGCTCC  
GCGTCAGGGTGGTCTCCGTACGGTGAAGGGGTGCGCGCCGGGCTGGG  
CGCTTGCGAGGGTGCCTTCAGGCTCATCCGGCTGGTGCAAAACCGCTC  
CCGATCGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAGGTAGCAATTGACCATGAGTTCG  
TAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTGGCGCGGAGCTTACCTTTGG  
AAGTCTGCCCCGAGGCGGGACAGAGGAGGGACTTGAGGGCGTAGAGCT  
TGGGGGCGAGGAAGACGGACTCGGGGGCGTAGGCGTCCGCGCCGCAGT  
GGGCGCAGACGGTCTCGCACTCCACGAGCCAGGTGAGGTGCGGGCTGGT  
CGGGGTCAAAAACCAAGTTTCCCGCCGTTCTTTTGTATGCGTTTCTTACCT  
TTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCCCCGCTGGGTGACAAAGAGGCTGTCCG  
TGTCCCCGTAGACCGACTTTATGGGCCGGTCCCTCGAGCGGTGTGCCGCG  
GTCTCTCTCGTAGAGGAACCCCGCCCACTCCGAGACGAAAGCCCGGGT  
CCAGGCCAGCACGAAGGAGGCCACGTGGGACGGGTAGCGGTCTGTTGTC  
CACCAGCGGGTCCACCTTTTCCAGGGTATGCAAACACATGTCCCCCTCG  
TCCACATCCAGGAAGGTGATTGGCTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGG  
GGGTCCCGGCCGGGGGGGTATAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCCT  
CACTGTCTTCCGGATCGCTGTCCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTA  
TTCCCTCTCGAAGGCGGGCATGACCTCGGCACTCAGGTTGTCAGTTTCT  
AGAAACGAGGAGGATTTGATATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTC  
AAGAGCCCCCTCGTCCATCTGGTCAGAAAAGACGATCTTTTTTGTGTCGA  
GCTTGGTGGCGAAGGAGCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTTGCGGA  
TGGAGCGCATGGTCTGGTTTTTTTCTTGTGCGCGCGCTCCTTGGCGGCG  
ATGTTGAGCTGCACGTACTCGCGCGCCACGCACTTCCATTCCGGGAAGA  
CGGTGGTCAGCTCGTCGGGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGATTATG  
CAGGGTGATGAGGTCCACACTGGTGGCCACCTCGCCGCGCAGGGGCTC  
ATTAGTCCAGCAGAGGCGTCCGCCCTTGCGCGAGCAGAAGGGGGGCGAG  
GGGGTCCAGCATGACCTCGTCGGGGGGGTGCGCATCGATGGTGAAGAT  
GCCGGGCAGGAGGTGCGGGTCAAAGTAGCTGATGGAAGTGGCCAGATC  
GTCCAGGGCAGCTTGCCATTGCGGCACGGCCAGCGCGCGCTCGTAGGG  
ACTGAGGGGCGTGCCCCAGGGCATGGGATGGGTAAAGCGCGGAGGCGTA  
CATGCCGCAGATGTCTGATAGCTAGAGGGGCTCCTCGAGGATGCCGAT  
GTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGGATGCTGGCGCGCACGTAGTC  
ATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGCCCCGGGCCCAGGTTGGTGGC  
ACTGGGCTTTTCGGCGCGGTAGACGATCTGGCGGAAAATGGCATGCGA

[0968]

GTTGGAGGAGATGGTGGGCCTTTGGAAGATGTTGAAGTGGGCGTGGGG  
CAGTCCGACCGAGTCGCGGATGAAGTGGGCGTAGGAGTCTTGCAGCTT  
GGCGACGAGCTCGGCGGTGACTAGGACGTCCAGAGCGCAGTAGTCGAG  
GGTCTCCTGGATGATGTCATACTTGAGCTGTCCCTTTTGTTTCCACAGCT  
CGCGGTTGAGAAGGAACTCTTCGCGGTCTTCCAGTACTCTTCGAGGGG  
GAACCCGTCTGATCTGCACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAAGTGGTTG  
ACGGCCTTGTAGGCGCAGCAGCCCTTCTCCACGGGGAGGGCGTAGGCC  
TGGGCGGCCTTGCGCAGGGAGGTGTGCGTGAGGGCGAAAGTGTCCCTG  
ACCATGACCTTGAGGAACTGGTGCTTGAAGTCGATATCGTCGCAGCCCC  
CCTGCTCCCAGAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTGAGCGGGGTTGGG  
CAAAGCGAAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCCGCGCGGGGCAT  
AAAGTTGCGAGTGATGCGGAAAGGTTGGGGCACCTCGGCCCGGTTGTT  
GATGACCTGGGCGGCGAGCACGATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTTGTGG  
CCCACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGGC  
AGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTTCGTGAGCCCGT  
GCTGCTCGAGCGCCCAGTCGGCGAGATGGGGGTTGGCGCGGAGGAAGG  
AAGTCCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGCAGACGGTCCCGGTACT  
GACGGAAGTCTGCCCGACGGCCATTTTTCGGGGGTGACGCAGTAGA  
AGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTGAGCTGGAGGGCGA  
GATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTTCGTCCCCGAGAGTTTCATGA  
CCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACCCCATCCAGGTGT  
AGGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTCGGTGCGAGGATGCG  
AGCCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCCACCAATTGGAGGAATGGC  
TGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCGCCGAACACTCGT  
GCTTGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCTCGCAACGCTGCACGGGATG  
CACGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTCCTTTGACGAGGAATTTCACT  
GGGAAGTGGAGTCGTGGCGCCTGCATCTCGTGCTGTACTACGTCTGTT  
GGTCGGCCTGGCCCTCTTCTGCCCTCGATGGTGGTCATGCTGACGAGCCC  
GCCCGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCGCGAGCGGGTTCGGAGAGCGA  
GGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCCAGGGTCCTGAGACGCTGCG  
GAGTCAGGTCAGTGGGCAGCGGCGGCGCGCGGTTGACTTGACAGGAGTT  
TTTCCAGGGCGCGCGGGAGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGCGCC  
ATTGGTGGCGACGTTCGATGGCTTGACAGGGTCCCGTGCCCTGGGGTGTG  
ACCACCGTCCCCCGTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGGCGACGGGGGCGGTG  
CCTCTTCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGGCAG  
GGGCGGCTCGGGGCCCGGAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGTGCGCGC  
CGCGCGCGGGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCGGAGAAGACTGGCGTGAG  
CGACGACGCGACGGTTGACGTCTTGATCTGACGCCTCTGGGTGAAGG  
CCACGGGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTCGACAGAATCAA  
TCTCGGTATCGTTGACGGCGGCCCTGCCGCAGGATCTCTTGACGTGCGC  
CGAGTTGTCTGGTAGGCGATCTCGGTTCATGAACTGCTCGATCTCTCC  
TCTTGAAGGTCTCCGCGGCCCGGCGCGCTCCACGGTGGCCCGCAGGTCGT  
TGGAGATGCGGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTTCATGCCCGCCTCGTT  
CCAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGATCGCGGGCGCGCAT  
GACCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAGACCGCGTA  
GTTGCAGAGGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGGCGATGTGCTC  
GGTGACGAAGAAATACATGATCCAGCGCGGAGCGGCATCTCGCTGAC  
GTCGCCCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTAAAAGTCCACGGCG  
AAGTTGAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACGGTCAACTCCTCCTCC  
AGAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCGCACCTCGCGCTCGAAG

[0969]

GCCCCGGGAGTTCCTCCACTTCCTCTTCTTCCTCCTCCACTAACATCTC  
TTCTACTTCCTCCTCAGGCGGCAGTGGTGGCGGGGGAGGGGGCCTGCGT  
CGCCGGCGGCGCACGGGCAGACGGTCGATGAAGCGCTCGATGGTCTCG  
CCGCGCCGGCGTCGCATGGTCTCGGTGACGGCGCGCCCGTCCTCGCGGG  
GCCGCAGCGTGAAGACGCCGCCGCGCATCTCCAGGTGGCCGGGGGGGT  
CCCCGTTGGGCAGGGAGAGGGCGCTGACGATGCATCTTATCAATTGCC  
CGTAGGGACTCCGCGCAAGGACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGGATC  
TGAAAACCGCTGAACGAAGGCTTCGAGCCAGTCGCAGTCGCAAGGTAG  
GCTGAGCACGGTTTCTTCTGGCGGGTTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGG  
GCGATGCTGCTGGTGATGAAGTTGAAATAGGCGGTTCTGAGACGGCGG  
ATGGTGGCGAGGAGCACCAGGTCTTTGGGCCCGGCTTGCTGGATGCGC  
AGACGGTCGGCCATGCCCCAGGCGTGGTCTTGACACCTGGCCAGGTCCT  
TGTAAGTAGTCTGCATGAGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCCTCGCCCGC  
GCGGCCGTGCATGCGCGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAG  
CGCCAGGTCCGGCGACGACGCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTGGATCTG  
GGTGAGGGTGGTCTGGAAGTCATCAAAGTCGACGAAGCGGTGGTAGGC  
TCCGGTGTGTGATGGTGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGACCAGTTGACG  
GTCTGGTGGCCCGGACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGTAG  
GCGCGCGTGTCAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAGGTACTGGT  
AGCCGATGAGGAAGTGCGGCGGCGGCTGGCGGTAGAGCGGCCATCGCT  
CGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCCTCGAGCATGGTGCGGTGGT  
AGCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCGGCGGTGGTGG  
AGGCGCGCGGGAACCTCGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCA  
GGAAGTAGTTTCATGGTGGGCACGGTCTGGCCCGTGAGGCGCGCGCAGT  
CGTGGATGCTCTATACGGGCAAAAACGAAAGCGGTCAGCGGCTCGACT  
CCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGAACGGGTTGGGCTGCGCGTGTACCCCG  
GTTTCGAATCTCGAATCAGGCTGGAGCCGCAGCTAACGTGGTATTGGCAC  
TCCCGTCTCGACCCAAGCCTGCACCAACCCTCCAGGATACGGAGGCGG  
GTCGTTTTGCAACTTTTTTTTGGAGGCCGGATGAGACTAGTAAGCGCGG  
AAAGCGGCCGACCGCGATGGCTCGCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCG  
CCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGCCCCGGTTCGAGGCCGGCCGGATTCCGC  
GGCTAACGAGGGCGTGGCTGCCCCGTCGTTTCCAAGACCCCATAGCCAG  
CCGACTTCTCCAGTTACGGAGCGAGCCCCCTCTTTTGTTTTGTTTT  
GCCAGATGCATCCCGTACTGCGGCAGATGCGCCCCCACCACCCTCCACC  
GCAACAACAGCCCCCTCCACAGCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAG  
CAACTTCCAGCCACGACCGCCGCGGCCCGCGTGAGCGGGGCTGGACAG  
AGTTATGATCACCAGCTGGCCTTGGAAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCGC  
CTGGGGGCGTCGTCGCCGGAGCGGCACCCGCGCGTGACAGATGAAAAGG  
GACGCTCGCGAGGCCTACGTGCCCAAGCAGAACCTGTTACAGAGACAGG  
AGCGGCGAGGAGCCCGAGGAGATGCGCGCGGCCCCGGTTCCACGCGGGG  
CGGGAGCTGCGGCGCGGCCTGGACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGACGA  
GGATTTTCGAGGCGGACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGCGCA  
CGTGGCCGCGGCCAACCTGGTCACGGCGTACGAGCAGACCGTGAAGGA  
GGAGAGCAACTTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCACCTGATC  
GCGCGCGAGGAGGTGACCTGGGCCTGATGCACCTGTGGGACCTGCTG  
GAGGCCATCGTGCAGAACCCCAACAGCAAGCCGCTGACGGCGCAGCTG  
TTCTGGTGGTGCAGCATAGTCGGGACAACGAAGCGTTACAGGGAGGCG  
CTGCTGAATATCACCGAGCCCGAGGGCCCGCTGGCTCCTGGACCTGGTGA  
ACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCGGGCTGCCGCTGTCCG  
AGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTGAGTTTGGGCAAGTACTA

[0970]

CGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCGTACGTGCCCATAGACAAGGAGGT  
GAAGATCGACGGGTTTTACATGCGCATGACCCTGAAAGTGCTGACCCTG  
AGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCAACGACAGGATGCACCGTGCGGTG  
AGCGCCAGCAGGCGGCGGAGCTGAGCGACCAGGAGCTGATGCATAGT  
CTGCAGCGGGCCCTGACCGGGGCGGGACCGAGGGGGAGAGCTACTTT  
GACATGGGCGCGGACCTGCACTGGCAGCCCAGCCGCCGGGCCCTTGAG  
GCGGCGGCAGGACCCTACGTAGAAGAGGTGGACGATGAGGTGGACGA  
GGAGGGCGAGTACCTGGAAGACTGATGGCGCGACCGTATTTTTGCTAG  
ATGCAACAACAACAGCCACCTCCTGATCCCGCGATGCGGGCGGCGCTG  
CAGAGCCAGCCGTCCGGCATTAACTCCTCGGACGATTGGACCCAGGCC  
ATGCAACGCATCATGGCGCTGACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGA  
CAGCAGCCCCAGGCCAACCGGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTG  
CCCTCGCGCTCCAACCCACGCACGAGAAGGTCTGGCCATCGTGAACG  
CGCTGGTGGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAGGCCGGCCTGGTGT  
ACAACGCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCCGCTACAACAGCACCAACGTGC  
AGACCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGCCC  
AGCGCGAGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGCGC  
TGAACGCCTTCCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCCGGGGCCAGG  
AGGACTACACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATGGTGACCGAGGT  
GCCCCAGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGCGGACTACTTCTTCCAGACC  
AGTCGCCAGGGCTTGACAGACCGTGAACCTGAGCCAGGCTTTCAAGAAC  
TTGCAGGGCCTGTGGGGCGTGACGGCCCCGGTTCGGGGACCGCGCGACG  
GTGTGCGAGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGCCTGCTGCTGCTGGTGG  
CCCCCTTCACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTCGTACCTGGGCTA  
CCTGATTAACTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGGCGCACGTGGACGA  
GCAGACCTACCAGGAGATCACCCAGTGAGCCGCGCCCTGGGCCAGGA  
CGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAACTTTTTGCTGACCAACCGG  
TCGCAGAAGATCCCGCCCCAGTACGCGCTCAGCACCGAGGAGGAGCGC  
ATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTGGGCCTGTTCTGATGCAGGAGG  
GGGCCACCCCCAGCGCCGCGCTCGACATGACCGCGCGCAACATGGAGC  
CCAGCATGTACGCCAGCAACCGCCCGTTCATCAATAAACTGATGGACTA  
CTTGATCGGGCGGCCGCCATGAACTCTGACTATTTACCAACGCCATC  
CTGAATCCCCACTGGCTCCCGCCGCGGGGTTCTACACGGGCGAGTACG  
ACATGCCCCGACCCAATGACGGGTTCTGTGGGACGATGTGGACAGCA  
GCGTGTTCTCCCCCGACCGGGTGCTAACGAGCGCCCCCTTGTTGGAAGAA  
GGAAGGCAGCGACCGACGCCCCGTCTCGGCGCTGTCCGGCCGCGAGGG  
TGCTGCCGCGGCGGTGCCCGAGGCCGCCAGTCCTTTCCCGAGCTTGCCC  
TTCTCGCTGAACAGTATCCGCAGCAGCGAGCTGGGCAGGATCACGCGC  
CCGCGCTTGCTGGGCGAAGAGGAGTACTTGAATGACTCGCTGTTGAGAC  
CCGAGCGGGAGAAGAACTTCCCCAATAACGGGATAGAAAGCCTGGTGG  
ACAAGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGGGACGATC  
CCCGGGCGTCGCAGGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCGCCCGTAAAC  
GCCGGTGGCACGACAGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGATGAGGACT  
CCGCCGACGACAGCAGCGTGTGGACTTGGGTGGGAGTGGTAACCCGT  
TCGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGCGCATGATGTAAGAGAAACCGA  
AAATAAATGATACTACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGCGTTCGTTTC  
TTCTCTGTTGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCGTACCCGGAGG  
GTCCTCCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGCGATGGCGGCGG  
CGGCGATGCAGCCCCCGCTGGAGGCTCCTTACGTGCCCCCGCGGTACCT  
GGCGCCTACGGAGGGGCGGAACAGCATTCGTTACTCGGAGCTGGCACC

[0971]

CTTGTAACGATACCAACCGGTTGTACCTGGTGGACAACAAGTCGGCGGAC  
ATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCACAGCAACTTCCTGACCACCG  
TGGTGCAGAACAATGACTTCACCCCCACGGAGGCCAGCACCCAGACCA  
TCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGTGGGGCGGCCAGCTGAAAACCATCA  
TGCACACCAACATGCCCAACGTGAACGAGTTCATGTACAGCAACAAGT  
TCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCCGCAAGACCCCCAATGGGGTGACAG  
TGACAGAGGATTATGATGGTAGTCAGGATGAGCTGAAGTATGAATGGG  
TGGAATTTGAGCTGCCCCGAAGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATCGA  
CCTGATGAACAACGCCATCATCGACAATTACTTGGCGGTGGGGCGGCA  
GAACGGGGTGCTGGAGAGCGACATCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGAA  
CTTCAGGCTGGGCTGGGACCCCGTGACCGAGCTGGTCATGCCCGGGGTG  
TACACCAACGAGGCTTTCCATCCCGATATTGTCTTGCTGCCCGGCTGCG  
GGGTGGACTTCACCGAGAGCCGCTCAGCAACCTGCTGGGCATTTCGA  
AGAGGCAGCCCTTCCAGGAAGGCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGG  
AGGGGGGCAACATCCCCGCGCTCCTGGATGTCGACGCCTATGAGAAAA  
GCAAGGAGGATGCAGCAGCTGAAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCT  
CTACCGAGGTCAGGGGCGATAATTTTGAAGCGCCGCAGCAGTGGCAG  
CGGCCGAGGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATTACGCCGGTG  
AGAAGGATAGCAAGAACAGGAGCTACAACGTACTACCGGACAAGATA  
AACACCGCCTACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACCTATGGCGACCCCG  
AGAAGGGCGTGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCACCTCGGACGTCACCTG  
CGGCGTGGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCGACATGATGCAAGACCC  
GGTCACCTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTGCGC  
GCCGAGCTCCTGCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGCAGGCCG  
TCTACTCGCAGCAGCTGCGCGCCTTACCTCGCTTACGCACGTCTTCAA  
CCGCTTCCCCGAGAACCAGATCCTCGTCCGCCCGCCCGCGCCACCATT  
ACCACCGTCAGTGAAAACGTTCTGCTCTCACAGATCACGGGACCCTGC  
CGCTGCGCAGCAGTATCCGGGGAGTCCAGCGCGTGACCGTTACTGACG  
CCAGACGCCGCACCTGCCCTACGTCTACAAGGCCCTGGGCATAGTCGC  
GCCGCGCGTCTCTCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGC  
CCAGTAATAACACCGGTTGGGGCCTGCGCGCGCCAGCAAGATGTACG  
GAGGCGCTCGCCAACGCTCCACGCAACACCCCGTGCGCGTGCGCGGGC  
ACTTCCGCGCTCCCTGGGGCGCCCTCAAGGGCCGCGTGCGGTGCGGCAC  
CACCGTCGACGACGTGATCGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTA  
CACCCCCGCCGCGCGCCCGTCTCCACCGTGACGCGGTCATCGACAGC  
GTGGTGGCAGACGCGCGCCGGTACGCCCGCGCCAAGAGCCGGCGGCGG  
CGCATCGCCCGGCGGCACCGGAGCACCCCGCCATGCGCGCGGCGCGGA  
GCCTTGCTGCGCAGGGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCCATGCTCAGG  
GCGGCCAGACGCGCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGA  
CGCGCGGCCACGGCGGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCG  
CGGCGAGGGAACGTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCGC  
GTGCCCGTGCGCACCCGCCCCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTCGCG  
ATGTTGATGTGTCCCAGCGGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAAATTCAA  
GGAAGAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCCTGCGGT  
GGTGAAGGAGGAAAGAAAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTCAAAAAGG  
ACAAAAAGGAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGTTTGTGC  
GCGAGTTCGCCCCCGCGCGCGGTGCAGTGGCGCGGGCGGAAGGTGC  
AACCGGTGCTGAGACCCGGCACCAACCGTGGTCTTACGCCCCGGCGAGC  
GCTCCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGAGGTGTACGGGGATG  
ATGATATTCTGGAGCAGGCGGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGCTTACGG

[0972]

CAAGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATCCCGCT  
GGACCACGGCAACCCACGCGGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGACGCA  
GGTGCTGCCGACCGCGGCGCCGCGCGGGGGTTCAAGCGCGAGGGCGA  
GGATCTGTACCCACCATGCAGCTGATGGTGCCCAAGCGCCAGAAGCT  
GGAAGACGTGCTGGAGACCATGAAGGTGGACCCGGACGTGCAGCCCGA  
GGTCAAGGTGCGGCCCATCAAGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGGCGTGCA  
GACCGTGGACATCAAGATTCCCACGGAGCCCATGGAAACGCAGACCGA  
GCCCATGATCAAGCCCAGCACCAGCACCATGGAGGTGCAGACGGATCC  
CTGGATGCCATCGGCTCCTAGTCGAAGACCCCGGCGCAAGTACGGCGC  
GGCCAGCCTGCTGATGCCCAACTACGCGCTGCATCCTTCCATCATCCCC  
ACGCCGGGCTACCGCGGCACGCGCTTCTACCGCGGTCATACCAGCAGCC  
GCCGCCGCAAGACCACCACTCGCCGCCGCGCTCGCCGCACCGCCGCTGC  
AACCACCCCTGCCGCCCTGGTGCGGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGC  
ACCTCTGACCCTGCCGCGCGCGCTACCACCCGAGCATCGCCATTAA  
ACTTTCGCCGCTTTGTCAGATCAATGGCCCTCACATGCCGCTTCGCGTT  
CCCATTACGGGCTACCGAGGAAGAAAACCGCGCCGTAGAAGGCTGGCG  
GGGAACGGGATGCGTCGCCACCACCACCGGCGGCGGCGGCCATCAGC  
AAGCGGTTGGGGGGAGGCTTCTGCCCCGCGCTGATCCCCATCATCGCCG  
CGGCGATCGGGGCGATCCCCGGCATTGCTTCCGTGGCGGTGCAGGCCTC  
TCAGCGCCACTGAGACACACTTGGAACATCTTGTAATAAACCAATGGA  
CTCTGACGCTCCTGGTCCTGTGATGTGTTTTCGTAGACAGATGGAAGAC  
ATCAATTTTTTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCACGCGGCCGTTTATGG  
GCACCTGGAGCGACATCGGCACCAGCCAACCTGAACGGGGGGCGCCTTCA  
ATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAGAATTTTCGGGTCCACGCTTAA  
AACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCACCACAGGGCAGGCGCTGAG  
GGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAGCAGAAGGTGGTTCGATGGGCT  
CGCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGGACCTGGCCAACCAGGCCGTGCA  
GCGGCAGATCAACAGCCGCCTGGACCCGGTGCCGCCCGCCGGCTCCGT  
GGAGATGCCGCAGGTGGAGGAGGAGCTGCCTCCCCTGGACAAGCGGGG  
CGAGAAGCGACCCCGCCCCGATGCGGAGGAGACGCTGCTGACGCACAC  
GGACGAGCCGCCCCCGTACGAGGAGGCGGTGAAACTGGGTCTGCCAC  
CACGCGGCCCATCGCGCCCCTGGCCACCGGGGTGCTGAAACCCGAAAA  
GCCCCGACCCCTGGACTTGCTCCTCCCCAGCCTTCCC GCCCCTCTACA  
GTGGCTAAGCCCCTGCCGCCGGTGGCCGTGGCCCGCGCGACCCGGG  
GGCACCGCCCGCCCTCATGCGAACTGGCAGAGCACTCTGAACAGCATC  
GTGGGTCTGGGAGTGCAGAGTGTGAAGCGCCGCCGCTGCTATTAAACCT  
ACCGTAGCGCTTAACTTGCTTGTCTGTGTGTATGTATTATGTGCGCCG  
CGCCGCTGTCCACCAGAAGGAGGAGTGAAGAGGCGCGTCGCCGAGTTG  
CAAGATGGCCACCCCATCGATGCTGCCCCAGTGGGCGTACATGCACATC  
GCCGGACAGGACGCTTCGGAGTACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTG  
CCCGCGCCACAGACACCTACTTCAGTCTGGGGAACAAGTTTAGGAACCC  
CACGGTGGCGCCACGCACGATGTGACCACCGACCGCAGCCAGCGGCT  
GACGCTGCGCTTCGTGCCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTACTCGTAC  
AAAGTGCGCTACACGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCTGGACATG  
GCCAGCACCTACTTTGACATCCGCGGGCGTGCTGGATCGGGGCCCTAGCT  
TCAAACCCTACTCCGGCACCGCCTACAACAGTCTGGCCCCCAAGGGAGC  
ACCCAACACTTGTGAGTGGACATATAAAGCCGATGGTGAAACTGCCAC  
AGAAAAAACCTATACATATGGAATGCACCCGTGCAGGGCATTAAACAT  
CACAAAAGATGGTATTCAACTTGGAAGTGCACCCGATGATCAGCCAAT  
CTACGCAGATAAAACCTATCAGCCTGAACCTCAAGTGGGTGATGCTGA

[0973]

ATGGCATGACATCACTGGTACTGATGAAAAGTATGGAGGCAGAGCTCT  
TAAGCCTGATACCAAAATGAAGCCTTGTTATGGTTCCTTTTGCCAAGCCT  
ACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAATGTGAAAACAGGAACAGGCAC  
TACTAAAGAATATGACATAGACATGGCTTCTTTGACAACAGAAGTGCG  
GCTGCTGCTGGCCTAGCTCCAGAAATTGTTTTGTATACTGAAAATGTGG  
ATTTGGAACTCCAGATACCCATATTGTATACAAAGCAGGCACAGATG  
ACAGCAGCTCTTCTATTAATTTGGGTCAGCAAGCCATGCCCAACAGACC  
TAACTACATTGGTTTTAGAGACAACCTTTATCGGGCTCATGTACTACAAC  
AGCACTGGCAATATGGGGGTGCTGGCCGGTCAGGCTTCTCAGCTGAATG  
CTGTGGTTGACTTGCAAGACAGAAACACCGAGCTGTCCTACCAGCTCTT  
GCTTGACTCTCTGGGTGACAGAACCCGGTATTTCAGTATGTGGAATCAG  
GCGGTGGACAGCTATGATCCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGGTG  
TGGAGGATGAACTTCCCAACTATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAG  
AACAGATACTTATCAGGGAATTAAGGCTAATGGAAGTATCAAACCAC  
ATGGACCAAAGATGACAGTGTCAATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGG  
TAATCCATTTCGCCATGGAAATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAA  
CTTCCTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTGCCCCGACTCTTACAAGTAC  
ACGCCGGCCAATGTTACCCTGCCACCAACACCAACACCTACGATTACA  
TGAACGGCCGGGTGGTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCAACAT  
CGGGGCGCGCTGGTCGCTGGATCCCATGGACAACGTGAACCCCTTCAAC  
CACCACCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCTGGGCAACG  
GGCGCTACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAATTTTTCGCCAT  
CAAGAGCCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCTACACCTACGAGTGGAACCTC  
CGCAAGGACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTCCCTCGGCAACGACCTG  
CGCACGGACGGGGCCTCCATCTCCTTACCAGCATCAACCTCTACGCCA  
CCTTCTTCCCCATGGCGCACAAACACGGCCTCCACGCTCGAGGCCATGCT  
GCGCAACGACACCAACGACCAGTCTTCAACGACTACCTCTCGGCGGCC  
AACATGCTCTACCCCATCCCGGCCAACGCCACCAACGTGCCCATCTCCA  
TCCCCCTCGCGCAACTGGGCGGCCTTCCGCGGCTGGTCCTTACGCGTCT  
CAAGACCAAGGAGACGCCCTCGCTGGGCTCCGGGTTCGACCCCTACTTC  
GTCTACTCGGGCTCCATCCCCTACCTCGACGGCACCTTCTACCTCAACC  
ACACCTTCAAGAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCCGTCAGCTGGCC  
CGGCAACGACCGGCTCCTGACGCCCAACGAGTTCGAAATCAAGCGCAC  
CGTCGACGGCGAGGGCTACAACGTGGCCCAAGTGCAACATGACCAAGGA  
CTGGTTCTGGTCCAGATGCTGGCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGC  
TTCTACGTGCCCCGAGGGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTCCGCA  
ACTTCCAGCCCATGAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAACTACAAGG  
ACTACCAGGCCGTACCCCTGGCCTACCAGCACAACTCGGGCTTCGT  
CGGCTACCTCGCGCCACCATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAAC  
TACCCCTACCCGCTCATCGGCAAGAGCGCCGTACCAAGCGTCACCCAGA  
AAAAGTTCTCTGCGACAGGGTCAATGTGGCGCATCCCCCTTCTCCAGCAA  
CTTCATGTCCATGGGCGCGCTACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTAT  
GCCAACTCCGCCCACGCGCTAGACATGAATTTGGAAGTCGACCCCATGG  
ATGAGTCCACCCTTCTCTATGTTGTCTTCGAAGTCTTCGACGTCGTCCGA  
GTGCACCAGCCCCACCGCGGCGTCAATCGAGGCGCTACCTGCGCACCC  
CCTTCTCGGCGGGTAACGCCACCACTAAGCTCTTGCTTCTTGCAAGCC  
ATGGCCGCGGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCATCCGCGAC  
CTGGGCTGCGGGCCCTACTTCTGGGCACCTTCGATAAGCGCTTCCCGG  
GATTCATGGCCCCGACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAACACGGCCGG  
CCGCGAGACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCCTGGAACCCGCG

[0974]

CTCGAACACCTGCTACCTCTTCGACCCCTTCGGGTTCTCGGACGAGCGC  
CTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGCAGC  
GCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACCCTGGAAAAAGTCCACCCAG  
ACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCGCTGCGGGCTCTTCTGCTGCATGT  
TCCTGCACGCCTTCGTGCACTGGCCCCGACCGCCCCATGGACAAGAACCC  
CACCATGAAC TTGCTGACGGGGGTGCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCC  
CAGGTGGAACCCACCCTGCGCCGCAACCAGGAGGCGCTCTACCGCTTCC  
TCAACTCCCCTCCGCCTACTTTTCGCTCCCAACCGCGCGCGCATCGAGAA  
GGCCACCGCCTTCGACCGCATGAATCAAGACATGTAAACCGTGTGTGTA  
TGTTAAATGTCTTTAATAAACAGCACTTTCATGTTACACATGCATCTGA  
GATGATTTATTTAGAAATCGAAAGGGTTCTGCCGGGTCTCGGCATGGCC  
CGCGGGCAGGGACACGTTGCGGAACTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAA  
CTCGGGGATCAGCAGTTTGGGCAGCGGGGTGTGCGGGAAGGAGTCGGT  
CCACAGCTTCCGCGTCAGTTGCAGGGCGCCAGCAGGTGCGGGCGCGGA  
GATCTTGAAATCGCAGTTGGGACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGTTGCGG  
TACACGGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTCACG  
CTCGCCAGCACCGTCGCGTCGGTGATGCTCTCCACGTGAGGTCTCTCGG  
CGTTGGCCATCCCGAAGGGGGTTCATCTTGCAAGGTCTGCCTTCCCATGGT  
GGGCACGCACCCGGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATCAG  
CATCATCTGGGCCTGGTCGGCGTTTCATCCCCGGGTACATGGCCTTCATG  
AAAGCCTCCAATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCTCGGTGA  
AGAAGACCCCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTTGGTGGCGCACCCGG  
CGTCGTGCACGCAGCAGCGCGCGTCGTTGTTGGCCAGCTGCACCACGCT  
GCGCCCCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCCGGTCGGGGTTCTCCTTC  
AGCGCGCGCTGCCCCGTTCTCGCTCGCCACATCCATCTCGATCATGTGCT  
CCTTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACCGCAGCTTGGCCCTCGGC  
CTCGGTGCACCCGTGCAGCCACAGCGCGCACCCGGTGCCTCCAGTTTC  
TTGTGGGCGATCTGGGAATGCGCGTGCACGAAGCCCTGCAGGAAGCGG  
CCCATCATGGTGGTCAGGGTCTTGTGCTAGTGAAGGTCAGCGGAATGC  
CGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGTGGCAGATGCGGGCGGTACACCTC  
GCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAAGTTGGCTTTCAGGTGCGTCTCCACG  
CGGTAGCGGTCCATCAGCATAGTCATGATTTCCATACCCCTTCTCCCAGG  
CCGAGACGATGGGCAGGCTCATAGGGTTCTTACCATCATCTTAGCGCT  
AGCAGCCGCGGCCAGGGGGTTCGCTCTCGTCCAGGGTCTCAAAGCTCCG  
CTTGCCGTCCTTCTCGGTGATCCGCACCGGGGGGTAGCTGAAGCCCACG  
GCCGCCAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTTCGTCCTCGCTGTCTGGCTGAC  
GTCTTGCAGGACCACATGCTTGGTCTTGCGGGGTTTCTTCTTGGGCGGC  
AGCGGCGGCGGAGATGTTGGAGATGGCGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCG  
CTCACCCTACTATCTCTTCTTCTTGGTCCGAGGCCACGCGGCGGTA  
GGTATGTCTCTTCGGGGGAGAGGGCGGAGGCGACGGGCTCTCGCCGCC  
GCGACTTGGCGGATGGCTGGCAGAGCCCCCTTCCGCGTTCGGGGGTGCGC  
TCCCCGGCGGCGCTCTGACTGACTTCTCCGCGGCGGCGCATTTGTGTTCTC  
CTAGGGAGGAACAACAAGCATGGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCC  
ATCTGCCCCCACC GCCGACGAGAAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGCTT  
AACC GCCCGCCGCCCAGCCCCGCCACCTCCGACGCGGCGGTCCCAGAC  
ATGCAAGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGGCTATGTGACG  
CCCGCGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTGCCTTTTACAAGAAGAG  
ATACACCAAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAATGAGCAGAGTCA  
GGCTGGGCTCGAGCATGACGGCGACTACCTCCACCTGAGCGGGGGGGA  
GGACGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCCGGCAGGCCACCATCGTCAAGGA

[0975]

TGCGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCCCTCAGCGTGGAGGAGCTCAG  
CCGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGCGCGTGCCCCCAAGCGC  
CAGCCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCCGCGCCTCAACTTCTACCCGG  
TCTTCGCGGTGCCCGAGGCCCTGGCCACCTACCACATCTTTTTCAAGAA  
CCAAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGCGCCAACCGCACCCGCGCCGACGCC  
CTTTTCAACCTGGGTCCCGGCGCCCGCCTACCTGATATCGCCTCCTTGGA  
AGAGGTTCCCAAGATCTTCGAGGGTCTGGGCAGCGACGAGACTCGGGC  
CGGAACGCTCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGCATGAGCACCACAGCG  
CCCTGGTCGAGTTGGAAGGCGACAACGCGCGGCTGGCGGTGCTCAAAC  
GCACGGTCGAGCTGACCCATTTCGCCTACCCGGCTCTGAACCTGCCCCC  
CAAAGTCATGAGCGCGGTTCATGGACCAGGTGCTCATCAAGCGCGCGTC  
GCCCATCTCCGAGGACGAGGGCATGCAAGACTCCGAGGAGGGCAAGCC  
CGTGGTCAGCGACGAGCAGCTGGCCCCGGTGGCTGGGTCTAATGCTAGT  
CCCCAGAGTTTGGAAGAGCGGCGCAAACCTCATGATGGCCGTGGTCCTG  
GTGACCGTGGAGCTGGAGTGCCCTGCGCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGA  
CCCTGCGCAAGGTCGAGGAGAACCTGCACTACCTCTTCAGGCACGGGTT  
CGTGCGCCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGACCAACCTGGTC  
TCCTACATGGGCATCTTGACGAGAACCGCCTGGGGCAGAACGTGCTGC  
ACACCACCCTGCGCGGGGAGGCCCGGCGGCGACTACATCCGCGACTGCG  
TCTACCTCTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTGTGGCA  
GCAGTGTCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTCTGCAAGCTCCTGCA  
GAAGAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGACGAGCGCACCACCGC  
CTCGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCAGGCTGACGCTG  
CGCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCATGTTGCAAACTTTC  
GCTCTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCCGCCACCTGCTCCGC  
GCTGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCGCGGAGTGCCCCCGCCG  
CTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGCCAACTACCTGGCCTACC  
ACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCGAGGGCCTGCTCGAGTGCC  
ACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCACCGCTCCCTGGCCTGCAACCC  
CCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCATCGGCACCTTCGAGTTGCAAGG  
GCCCAGCGAAGGCGAGGGTTCAGCCGCCAAGGGGGGTCTGAAACTCAC  
CCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTCGTGCCCGAGGAC  
TACCATCCCTTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAATCCCATCCGCCCA  
AGGCCGAGCTGTCGGCCTGCGTCATCACCCAGGGGGCGATCCTGGCCC  
AATTGCAAGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAATTCTTGCTGAAAAAGG  
GCCGCGGGGTCTACCTCGACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTCAACCCCG  
GCTTCCCCCAGGATGCCCCGAGGAAACAAGAAGCTGAAAGTGGAGCTG  
CCGCCCCGTGGAGGATTTGGAGGAAGACTGGGAGAACAGCAGTCAGGCA  
GAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTCAGGCAGAGGA  
GGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAGGCAGAGG  
AGGAGGTGGAAGAAGCAGCCGCCGACAGCCGTCGTCCTCGGCGGGGG  
AGAAAGCAAGCAGCACGGATACCATCTCCGCTCCGGGTGCGGGTCCCG  
CTCGACCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGACGATTCCCGAACCCCA  
CCACCCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCTTGCGGG  
GGCACA AAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGCAAGGCCTGCGGGGGCAACA  
TCTCCTTACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAACTTTCC  
CGCAACATCTTGCACTTACTACCGTCACCTCCACAGCCCTACTACTTCCA  
AGAAGAGGCAGCAGCAGCAGAAAAAGACCAGCAGAAAAACCAGCAGCT  
AGAAAATCCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCGCGGCGAAC  
GAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTTTCCACCCTC

[0976]

TATGCCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCAGGAGCAGGAACTGAAAGTC  
AAGAACCCTTCTCTGCGCTCGCTCACCCGCAGTTGTCTGTATCACAAGA  
GCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAGGACGCCGAGGCTCTCTTCAA  
CAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAGCCCGCGCCCGCCAGTCG  
CAGAAAAAGGCGGGAATTACGTCACCTGTGCCCTTCGCCCTAGCCGCCT  
CCACCCATCATCATGAGCAAAGAGATTCCCACGCCTTACATGTGGAGCT  
ACCAGCCCCAGATGGGCCTGGCCGCGGTGCCGCCAGGACTACTCCA  
CCCGCATGAATTGGCTCAGCGCCGGGCCCGCGATGATCTCACGGGTGA  
ATGACATCCGCGCCCAACGAAACCAGATACTCCTAGAACAGTCAGCGC  
TCACCGCCACGCCCCGCAATCACCTCAATCCGCGTAATTGGCCCCGCCG  
CCTGGTGTACCAGGAAATTCCCCAGCCACGACCGTACTACTTCCGCGA  
GACGCCCAGGCCGAAGTCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGGCG  
GGCGGCGCCACCCTGTGTCTGTCACCGCCCCGCTCAGGGTATAAAGCGGC  
TGGTGATCCGGGGCAGAGGCACACAGCTCAACGACGAGGTGGTGAGCT  
CTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGAGTCTTCCAACCTCGCCGGATCGGG  
GAGATCTTCCTTCACGCCTCGTCAGGCCGTCTGACTTTGGAGAGTTTCG  
TCCTCGCAGCCCCGCTCGGGTGGCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGAGG  
AGTTCACTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCAC  
TACCCGGACGAGTTCATCCCGAACTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGTGG  
ACGGCTACGATTGAATGTCCCATGGTGGCGCAGCTGACCTAGCTCGGCT  
TCGACACCTGGACCACTGCCGCGCTTCCGCTGCTTCGCTCGGGATCTC  
GCCGAGTTTGCCTACTTTGAGCTGCCCGAGGAGCACCCCTCAGGGCCCCG  
CCCACGGAGTGCGGATCGTCGTCGAAGGGGGCCTCGACTCCCACCTGCT  
TCGGATCTTCAGCCAGCGTCCGATCCTGGTCGAGCGCGAGCAAGGACA  
GACCCTTCTGACTCTGTACTGCATCTGCAACCACCCCGCCTGCATGAA  
AGTCTTTGTTGTCTGCTGTGTACTGAGTATAATAAAAGCTGAGATCAGC  
GACTACTCCGGACTTCCGTGTGTTCTGAATCCATCAACCAGTCTTTGTT  
CTTCACCGGGAACGAGACCGAGCTCCAGCTCCAGTGTAAGCCCCACAA  
GAAGTACCTCACCTGGCTGTTCCAGGGCTCCCCGATCGCCGTTGTCAAC  
CACTGCGACAACGACGGAGTCTGCTGAGCGGCCCTGCCAACCTTACTT  
TTTCCACCCGCAGAAGCAAGCTCCAGCTCTTCCAACCCTTCTCCCCGG  
GACCTATCAGTGCGTCTCGGGACCCTGCCATCACACCTTCCACCTGATC  
CCGAATACCACAGCGTCGCTCCCCGCTACTAACAACCAAACTAACCTCC  
ACCAACGCCACCGTCGCGACCTTTCTGAATCTAATACTACCACCCACAC  
CGGAGGTGAGCTCCGAGGTCAACCAACCTCTGGGATTTACTACGGCCCC  
TGGGAGGTGGTTGGGTAAATAGCGCTAGGCCTAGTTGCGGGTGGGCTTT  
TGGTTCTCTGCTACCTATACCTCCCTTGCTGTTCTGACTTAGTGGTGCTG  
TGTTGCTGGTTTAAGAAATGGGGAAGATCACCCCTAGTGAGCTGCGGTGC  
GCTGGTGGCGGTGTTGCTTTTCGATTGTGGGACTGGGCGGTGCGGCTGTA  
GTGAAGGAGAAGGCCGATCCCTGCTTGCAATTTCAATCCCAACAAATGCC  
AGCTGAGTTTTTCAGCCCGATGGCAATCGGTGCGCGGTACTGATCAAGTG  
CGGATGGGAATGCGAGAACGTGAGAATCGAGTACAATAACAAGACTCG  
GAACAATACTCTCGCGTCCGTGTGGCAGCCCGGGGACCCCGAGTGGA  
CACCGTCTCTGTCCCCGGTGCTGACGGCTCCCCGCGCACCGTGAATAAT  
ACTTTTCATTTTTTCGCGACATGTGCGACACGGTCATGTGGATGAGCAAGC  
AGTACGATATGTGGCCCCCACGAAGGAGAACATCGTGGTCTTCTCCAT  
CGCTTACAGCCTGTGCACGGCGCTAATCACCGCTATCGTGTGCCTGAGC  
ATTCACATGCTCATCGCTATTCGCCCCAGAAATAATGCCGAAAAAGAAA  
AACAGCCATAACGTTTTTTTTTTCACACCTTTTTCAGACCATGGCCTCTGTT  
AAATTTTTGCTTTTATTGCCAGTCTCATTGCCGTCATTCATGGAATGAG

[0977]

TAATGAGAAAATTACTATTTACACTGGCACTAATCACACATTGAAAGGT  
CCAGAAAAAGCCACAGAAGTTTCATGGTATTGTTATTTTAATGAATCAG  
ATGTATCTACTGAACTCTGTGGAAACAATAACAAAAAAATGAGAGCA  
TTACTCTCATCAAGTTTCAATGTGGATCTGACTTAACCCCTAATTAACATC  
ACTAGAGACTATGTAGGTATGTATTATGGAACCTACAGCAGGCATTTTCGG  
ACATGGAATTTTATCAAGTTTCTGTGTCTGAACCCACCACGCCTAGAAT  
GACCACAACCACAAAACTACACCTGTTACCACTATGCAGCTCACTACC  
AATAACATTTTTTGCCATGCGTCAAATGGTCAACAATAGCACTCAACCCA  
CCCCACCCAGTGAGGAAATTCCCAAATCCATGATTGGCATTATTGTTGC  
TGTAAGTGGTGTGCATGTTGATCATCGCCTTGTGCATGGTGTACTATGCCT  
TCTGCTACAGAAAGCACAGACTGAACGACAAGCTGGAACACTTACTAA  
GTGTTGAATTTTAATTTTTTAGAACCATGAAGATCCTAGGCCTTTTAATT  
TTTTCTATCATTACCTCTGCTCTATGCAATTCTGACAATGAGGACGTTAC  
TGTCGTTGTTCGGATCAAATTATACACTGAAAGGTCCAGCGAAGGGTATG  
CTTTCGTGGTATTGCTATTTTGGATCTGACACTACAGAACTGAATTATG  
CAATCTTAAGAATGGCAAAATTCAAAATTTCTAAAATTAACAATTATATA  
TGCAATGGTACTGATCTGATACTCCTCAATATCACGAAATCATATGCTG  
GCAGTTACACCTGCCCTGGAGATGATGCTGACAGTATGATTTTTTACAA  
AGTAACTGTTGTTGATCCCACTACTCCACCTCCACCCACCACAACCTACT  
CACACCACACACAGATCAAACCGCAGCAGAGGAGGCAGCAAAGTTA  
GCCTTGCAGGTCCAAGACAGTTCAATTTGTTGGCATTACCCCTACACCTG  
ATCAGCGGTGTCCGGGGCTGCTAGTCAGCGGCATTGTTCGGTGTGCTTTC  
GGGATTAGCAGTCATAATCATCTGCATGTTCAATTTTTGCTTGCTGCTATA  
GAAGGCTTTACCGACAAAAATCAGACCCACTGCTGAACCTCTATGTTTA  
ATTTTTTCCAGAGTCATGAAGGCAGTTAGCGCTCTAGTTTTTTGTTCTTT  
GATTGGCATTGTTTTTTGCAATCCTATTCCTAAAGTTAGCTTTATTAAAG  
ATGTGAATGTTACTGAGGGGGGCAATGTGACACTGGTAGGTGTAGAGG  
GTGCTGAAAACACCACCTGGACAAAATACCACCTCAATGGGTGGAAAG  
ATATTTGCAATTGGAGTGTATTAGTTTATACATGTGAGGGAGTTAATCT  
TACCATTGTCAATGCCACCTCAGCTCAAAATGGTAGAATTCAAGGACAA  
AGTGTCAGTGTATCTAATGGGTATTTTACCCAACATACTTTTATCTATGA  
CGTTAAAGTCATACCACTGCCTACGCCTAGCCACCTAGCACTACCACA  
CAGACAACCCACACTACACAGACAACACATACAGTACATTAAATCAG  
CCTACCACCACTACAGCAGCAGAGGTTGCCAGCTCGTCTGGGGTCCGAG  
TGGCATTTTTTGATGTGGGCCCCATCTAGCAGTCCCACTGCTAGTACCAA  
TGAGCAGACTACTGAATTTTTGTCCACTGTGCGAGAGCCACACCACAGCT  
ACCTCCAGTGCCTTCTCTAGCACCGCCAATCTCTCCTCGCTTTCCTCTAC  
ACCAATCAGTCCCGCTACTACTCCTAGCCCCGCTCCTCTTCCCACTCCCC  
TGAAGCAAACAGACGGCGGCATGCAATGGCAGATCACCTGCTCATTG  
TGATCGGGTGTGTCATCCTGGCCGTGTTGCTCTACTACATCTTCTGCCGC  
CGCATTCCCAACGCGCACCGCAAGCCGGTCTACAAGCCCATCATTGTCTG  
GGCAGCCGGAGCCGCTTCAGGTGGAAGGGGGTCTAAGGAATCTTCTCTT  
CTCTTTTACAGTATGGTGAATGAACCTATGATTCCCTAGACAATTCTTGATC  
ACTATTCTTATCTGCCTCCTCCAAGTCTGTGCCACCCTCGCTCTGGTGGC  
CAACGCCAGTCCAGACTGTATTGGGCCCTTCGCCTCCTACGTGCTCTTTG  
CCTTACCACTGCATCTGCTGCTGTAGCATAGTCTGCCTGCTTATCACC  
TTCTTCCAGTTCATTGACTGGATCTTTGTGCGCATCGCCTACCTGCGCCA  
CCACCCCCAGTACCGCGACCAGCGAGTGGCGCGGCTGCTCAGGCTCCTC  
TGATAAGCATGCGGGCTCTGCTACTTCTCGCGCTTCTGCTGTTAGTGCTC  
CCCCGTCCCGTCGACCCCCGGTCCCCCACCAGTCCCCCGAGGAGGTCC

[0978]

GCAAATGCAAATTCCAAGAACCCTGGAAATTCCTCAAATGCTACCGCCA  
AAAATCAGACATGCATCCCAGCTGGATCATGATCATTGGGATCGTGAAC  
ATTCTGGCCTGCACCCCTCATCTCCTTTGTGATTTACCCCTGCTTTGACTTT  
GGTTGGAACCTCGCCAGAGGGCGCTCTATCTCCCGCCTGAACCTGACACAC  
CACCACAGCAACCTCAGGCACACGCACTACCACCACTACAGCCTAGGC  
CACAATACATGCCCATATTAGACTATGAGGCCGAGCCACAGCGACCCA  
TGCTCCCCGCTATTAGTTACTTCAATCTAACC GGCGGAGATGACTGACC  
CACTGGCCAACAACAACGTCAACGACCTTCTCCTGGACATGGACGGCC  
GCGCCTCGGAGCAGCGACTCGCCCAACTTCGCATTTCGCCAGCAGCAGG  
AGAGAGCCGTCAAGGAGCTGCAGGATGCGGTGGCCATCCACCAGTGCA  
AGAGAGGCATCTTCTGCCTGGTGAAACAGGCCAAGATCTCCTACGAGG  
TCACTCCAAACGACCATCGCCTCTCCTACGAGCTCCTGCAGCAGCGCCA  
GAAGTTCACCTGCCTGGTCGGAGTCAACCCCATCGTCATCACCCAGCAG  
TCTGGCGATACCAAGGGGTGCATCCACTGCTCCTGCGACTCCCCGACT  
GCGTCCACACTCTGATCAAGACCCTCTGCGGCCTCCGCGACCTCCTCCC  
CATGAACTAATCACCCCCCTTATCCAGTGAAATAAAGATCATATTGATGA  
TGATTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTGATTTGAAATAAAGATACA  
ATCATATTGATGATTTGAGTTTAACAAAAATAAAGAATCACTTACTT  
GAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCTGCCAACACCACTTAC  
TCCCCTCTTCCCAGCTCTGGTACTGCAGGCCCGGGCGGGCTGCAAACCTT  
CCTCCACACGCTGAAGGGGATGTCAAATTCCTCCTGTCCCTCAATCTTC  
ATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAGCGCGTCCGGGTGGATGATGA  
CTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGCAGACAACGCACCGACCGTGCCC  
TTCATCAACCCCCCTTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCAAGAGAAGCCCC  
TGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCACCACCAAGAACGG  
GGAAATCACCCCTCAAGCTGGGAGAGGGGGTGGACCTCGATTCTCGGG  
AAAACCTCATCTCCAACACGGCCACCAAGGCCGCCGCCCTCTCAGTTTT  
TCCAACAACACCATTTCCCTTAACATGGATCACCCCTTTTACACTAAAG  
ATGGAAAATTATCCTTACAAGTTTCTCCACCATTAAATATACTGAGAAC  
AAGCATTCTAAACACACTAGCTTTAGGTTTTGGATCAGGTTTAGGACTC  
CGTGGCTCTGCCTTGGCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTTGATAC  
TGATGGAAACATAAAGCTTACCTTAGACAGAGGTTTGCATGTTACAACA  
GGAGATGCAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAATTT  
GAAGATGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTAGAGTTTGGGA  
AGCAGTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTA  
AACTTGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGG  
TAACAAAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCCATC  
ACCAAACCTGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGCAAACTAACACTTTG  
CTTGACTAAATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCAGTCTTAGTT  
GTAGGAAGTGGAACCTAAACCCCACTTACTGGCACCGTAAGCAGTGCT  
CAGGTGTTTTCTACGTTTTGATGCAAACGGTGTTCTTTTAACAGAACATTC  
TACACTAAAAAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGATAGCATAGATGG  
CACTCCATATACCAATGCTGTAGGATTCATGCCCAATTTAAAGCTTAT  
CCAAAGTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGTA  
TACATGAATGGAGATGTTTCAAACCTATGCTTCTCACTATAACCCTCA  
ATGGTACTGATGACAGCAACAGTACATATTCAATGTCATTTTCATACAC  
CTGGACTAATGGAAGCTATGTTGGAGCAACATTTGGGGCTAACTCTTAT  
ACCTTCTCATACATCGCCCAAGAATGAACACTGTATCCCACCCTGCATG  
CCAACCCCTCCCACCCCACTCTGTGGAACAACTCTGAAACACAAAATA  
AAATAAAGTTCAAGTGTTTTATTGATTCAACAGTTTTACAGGATTTCGAG

[0979]

CAGTTATTTTTCTCCACCCTCCCAGGACATGGAATACACCACCCTCTCC  
CCCCGCACAGCCTTGAACATCTGAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTT  
TGGTCTCCACGTTCCACACAGTTTCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCCGGT  
CAGGGAGATGAAACCCTCCGGGCACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTC  
AACAGCTGAGGATTGTCCTCGGTGGTCCGGGATCACGGTTATCTGGAAGA  
AGCAGAAGAGCGGCGGTGGGAATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCG  
GTGGTGTGCGATCAGGCCCGCAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTC  
AAGCTGCTGCTCAGGGGGTCCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGC  
CCACGGCCCTCAGCATCAGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCA  
TGCGGATCTCGCTCAGGTCGCTGCAGTACGTGCAACACAGAACCACCA  
GGTTGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAAACTCATCGC  
GGGAAGGATGCTACCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAAT  
CAAGTGGTGCCCCCTCCAGAACACGCTGCCCACGTACATGATCTCCTTG  
GGCATGTGGCGGTTTACCACCTCCCGGTACCACATCACCTCTGGTTGA  
ACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGGAACCACAGGGGCCAGCACCGCCC  
CGCCCCCATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAATGGCAATGGA  
GGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCTGAACAAGTCTAT  
GTTGGCACAGCACAGGCATATGCTCATGCATCTCTTCAGCACTCTCAAC  
TCCTCGGGGGTCAAACCATATCCCAGGGCACGGGGAACCTTTGCAGG  
ACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCCTCGCACAGAACTTACATTG  
TGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGCACCGGGTGATCCTCCACC  
AGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCACAGCGTGGTAAGGGGGCCGGC  
CGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGCTGATCGTGTTGCGGACCGTGTC  
ATGATGCAGTTGCTTTCGGACATTTTCGTACTTGCTGTAGCAGAACCTG  
GTCCGGGCGCTGCACACCGATCGCCGGCGGCGGTCTCGGCGCTTGGA  
CGCTCGGTGTTGAAATTGTAACACAGCCACTCTCTCAGACCGTGCA  
GATCTAGGGCCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATCATGCCTGATGGCTCT  
GATCACATCGACCACCGTGGAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGATGCA  
ATTTTGTTGGGTTTCGGTGACGGCGGGGAGGGAAGAACAGGAAGAAC  
CATGATTAACTTTTAATCCAAACGGTCTCGGAGTACTTCAAATGAAGA  
TCGCGGAGATGGCACCTCTCGCCCCCGCTGTGTTGGTGGAATAACAG  
CCAGGTCAAAGGTGATACGGTTCTCGAGATGTTCCACGGTGGCTTCCAG  
CAAAGCCTCCACGCGCACATCCAGAAACAAGACAATAGCGAAAGCGGG  
AGGGTTCTCTAATTCTCAATCATCATGTTACACTCCTGCACCATCCCCA  
GATAATTTTCATTTTCCAGCCTTGAATGATTCGAAGTCTGAGGT  
AAATCCAAGCCAGCCATGATAAAGAGCTCGCGCAGAGCGCCCTCCACC  
GGCATTCTTAAGCACACCCTCATAATTCCAAGATATTCTGCTCCTGGTTC  
ACCTGCAGCAGATTGACAAGCGGAATATCAAAATCTCTGCCGCGATCCC  
TGAGCTCCTCCCTCAGCAATAACTGTAAGTACTCTTTCATATCCTCTCCG  
AAATTTTtagccatagGACCACCAGGAATAAGATTAGGGCAAGCCACA  
GTACAGATAAACCGAAGTCCTCCCCAGTGAGCATTGCCAAATGCAAGA  
CTGCTATAAGCATGCTGGCTAGACCCGGTGATATCTTCCAGATAACTGG  
ACAGAAAATCGCCCAGGCAATTTTAAAGAAAATCAACAAAAGAAAAAT  
CCTCCAGGTGGACGTTTAGAGCCTCGGGAACAACGATGAAGTAAATGC  
AAGCGGTGCGTTCCAGCATGGTTAGTTAGCTGATCTGTAGAAAAACA  
AAAATGAACATTAAACCATGCTAGCCTGGCGAACAGGTGGGTAAATCG  
TTCTCTCCAGCACCAGGCAGGCCACGGGGTCTCCGGCGCGACCTCGTA  
AAAATTGTGCGCTATGATTGAAAACCATCACAGAGAGACGTTCCCGGTG  
GCCGGCGTGAATGATTGACAAGATGAATACACCCCCGGAACATTGGC  
GTCCGCGAGTGAAAAAAGCGCCCGAGGAAGCAATAAGGCACTACAAT

[0980]

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| GCTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCGGATGAAGCACAAA<br>ATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAAATTACTCCCCTCCTGCACAGGCAGC<br>AAAGCCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAAGCCTCAGCGTCCATAG<br>CTTACCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCAAGAGTCAGAGAAAGGCTG<br>AGCTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCTCAATATATAGCCCAGATCTA<br>CACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAAAATACCCGCCAAATAATCACAC<br>ACGCCAGCACACGCCAGAAACCGGTGACACACTCAAAAAAATACGC<br>GCACTTCCTCAAACGCCCAAACACTGCCGTCATTTCCGGGTTCACGCT<br>ACGTCATCAAAACACGACTTTCAAATTCCGTCGACCGTTAAAAACGTCA<br>CCCGCCCCGCCCTAACGGTCGCCGTCTCTCAGCCAATCAGCGCCCCG<br>CATCCCCAAATTCAAACACCTCATTTGCATATTAACGCGCACAAAAAGT<br>TTGAGGTATATTATTGATGATGG |
| 曲美单抗 VL (SEQ ID NO:16)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 曲美单抗 VH (SEQ ID NO:17)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 曲美单抗 VH CDR1 (SEQ ID NO:18)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 曲美单抗 VH CDR2 (SEQ ID NO:19)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 曲美单抗 VH CDR3 (SEQ ID NO:20)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 曲美单抗 VL CDR1 (SEQ ID NO:21)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 曲美单抗 VL CDR2 (SEQ ID NO:22)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 曲美单抗 VL CDR3 (SEQ ID NO:23)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 德瓦鲁单抗(MEDI4736) VL (SEQ ID NO:24)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| MEDI4736 VH (SEQ ID NO:25)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| MEDI4736 VH CDR1 (SEQ ID NO:26)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| MEDI4736 VH CDR2 (SEQ ID NO:27)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| MEDI4736 VH CDR3 (SEQ ID NO:28)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| MEDI4736 VL CDR1 (SEQ ID NO:29)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| MEDI4736 VL CDR2 (SEQ ID NO:30)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| MEDI4736 VL CDR3 (SEQ ID NO:31)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| UbA76-25merPDIT 核苷酸(SEQ ID NO:32)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| UbA76-25merPDIT 多肽(SEQ ID NO:33)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| MAG-25merPDIT 核苷酸(SEQ ID NO:34)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| MAG-25merPDIT 多肽(SEQ ID NO:35)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Ub7625merPDIT_NoSFL 核苷酸(SEQ ID NO:36)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Ub7625merPDIT_NoSFL 多肽(SEQ ID NO:37)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| ChAdV68.5WTnt.MAG25mer (SEQ ID NO:2); 缺失 E1 (nt 577 至 3403)和 E3<br>(nt 27,125-31,825)序列的 AC_000011.1; 相应 ATCC VR-594 核苷酸在五个位<br>置被取代; 插入处于 CMV 启动子/增强子控制下的模型新抗原盒代替缺失的<br>E1; 盒 3'具有 SV40 polyA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 委内瑞拉马脑炎病毒[VEE] (SEQ ID NO:3) GenBank: L01442.2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| VEE-MAG25mer (SEQ ID NO:4); 含有 MAG-25merPDIT 核苷酸(碱基 30-<br>1755)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 委内瑞拉马脑炎病毒病毒株 TC-83 [TC-83](SEQ ID NO:5) GenBank:<br>L01443.1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| VEE 递送载体(SEQ ID NO:6); 缺失核苷酸 7544-11175 [甲病毒结构蛋白去除]<br>的 VEE 基因组                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| TC-83 递送载体(SEQ ID NO:7); 缺失核苷酸 7544-11175 [甲病毒结构蛋白去                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

[0981]

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 除]的 TC-83 基因组                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| VEE 产生载体(SEQ ID NO: 8); 缺失核苷酸 7544-11175、添加 5' T7 启动子、添加 3'限制性位点的 VEE 基因组                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| TC-83 产生载体(SEQ ID NO: 9); 缺失核苷酸 7544-11175、添加 5' T7 启动子、添加 3'限制性位点的 TC-83 基因组                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| VEE-UbAAY (SEQ ID NO:14); 插入 I 类 MHC 小鼠肿瘤表位 SIINFEKL (SEQ ID NO: 72)和 AH1-A5 的 VEE 递送载体                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| VEE-荧光素酶(SEQ ID NO: 15); 在 7545 处插入荧光素酶基因的 VEE 递送载体                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 泛素 (SEQ ID NO:38)>UbG76 0-228                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 泛素 A76 (SEQ ID NO:39)>UbA76 0-228                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| HLA-A2 (MHC I 类)信号肽(SEQ ID NO:40)>MHC 信号肽 0-78                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| HLA-A2 (MHC I 类)反式膜结构域(SEQ ID NO:41)>HLAA2 TM 结构域 0-201                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| IgK 前导序列(SEQ ID NO:42)>IgK 前导序列 0-60                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 人类 DC-Lamp (SEQ ID NO:43)>人类 DCLAMP 0-3178                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 小鼠 LAMP1 (SEQ ID NO:44)>小鼠 Lamp1 0-1858                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 人类 Lamp1 cDNA (SEQ ID NO:45)>人类 Lamp1 0-2339                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 破伤风类毒素核酸序列(SEQ ID NO:46)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 破伤风类毒素氨基酸序列(SEQ ID NO:47)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| PADRE 核苷酸序列(SEQ ID NO:48)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| PADRE 氨基酸序列(SEQ ID NO:49)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| WPRES (SEQ ID NO:50)>WPRES 0-593                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| IRES (SEQ ID NO:51)>eGFP_IRES_SEAP_插入 1746-2335                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| GFP (SEQ ID NO:52)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| SEAP (SEQ ID NO:53)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 萤火虫荧光素酶(SEQ ID NO:54)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| FMDV 2A (SEQ ID NO:55)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| ChAdV68-MAG-E4 缺失(SEQ ID NO: 57)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| CATCaTCAATAATATACCTCAAACCTTTTGTGCGCGTTAATATGCAAATGAGCGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGGATGAGCGACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTTGATGACGTGGTTGCGAGGAGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTCAAACGAGGTGTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTCTCTGACAGGAAATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGGGCCATTTTCGCGCGGAAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAATTTCCGCGTTTATGGCAGGGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGACTTTGACCGATTACGTGGGGGTTTCGATTACCGTGTTTTTACCTAAATTTCCCGGTACGGTGTCAAAGTCCGGTGTTTTTACGTAGGTGTGACGTGATCGCCAGGGTATTTAAACCTGCCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTCTCCTCCGCGCCGCGAGTCAGATCTACACTTTGAAAGTAGGGATAACAGGGTAATgacattgattgactagttGttaaTAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTAT |

[0982]

GCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGT  
ATTAGTCATCGCTATTACCATGgTGATGCGGTTTTTGGCAGTACACCAATGG  
GCGTGGATAGCGGTTTGA CTACG GGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTG  
ACGTCAATGGGAGTTTGT TTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAA  
ATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTA  
CGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAgcTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGC  
CTGGAACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACAGCGATCGC  
GccaccATGGCCGGGATGTTCCAGGCACTGTCCGAAGGCTGCACACCCTAT  
GATATTAACCAGATGCTGAATGTCTG GGGAGACCACCAGGTCTCTGGCCT  
GGAGCAGCTGGAGAGCATCATCAACTTCGAGAAGCTGACCGAGTGGAC  
AAGCTCCAATGTGATGCCTATCCTGTCCCCACTGACCAAGGGCATCCTGG  
GCTTCGTGTTTACCCTGACAGTGCCTTCTGAGCGGGGCCTGTCTTGCATC  
AGCGAGGCAGACGCAACCACACCAGAGTCCGCCAATCTGGGCGAGGAG  
ATCCTGTCTCAGCTGTACCTGTGGCCCCGGGTGACATATCACTCCCCCTTC  
TTACGCCTATCACCAGTTCGAGCGGAGAGCCAAGTACAAGAGACACTTC  
CCAGGCTTTGGCCAGTCTCTGCTGTTCCGGCTACCCCGTGTACGTGTTCCG  
CGATTGCGTGCAGGGCGACTGGGATGCCATCCGGTTTAGATACTGCGCAC  
CACCTGGATATGCACTGCTGAGGTGTAACGACACCAATTATTCCGCCCTG  
CTGGCAGTGGGCGCCCTGGAGGGCCCTCGCAATCAGGATTGGCTGGGCG  
TGCCAAGGCAGCTGGTGACACGCATGCAGGCCATCCAGAACGCAGGCC  
TGTGCACCCTGGTGGCAATGCTGGAGGAGACAATCTTCTGGCTGCAGGC  
CTTCTGATGGCCCTGACCGACAGCGGCCCAAGACAAACATCATCGTG  
GATTCCCAGTACGTGATGGGCATCTCCAAGCCTTCTTTCCAGGAGTTTGT  
GGACTGGGAGAACGTGAGCCAGAGCTGAATTCCACCGATCAGCCATTC  
TGGCAGGCAGGAATCCTGGCAAGGAACCTGGTGCCTATGGTGGCCACAG  
TGCAGGGCCAGAATCTGAAGTACCAGGGCCAGAGCCTGGTCATCAGCGC  
CTCCATCATCGTGTTTAACTGCTGGAGCTGGAGGGCGACTATCGGGACG  
ATGGCAACGTGTGGGTGCACACCCCACTGAGCCCCAGAACACTGAACG  
CCTGGGTGAAGGCCGTGGAGGAGAAGAAGGGCATCCCAGTGCACCTGG  
AGCTGGCCTCCATGACCAATATGGAGCTGATGTCTAGCATCGTGCACCAG  
CAGGTGAGGACATACGGACCCGTGTTTCATGTGCCTGGGAGGCCTGCTGA  
CCATGGTGGCAGGAGCCGTGTGGCTGACAGTGCGGGTGCTGGAGCTGTT  
CAGAGCCGCCAGCTGGCCAACGATGTGGTGCTGCAGATCATGGAGCTG  
TGCGGAGCAGCCTTTCGCCAGGTGTGCCACACCACAGTGCCATGGCCCA  
ATGCCTCCCTGACCCCCAAGTGGAACAATGAGACAACACAGCCTCAGAT  
CGCCAACCTGTAGCGTGTACGACTTCTTCGTGTGGCTGCACTACTATAGCG  
TGAGGGATACCCTGTGGCCCCGCGTGACATACCACATGAATAAGTACGCC  
TATCACATGCTGGAGAGGCGCGCCAAGTATAAGAGAGGCCCTGGCCAG  
GCGCAAAGTTTGTGGCAGCATGGACCCTGAAGGCCGCCGCCGCCGCCG  
GCCCCGGCCAGTATATCAAGGCTAACAGTAAGTTCATTGGAATCACAGA  
GCTGGGACCCGGACCTGGATAATGAGTTTAAACTCCCATTAAATGTGAG  
GGTTAATGCTTCGAGCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAA  
ACCACAAC TAGAATGCAGTGAAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGA  
TGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACA  
CAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGG  
TTTTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTAAATAACTATAACG  
GTCCTAAGGTAGCGAGTGAGTAGTGTCTGGGGCGGGGGAGGACCTGC  
ATGAGGGCCAGAATAACTGAAATCTGTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGC  
ATGAGCGGAAGCGGCTCCTTTGAGGGAGGGGTATTCAGCCCTTATCTGA  
CGGGGCGTCTCCCCCTCCTGGGCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATC

[0983]

CACGGTGGACGGCCGGCCCGTGCAGCCCGCGAACTCTTCAACCCTGACC  
TATGCAACCCTGAGCTCTTCGTCTGTTGGACGCAGCTGCCGCCGCAGCTG  
CTGCATCTGCCGCCAGCGCCGTGCGCGGAATGGCCATGGGCGCCCGGCTA  
CTACGGCACTCTGGTGGCCAACTCGAGTTCCACCAATAATCCCCGCCAGC  
CTGAACGAGGAGAAGCTGTTGCTGCTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTTGA  
CCCAGCGCCTGGGCGAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGC  
AGACGCGGGCCGCGGTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCA  
ATAAATAAACGGAGACGGTTGTTGATTTTAACACAGAGTCTGAATCTTTA  
TTTGATTTTTTCGCGCGCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATCATTGA  
GCACCCGGTGGATCTTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTTGGATGTT  
GAGGTACATGGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGC  
AGGGCCTCGTGCTCGGGGGTGGTGTTGTAAATCACCCAGTCATAGCAGG  
GGCGCAGGGCATGGTGTTGCACAATATCTTTGAGGAGGAGACTGATGGC  
CACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGTGTTTACAAATCTGTTGAGCTGGGAG  
GGATGCATGCGGGGGGAGATGAGGTGCATCTTGGCCTGGATCTTGAGAT  
TGCCGATGTTACCGCCCAGATCCCGCCTGGGGTTCATGTTGTGCAGGACC  
ACCAGCACGGTGTATCCGGTGCACCTTGGGGAATTTATCATGCAACTTGGA  
AGGGAAGGCGTGAAAGAATTTGGCGACGCCTTTGTGCCCGCCAGGTTT  
TCCATGCACTCATCCATGATGATGGCGATGGGCCCGTGGGCGGCGGCCTG  
GGCAAAGACGTTTCGGGGGTCGGACACATCATAGTTGTGGTCTTGGGTG  
AGGTTCATCATAGGCCATTTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTGCCGGACTG  
GGGGACAAAGGTTCCTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCTCACAGATCT  
GCATCTCCAGGCTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCGG  
GGCGATAAAGAACACGGTTTCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGCCGA  
AAGCAAGTTCCGGAGCAGCTGGGACTTGCCGCAGCCGCTGGGGCCGTA  
GATGACCCCGATGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGCT  
GCCGTCTCCCGGAGGAGGGGGGCCACCTCGTTCATCATCTCGCGCACG  
TGATGTTCTCGCGCACCAAGTTCCGCCAGGAGGCGCTCTCCCCCAGGG  
ATAGGAGCTCCTGGAGCGAGGCGAAGTTTTTCAGCGGCTTGAGTCCGTC  
GGCCATGGGCATTTTGGAGAGGGTTTGTGCAAGAGTTCCAGGCGGTCC  
CAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTCGATCCAGCAGACCTCCTCG  
TTTCGCGGGTTGGGACGGCTGCGGGAGTAGGGCACCAAGATGGGCG  
TCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGTCTTCCAGGGTCGCAGCGTCCGCGTCA  
GGGTGGTCTCCGTCACGGTGAAGGGGTGCGCGCCGGGCTGGGCGCTTG  
CGAGGGTGCCTTCAGGCTCATCCGGCTGGTTCGAAAACCGCTCCCGATC  
GGCGCCCTGCGCGTCCGGCCAGGTAGCAATTGACCATGAGTTCGTAGTTG  
AGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTTGGCGCGGAGCTTACCTTTGGAAGTCT  
GCCCCGAGGCGGGACAGAGGAGGGACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGGG  
CGAGGAAGACGGACTCGGGGGCGTAGGCGTCCGCGCCGCAGTGGGCGC  
AGACGGTCTCGCACTCCACGAGCCAGGTGAGGTTCGGGCTGGTTCGGGT  
CAAAAACCAGTTTCCCGCCGTTCTTTTGTATGCGTTTCTTACCTTTGGTCT  
CCATGAGCTCGTGTCCCCGCTGGGTGACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCC  
GTAGACCGACTTTATGGGCCGGTCTTCGAGCGGTGTGCCGCGGTCTCTCC  
TCGTAGAGGAACCCCGCCCACTCCGAGACGAAAGCCCGGGTCCAGGCC  
AGCACGAAGGAGGCCACGTGGGACGGGTAGCGGTCTGTTGTCCACCAGC  
GGGTCCACCTTTTCCAGGGTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATC  
CAGGAAGGTGATTGGCTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCG  
GCCGGGGGGGTATAAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTT  
CCGGATCGCTGTCCAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCTCG  
AAGGCGGGCATGACCTCGGCACTCAGGTTGTCAGTTTCTAGAAACGAGG

[0984]

AGGATTTGATATTGACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTCAAGAGCCCCTC  
GTCCATCTGGTCAGAAAAGACGATCTTTTTGTTGTCGAGCTTGGTGCGC  
AAGGAGCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGGAGCTTGGCGATGGAGCGCATG  
GTCTGGTTTTTTTTCTTGTGCGCGCGCTCCTTGGCGGCGATGTTGAGCTG  
CACGTA CTGCGCGCCACGCACTTCCATTGCGGGAAGACGGTGGTCAGC  
TCGTCGGGCACGATTCTGACCTGCCAGCCCCGATTATGCAGGGTGATGA  
GGTCCACACTGGTGGCCACCTCGCCGCGCAGGGGGCTCATTAGTCCAGCA  
GAGGCGTCCGCCCTTGC GCGAGCAGAAGGGGGGCAGGGGGTCCAGCAT  
GACCTCGTCGGGGGGGTGCGCATCGATGGTGAAGATGCCGGGCAGGAG  
GTCGGGGTCAAAGTAGCTGATGGAAGTGGCCAGATCGTCCAGGGCAGCT  
TGCCATTGCGGCACGGCCAGCGCGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTG  
CCCAGGGCATGGGATGGGTAAAGCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTC  
GTAGACGTAGAGGGGCTCCTCGAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAG  
CGCCCCCGCGGATGCTGGCGCGCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGAGG  
GGGCGAGGAGCCCCGGGCCAGGTTGGTGC GACTGGGCTTTTCGGCGC  
GGTAGACGATCTGGCGGAAAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGG  
GCCTTTGGAAGATGTTGAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGC  
GGATGAAGTGGGCGTAGGAGTCTTG CAGCTTGGCGACGAGCTCGGCGG  
TGA CTAGGACGTCCAGAGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCCTGGATGATGTC  
ATACTTGAGCTGTCCCTTTTGTTCACAGCTCGCGGTTGAGAAGGAACT  
CTTCGCGGTCTTCCAGTACTCTTCGAGGGGGAACCCGTCCTGATCTGCA  
CGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAACTGGTTGACGGCCTTG TAGGCGCAGC  
AGCCCTTCTCCACGGGGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCCTTGCGCAGGG  
AGGTGTGCGTGAGGGCGAAAGTGTCCCTGACCATGACCTTGAGGAACT  
GGTGCTTGAAGTCGATATCGTCGCAGCCCCCTGCTCCCAGAGCTGGAA  
GTCCGTGCGCTTCTTG TAGGCGGGGTTGGGCAAAGCGAAAGTAACATCG  
TTGAAGAGGATCTTGCCCGCGCGGGGCATAAAGTTGCGAGTGATGCGGA  
AAGGTTGGGGCACCTCGGCCCGGTTGTTGATGACCTGGGCGGCGAGCAC  
GATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTTGTGGCCACGATGTAGAGTTCCACG  
AATCGCGGACGGCCCTTGACGTGGGGCAGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGG  
TGAGCTCGTCGGGGTCTGCTGAGCCCGTGCTGCTCGAGCGCCAGTCGGC  
GAGATGGGGGTTGGCGCGGAGGAAGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCAG  
GGCGGTTTGCAGACGGTCCCGGTA CTGACGGAAGTCTGCCCCGACGGCC  
ATTTTTTCGGGGGTGACGCAGTAGAAGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGC  
GATCCCATTTGAGCTGGAGGCGGAGATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCC  
GGTCGTCCCCGGAGAGTTTCATGACCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTT  
GCCGAAGGACCCCATCCAGGTGTAGGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAAG  
AGCCTTTCGGTGCGAGGATGCGAGCCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCT  
GCCACCAATTGGAGGAATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCG  
ACGGCGCGCCGAACACTCGTGCTTGTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGC  
TCGCAACGCTGCACGGGATGCACGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTC  
CTTTGACGAGGAATTTCACTGGGAAGTGGAGTCTGTTGGCGCCTGCATCTC  
GTGCTGTACTACGTCTGTTGGTGGTGGCCTGGCCCTCTTCTGCCTCGATGG  
TGGTCATGCTGACGAGCCCGCGCGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCGC  
GAGCGGGTCGGAGAGCGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCC  
AGGGTCCTGAGACGCTGCGGAGTCAGGTCAGTGGGCAGCGGCGGCGCG  
CGGTTGACTTG CAGGAGTTTTTCCAGGGCGCGCGGGAGGTCCAGATGGT  
ACTTGATCTCCACCGCGCCATTGGTGGCGACGTCGATGGCTTG CAGGGT  
CCCGTGCCCCCTGGGGTGTGACCACCGTCCCCCGTTTCTTCTTGGGCGGCT  
GGGGCGACGGGGGCGGTGCCTCTTCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGAGG

[0985]

ACGCGCGCCGGGCGGCAGGGGCGGCTCGGGGCCCGGAGGCAGGGGCG  
GCAGGGGCACGTGCGCGCCGCGCGCGGGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCG  
GAGAAGACTGGCGTGAGCGACGACGCGACGGTTGACGTCCTGGATCTG  
ACGCCTCTGGGTGAAGGCCACGGGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGA  
GAGTTCGACAGAATCAATCTCGGTATCGTTGACGGCGGCCTGCCGCAGG  
ATCTCTTGACGTGCGCCGAGTTGTCTTGGTAGGCGATCTCGGTCATGAA  
CTGCTCGATCTCCTCCTCTTGAAGGTCTCCGCGGCCGGCGCGCTCCACG  
GTGGCCGCGAGGTCGTTGGAGATGCGGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCG  
TTCATGCCCGCCTCGTTCCAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGG  
GATCGCGGGCGCGCATGACCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCG  
CGTGAAGACCGCGTAGTTGCAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGT  
GGTGGCGATGTGCTCGGTGACGAAGAAATACATGATCCAGCGGCGGAGC  
GGCATCTCGCTGACGTGCGCCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGT  
AAAAGTCCACGGCGAAGTTGAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACGG  
TCAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCGCAC  
CTCGCGCTCGAAGGCCCGGGAGTTCCCTCCACTTCCTCTTCTCCTCCT  
CCACTAACATCTCTTCTACTTCCTCCTCAGGCGGCAGTGGTGGCGGGGG  
AGGGGGCCTGCGTCGCCGCGCGCGCACGGGCAGACGGTCGATGAAGCG  
CTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCGCATGGTCTCGGTGACGGCGCGC  
CCGTCTCGCGGGGCGCGCAGCGTGAAGACGCCGCGCGCATCTCCAGGT  
GGCCGGGGGGGTCCCCGTTGGGCAGGGAGAGGGCGCTGACGATGCATC  
TTATCAATTGCCCCGTAGGGACTCCGCGCAAGGACCTGAGCGTCTCGAG  
ATCCACGGGATCTGAAAACCGCTGAACGAAGGCTTCGAGCCAGTCGCA  
GTCGCAAGGTAGGCTGAGCACGGTTTCTTCTGGCGGGTCATGTTGGTTG  
GGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGTGATGAAGTTGAAATAGGCGGTT  
TGAGACGGCGGATGGTGGCGAGGAGCACCAGGTCTTTGGGCCCGGCTT  
GCTGGATGCGCAGACGGTCGGCCATGCCCCAGGCGTGGTCTGACACCT  
GGCCAGGTCCTTGTAGTAGTCCTGCATGAGCCGCTCCACGGGCACCTCC  
TCCTCGCCCCGCGCGGCCGTGCATGCGCGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGG  
GCTGGACGAGCGCCAGGTGCGCGACGACGCGCTCGGCGAGGATGGCTT  
GCTGGATCTGGGTGAGGGTGGTCTGGAAGTCATCAAAGTCGACGAAGC  
GGTGGTAGGCTCCGGTGTTGATGGTGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGA  
CCAGTTGACGGTCTGGTGGCCCGGACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGG  
CGCGAGTAGGCGCGCGTGTGCAAGATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCA  
GGTACTGGTAGCCGATGAGGAAGTGCGGCGGCGGCTGGCGGTAGAGCG  
GCCATCGCTCGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGCGAGGTCTTCGAGCATGGT  
GCGGTGGTAGCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCGGCGGCG  
GTGGTGGAGGCGCGCGGGAACCTCGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGC  
AGCGGCAGGAAGTAGTTCATGGTGGGCACGGTCTGGCCCGTGAGGCGC  
GCGCAGTCGTGGATGCTCTATACGGGCAAAAACGAAAGCGGTACGCGGC  
TCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCGAACGGGTGGGGCTGCGCGTGTA  
CCCCGGTTTCGAATCTCGAATCAGGCTGGAGCCGCAGCTAACGTGGTATT  
GGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCCTGCACCAACCCTCCAGGATACGGAG  
GCGGGTCGTTTTGCAACTTTTTTTGGAGGCCGGATGAGACTAGTAAGC  
GCGGAAAGCGGCCGACCGCGATGGCTCGCTGCCGTAGTCTGGAGAAGA  
ATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGCCCCGGTTCGAGGCCGGCCGGATT  
CCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCTGCCCCGTCGTTTCCAAGACCCCATAG  
CCAGCCGACTTCTCCAGTTACGGAGCGAGCCCCTCTTTTGTTTTGT  
TTTTGCCAGATGCATCCCGTACTGCGGCAGATGCGCCCCCACCACCCTCC  
ACCGCAACAACAGCCCCCTCCACAGCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAG

[0986]

CAGCAACTTCCAGCCACGACCGCCGCGGCCGCGCTGAGCGGGGCTGGA  
CAGAGTTATGATCACCAGCTGGCCTTGGAAGAGGGCGAGGGGCTGGCG  
CGCTGGGGGCGTCGTCGCCGAGCGGCACCCGCGCGTGCAGATGAAA  
AGGGACGCTCGCGAGGCCTACGTGCCCAAGCAGAACCTGTTTCAGAGAC  
AGGAGCGGCGAGGAGCCCGAGGAGATGCGCGCGGCCCGGTTCCACGCG  
GGGCGGGAGCTGCGGCGCGGCCTGGACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGA  
CGAGGATTTTCGAGGCGGACGAGCTGACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGC  
GCACGTGGCCGCGGCCAACCTGGTACGCGGTACGAGCAGACCGTGAA  
GGAGGAGAGCAACTTCCAAAAATCCTTCAACAACCACGTGCGCACCT  
GATCGCGCGCGAGGAGGTGACCCTGGGCCTGATGCACCTGTGGGACCTG  
CTGGAGGCCATCGTGCAGAACCCACCAGCAAGCCGCTGACGGCGCAG  
CTGTTCTTGGTGGTGCAGCATAGTCGGGACAACGAAGCGTTCAGGGAGG  
CGCTGCTGAATATCACCGAGCCCGAGGGCCGCTGGCTCCTGGACCTGGT  
GAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGGAGCGCGGGCTGCCGCTGTCC  
GAGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGTGCTGAGTTTGGGCAAGTACT  
ACGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCGTACGTGCCCATAGACAAGGAGGT  
GAAGATCGACGGGTTTTACATGCGCATGACCCTGAAAGTGCTGACCCTG  
AGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCAACGACAGGATGCACCGTGCGGTG  
AGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCTGAGCGACCAGGAGCTGATGCATAGT  
CTGCAGCGGGCCCTGACCGGGGCGGGACCGAGGGGGAGAGCTACTTT  
GACATGGGCGCGGACCTGCACTGGCAGCCCAGCCGCCGGGCTTGGAG  
GCGGCGGCAGGACCCTACGTAGAAGAGGTGGACGATGAGGTGGACGAG  
GAGGGCGAGTACCTGGAAGACTGATGGCGCGACCGTATTTTTGCTAGAT  
GCAACAACAACAGCCACCTCCTGATCCCGCGATGCGGGCGGCGCTGCAG  
AGCCAGCCGTCCGGCATTAACCTCCTCGGACGATTGGACCCAGGCCATGC  
AACGCATCATGGCGCTGACGACCCGCAACCCCGAAGCCTTTAGACAGCA  
GCCCCAGGCCAACCGGCTCTCGGCCATCCTGGAGGCCGTGGTGCCCTCG  
CGCTCCAACCCACGCACGAGAAGGTCCTGGCCATCGTGAACGCGCTGG  
TGGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAGGCCGCGCCTGGTGTACAACG  
CGCTGCTGGAGCGCGTGCCCCGCTACAACAGCACCAACGTGCAGACCA  
ACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCGAGGCCGTGGCCCAGCGCG  
AGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGATCCATGGTGGCGCTGAACGC  
CTTCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCCCCGGGGCCAGGAGGACTAC  
ACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATGGTGACCGAGGTGCCCCAGA  
GCGAGGTGTACCAGTCCGGGCGGGACTACTTCTTCCAGACCAGTCGCCA  
GGGCTTGCAGACCGTGAACTGAGCCAGGCTTTCAAGAACTTGCAGGG  
CCTGTGGGGCGTGACGGCCCCGGTTCGGGGACCGCGCGACGGTGTGAG  
CCTGCTGACGCCGAACTCGCGCCTGCTGCTGCTGCTGGTGGCCCCCTTC  
ACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTCGTACCTGGGCTACCTGATTA  
ACCTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGGCGCACGTGGACGAGCAGACCT  
ACCAGGAGATACCCACGTGAGCCGCGCCCTGGGCCAGGACGACCCGG  
GCAACCTGGAAGCCACCCTGAACTTTTTGCTGACCAACCGGTTCGCAGAA  
GATCCCGCCCCAGTACGCGCTCAGCACCGAGGAGGAGCGCATCCTGCGT  
TACGTGCAGCAGAGCGTGGGCCTGTTCTTCTGATGCAGGAGGGGGCCACCC  
CCAGCGCCGCGCTCGACATGACCGCGCGCAACATGGAGCCCAGCATGTA  
CGCCAGCAACCGCCCGTTCATCAATAAACTGATGGACTACTTGCATCGGG  
CGGCCGCCATGAACTCTGACTATTTACCAACGCCATCCTGAATCCCCAC  
TGGCTCCCGCCGCGGGGTTCTACACGGGCGAGTACGACATGCCCGACC  
CCAATGACGGGTTCTGTGGGACGATGTGGACAGCAGCGTGTCTCCCC  
CCGACCGGGTGCTAACGAGCGCCCCCTTGTGGAAGAAGGAAGGCAGCGA

[0987]

CCGACGCCCCGTCCTCGGCGCTGTCCGGCCGCGAGGGTGCTGCCGCGGCG  
GTGCCCCGAGGCCGCCAGTCCCTTTCCCGAGCTTGCCCTTCTCGCTGAACA  
GTATCCGCAGCAGCGAGCTGGGCAGGATCACGCGCCCGCGCTTGCTGGG  
CGAAGAGGAGTACTTGAATGACTCGCTGTTGAGACCCGAGCGGGAGAA  
GAACTTCCCCAATAACGGGATAGAAAGCCTGGTGACAAAGATGAGCCGC  
TGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGGGACGATCCCCGGGCGTCGCAG  
GGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCGCCCGTAAACGCCGGTGGCACGAC  
AGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGATGAGGACTCCGCCGACGACAGC  
AGCGTGTTGGACTTGGGTGGGAGTGGTAACCCGTTTCGCTCACCTGCGCC  
CCCGTATCGGGCGCATGATGTAAGAGAAACCGAAAATAAATGATACTCAC  
CAAGGCCATGGCGACCAGCGTGCGTTTCGTTTCTCTCTGTTGTTGTTGTA  
TCTAGTATGATGAGGCGTGCGTACCCGGAGGGTCCTCCTCCCTCGTACGA  
GAGCGTGATGCAGCAGGCGATGGCGGCGGCGGCGATGCAGCCCCCGCT  
GGAGGCTCCTTACGTGCCCCCGCGGTACCTGGCGCCTACGGAGGGGGCGG  
AACAGCATTCGTTACTCGGAGCTGGCACCCCTTGTAACGATACCACCCGTT  
GTACCTGGTGGAACAACAAGTCGGCGGACATCGCCTCGCTGAACTACCAG  
AACGACCACAGCAACTTCCTGACCACCGTGGTGACAGAACAAATGACTTCA  
CCCCACGGAGGCCAGCACCCAGACCATCAACTTTGACGAGCGCTCGCG  
GTGGGGCGGCCAGCTGAAAACCATCATGCACACCAACATGCCCAACGTG  
AACGAGTTCATGTACAGCAACAAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCC  
GCAAGACCCCCAATGGGGTGACAGTGACAGAGGATTATGATGGTAGTCA  
GGATGAGCTGAAGTATGAATGGGTGGAATTTGAGCTGCCCCGAAGGCAAC  
TTCTCGGTGACCATGACCATCGACCTGATGAACAACGCCATCATCGACAA  
TTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAACGGGGTGCTGGAGAGCGACATCGG  
CGTGAAGTTCGACACTAGGAACTTCAGGCTGGGCTGGGACCCCGTGACC  
GAGCTGGTCATGCCCCGGGTGTACACCAACGAGGCTTCCATCCCGATAT  
TGTCTTGCTGCCCGGCTGCGGGGTGGACTTCACCGAGAGCCGCCTCAGC  
AACCTGCTGGGCATTTCGCAAGAGGCAGCCCTTCCAGGAAGGCTTCCAGA  
TCATGTACGAGGATCTGGAGGGGGGCAACATCCCCGCGCTCCTGGATGT  
CGACGCCTATGAGAAAAGCAAGGAGGATGCAGCAGCTGAAGCAACTGC  
AGCCGTAGCTACCGCCTCTACCGAGGTCAGGGGCGATAATTTTGCAAGC  
GCCGCAGCAGTGGCAGCGGCCGAGGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATA  
GTCATTACGCCGGTGGAGAAGGATAGCAAGAACAGGAGCTACAACGTA  
CTACCGGACAAGATAAACACCGCCTACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACA  
ACTATGGCGACCCCGAGAAGGGCGTGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCAC  
CTCGGACGTCACCTGCGGCGTGAGCAAGTCTACTGGTTCGCTGCCCCGAC  
ATGATGCAAGACCCGGTCACCTTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACT  
ACCCGGTGGTGGGCGCCGAGCTCCTGCCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTT  
CAACGAGCAGGCCGTCTACTCGCAGCAGCTGCGCGCCTTCACCTCGCTT  
ACGCACGTCTTCAACCGCTTCCCCGAGAACCAGATCCTCGTCCGCCCGC  
CCGCGCCACCATTAACACCGTCAGTGAAAACGTTCTGCTCTCACAGA  
TCACGGGACCCTGCCGCTGCGCAGCAGTATCCGGGGAGTCCAGCGCGTG  
ACCGTTACTGACGCCAGACGCCGCACCTGCCCCCTACGTCTACAAGGCC  
TGGGCATAGTCGCGCCGCGCGTCTCTCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCC  
ATTCTCATCTCGCCAGTAATAACACCGGTTGGGGCCTGCGCGCGCCAG  
CAAGATGTACGGAGGCGCTCGCCAACGCTCCACGCAACACCCCGTGCGC  
GTGCGCGGGCACTTCCGCGCTCCCTGGGGCGCCCTCAAGGGCCGCGTG  
GGTCGCGCACCAACCGTCGACGACGTGATCGACCAGGTGGTGGCCGACG  
CGCGCAACTACACCCCGCCGCCGCGCCCGTCTCCACCGTGGACGCCGT  
CATCGACAGCGTGGTGGCcGACGCGCGCCGGTACGCCCCGCGCCAAGAGC

[0988]

CGGCGGCGGCGCATCGCCCGGCGGGCACCAGGAGCACCCCCGCCATGCGC  
GCGGCGCGAGCCTTGCTGCGCAGGGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCC  
ATGCTCAGGGCGGGCAGACGCGCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGG  
ACCCGGAGACGCGCGGGCCACGGCGGGCGGAGCGGGCCATCGCCAGCATG  
TCCCGCCCGCGGGCAGGGAACGTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACC  
GGTGTGCGCGTGCCCGTGCGCACCCGCCCCCTCGCACTTGAAGATGTT  
CACTTCGCGATGTTGATGTGTCCAGCGGGCAGGAGGATGTCCAAGCGC  
AAATTCAAGGAAGAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCC  
CTGCGGTGGTGAAGGAGGAAAGAAAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTCA  
AAAAGGACAAAAAGGAAGAAGAAAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGT  
TTGTGCGCGAGTTTCGCCCCCGGCGGGCGCGTGCAAGTGGCGCGGGCGGA  
AGGTGCAACCGGTGCTGAGACCCGGCACCACCGTGGTCTTCACGCCCC  
GCGAGCGCTCCGGCACCGCTTCCAAGCGCTCCTACGACGAGGTGTACGG  
GGATGATGATATTCTGGAGCAGGCGGGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGCT  
TACGGCAAGCGCAGCCGTTCCGCACCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATC  
CCGCTGGACCACGGCAACCCACGCCGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGC  
AGCAGGTGCTGCCGACCAGCGGGCGCGCGCCGGGGGTTCAAGCGCGAGG  
GCGAGGATCTGTACCCACCATGCAGCTGATGGTGCCCAAGCGCCAGAA  
GCTGGAAGACGTGCTGGAGACCATGAAGGTGGACCCGGACGTGCAGCC  
CGAGGTCAAGGTGCGGGCCCATCAAGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGGCGT  
GCAGACCGTGGACATCAAGATTCCACGGAGCCCATGGAAACGCAGAC  
CGAGCCCATGATCAAGCCCAGCACCAAGCACCATGGAGGTGCAGACGGAT  
CCCTGGATGCCATCGGCTCCTAGTCGAAGACCCCGGCGCAAGTACGGCG  
CGGCCAGCCTGCTGATGCCAACTACGCGCTGCATCCTTCCATCATCCCC  
ACGCCGGGCTACCGCGGCACGCGCTTCTACCGCGGTTCATACCAGCAGCC  
GCCGCCGCAAGACCACCACTCGCCGCCGCCGTGCGCCGACCGCCGCTGC  
AACCACCCCTGCCGCCCTGGTGCGGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGC  
ACCTCTGACCCTGCCGCGCGCGCGCTACCACCCGAGCATCGCCATTAA  
ACTTTCGCCCGCTTTGCAGATCAATGGCCCTCACATGCCGCCTTCGCGTTC  
CCATTACGGGCTACCGAGGAAGAAAACCGCGCCGTAGAAGGCTGGCGG  
GGAACGGGATGCGTCGCCACCACCACCGCGGGCGGCGCGCCATCAGCA  
AGCGGTGGGGGGAGGCTTCTGCCCCGCGCTGATCCCCATCATCGCCGC  
GGCGATCGGGGCGATCCCCGGCATTGCTTCCGTGGCGGTGCAGGCCTCT  
CAGCGCCACTGAGACACACTTGGAACATCTTGTAATAAACCaATGGACT  
CTGACGCTCCTGGTCCTGTGATGTGTTTTCGTAGACAGATGGAAGACATC  
AATTTTTCGTCCCTGGCTCCGCGACACGGCACGCGGCCGTTTCATGGGCA  
CCTGGAGCGACATCGGCACCAGCCAACCTGAACGGGGGCGCCTTCAATTG  
GAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAAGAATTTGGGTCCACGCTTAAAACC  
TATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGCACACAGGGCAGGCGCTGAGGGAT  
AAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAGCAGAAGGTGGTGGATGGGCTCGCC  
TCCGGCATCAACGGGGTGGTGGACCTGGCCAACCAGGCCGTGCAGCGG  
CAGATCAACAGCCGCTGGACCCGGTGCCGCCCGCCGGCTCCGTGGAG  
ATGCCGCAGGTGGAGGAGGAGCTGCCTCCCCTGGACAAGCGGGGCGAG  
AAGCGACCCCGCCCCGATGCGGAGGAGACGCTGCTGACGCACACGGAC  
GAGCCGCCCCCGTACGAGGAGGCGGTGAAACTGGGTCTGCCACCACG  
CGGCCCATCGCGCCCCTGGCCACCGGGGTGCTGAAACCCGAAAAGCCC  
GCGACCCCTGGACTTGCTTCCCTCCCCAGCCTTCCCGCCCCTCTACAGTGGC  
TAAGCCCCCTGCCGCCGTGGCCGTGGCCCGCGCGCGACCCGGGGGCAC  
CGCCCGCCCTCATGCGAACTGGCAGAGCACTCTGAACAGCATCGTGGGT  
CTGGGAGTGCAGAGTGTGAAGCGCCGCCGCTGCTATTAAACCTACCGTA

[0989]

GCGCTTAACTTGCTTGTCTGTGTGTGTATGTATTATGTCGCCGCCGCCGCT  
GTCCACCAGAAGGAGGAGTGAAGAGGCGCGTCGCCGAGTTGCAAGATG  
GCCACCCCATCGATGCTGCCCCAGTGGGCGTACATGCACATCGCCGGAC  
AGGACGCTTCGGAGTACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTTTGCCCGCGC  
CACAGACACCTACTTCAGTCTGGGGAACAAGTTTAGGAACCCACGGTG  
GCGCCACGCACGATGTGACCACCGACCGCAGCCAGCGGCTGACGCTG  
CGCTTCGTGCCCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTACTCGTACAAAGTGC  
GCTACACGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCTGGACATGGCCAGCA  
CCTACTTTGACATCCGCGGCGTGCTGGATCGGGGCCCTAGCTTCAAACCC  
TACTCCGGCACCCGCTACAACAGTCTGGCCCCCAAGGGAGCACCCAACA  
CTTGTCAGTGGACATATAAAGCCGATGGTGAAACTGCCACAGAAAAAAC  
CTATACATATGGAAATGCACCCGTGCAGGGCATTAAACATCACAAAAGATG  
GTATTCAACTTGGAAGTACACCCGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAAA  
ACCTATCAGCCTGAACCTCAAGTGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCAC  
TGGTACTGATGAAAAGTATGGAGGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAA  
ATGAAGCCTTGTTATGGTTCTTTTGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGG  
TCAGGCAAATGTGAAAACAGGAACAGGCACTACTAAAGAATATGACATA  
GACATGGCTTTCTTTGACAACAGAAGTGC GGCTGCTGCTGGCCTAGCTC  
CAGAAATTGTTTTGTATACTGAAAATGTGGATTTGGAAACTCCAGATACC  
CATATTGTATACAAAGCAGGCACAGATGACAGCAGCTCTTCTATTAATTTG  
GGTCAGCAAGCCATGCCAACAGACCTAACTACATTGGTTTCAGAGACA  
ACTTTATCGGGCTCATGTACTACAACAGCACTGGCAATATGGGGGTGCTG  
GCCGGTCAGGCTTCTCAGCTGAATGCTGTGGTTGACTTGCAAGACAGAA  
ACACCGAGCTGTCCTACCAGCTCTTGCTTGACTCTCTGGGTGACAGAAC  
CCGGTATTTTCAGTATGTGGAATCAGGCGGTGGACAGCTATGATCCTGATG  
TGCGCATTATTGAAAATCATGGTGTGGAGGATGAACTTCCCAACTATTGT  
TTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAGAACAGATACTTATCAGGGAATTAAGGC  
TAATGGAAGTATGATCAAACCACATGGACCAAAGATGACAGTGTCAATGAT  
GCTAATGAGATAGGCAAGGGTAATCCATTCGCCATGGAAATCAACATCCA  
AGCCAACCTGTGGAGGAACTTCCTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTG  
CCCGACTCTTACAAGTACACGCCGGCCAATGTTACCCTGCCACCAACA  
CCAACACCTACGATTACATGAACGGCCGGGTGGTGGCGCCCTCGCTGGT  
GGACTCCTACATCAACATCGGGGCGCGCTGGTCGCTGGATCCCATGGAC  
AACGTGAACCCCTTCAACCACCACCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCT  
CCATGCTCCTGGGCAACGGGCGCTACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCC  
CCAGAAATTTTCGCCATCAAGAGCCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCCCTACA  
CCTACGAGTGGAACCTTCGCAAGGACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTC  
CCTCGGCAACGACCTGCGCACGGACGGGGCCTCCATCTCCTTACCAGC  
ATCAACCTCTACGCCACCTTCTTCCCATGGCGCACAAACACGGCCTCCAC  
GCTCGAGGCCATGCTGCGCAACGACACCAACGACCAGTCCTTCAACGAC  
TACCTCTCGGCGGCCAACATGCTCTACCCCATCCCGGCCAACGCCACCA  
ACGTGCCCATCTCCATCCCCCTCGCGCAACTGGGCGGCCTTCCGCGGCTG  
GTCCTTACGCGTCTCAAGACCAAGGAGACGCCCTCGCTGGGCTCCGGG  
TTCGACCCCTACTTCGTCTACTCGGGCTCCATCCCTACCTCGACGGCAC  
CTTCTACCTCAACCACACCTTCAAGAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCT  
CCGTACGCTGGCCCGGCAACGACCGGCTCCTGACGCCCAACGAGTTCG  
AAATCAAGCGCACCGTCGACGGCGAGGGCTACAACGTGGCCCAAGTGCA  
ACATGACCAAGGACTGGTTCCTGGTCCAGATGCTGGCCCACTACAACAT  
CGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCCCGAGGGCTACAAGGACCGCATGTAC  
TCCTTCTTCCGCAACTTCCAGCCCATGAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGG

[0990]

TCAACTACAAGGACTACCAGGCCGTCAACCCTGGCCTACCAGCACAAACAA  
CTCGGGCTTCGTTCGGCTACCTCGCGCCCAACCATGCGCCAGGGCCAGCCC  
TACCCCGCCAACTACCCCTACCCGCTCATCGGCAAGAGCGCCGTCACCA  
GCGTCACCCAGAAAAAGTTCCTCTGCGACAGGGTCATGTGGCGCATCCC  
CTTCTCCAGCAACTTCATGTCCATGGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCAG  
AACATGCTCTATGCCAACTCCGCCCACGCGCTAGACATGAATTCGAAGT  
CGACCCCATGGATGAGTCCACCCCTTCTCTATGTTGCTTCGAAGTCTTCG  
ACGTCGTCCGAGTGCACCAGCCCCACCGCGGCGTCATCGAGGCCGTCTA  
CCTGCGCACCCCCCTTCTCGGGCCGGTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTT  
CTTGCAAGCCATGGCCGCGGGCTCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATC  
ATCCGCGACCTGGGCTGCGGGCCCTACTTCCTGGGCACCTTCGATAAGC  
GCTTCCCGGGATTTCATGGCCCCGCACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAA  
CACGGCCGCGCGAGACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCCTG  
GAACCCGCGCTCGAACACCTGCTACCTCTTCGACCCCTTCGGGTTCTCG  
GACGAGCGCCTCAAGCAGATCTACCAGTTCGAGTACGAGGGCCTGCTGC  
GCCGCAGCGCCCTGGCCACCGAGGACCGCTGCGTCACCCCTGGAAAAGT  
CCACCCAGACCGTGCAGGGTCCGCGCTCGGCCCGCCTGCGGGCTCTTCTG  
CTGCATGTTCTGACGCTTCGTGCACTGGCCCGACCGCCCCATGGAC  
AAGAACCCACCATGAACTTGCTGACGGGGGTGCCAACGGCATGCTCC  
AGTCGCCCCAGGTGGAACCCACCCTGCGCCGCAACCAGGAGGCGCTCT  
ACCGCTTCCTCAACTCCCACTCCGCTACTTTCGCTCCCACCGCGCGCGC  
ATCGAGAAGGCCACCGCCTTCGACCGCATGAATCAAGACATGTAAACCG  
TGTGTGTATGTTAAATGTCTTTAATAAACAGCACTTTCATGTTACACATGC  
ATCTGAGATGATTTATTTAGAAATCGAAAGGGTTCTGCCGGGTCTCGGCA  
TGGCCCCGCGGGCAGGGACACGTTGCGGAACTGGTACTTGGCCAGCCAC  
TTGAACTCGGGGATCAGCAGTTTGGGCAGCGGGGTGTCGGGGAAGGAG  
TCGGTCCACAGCTTCCGCGTCAGTTGCAGGGCGCCAGCAGGTCCGGCG  
CGGAGATCTTGAAATCGCAGTTGGGACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGTT  
GCGGTACACGGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTC  
ACGCTCGCCAGCACCGTCGCGTCGGTGATGCTCTCCACGTTCGAGGTCTT  
CGGCGTTGGCCATCCCGAAGGGGGTTCATCTTGCAAGGTCTGCCTTCCCATG  
GTGGGCACGCACCCGGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATCA  
GCATCATCTGGGCCTGGTCGGCGTTTCATCCCCGGGTACATGGCCTTCATG  
AAAGCCTCCAATTGCCTGAACGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCTCGGTGA  
AGAAGACCCCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTTGGTGGCGCACCCGG  
CGTCGTGCACGCAGCAGCGCGCGTCGTTGTTGGCCAGCTGCACCACGCT  
GCGCCCCAGCGGTTCTGGGTGATCTTGGCCCGGTGCGGGTTCTCCTTC  
AGCGCGCGCTGCCCGTTCTCGCTCGCCACATCCATCTCGATCATGTGCTC  
CTTCTGGATCATGGTGGTCCCGTGCAGGCACCGCAGCTTGCCCTCGGCCT  
CGGTGCACCCGTGCAGCCACAGCGCGCACCCGGTGCCTCCAGTTCTT  
GTGGGCGATCTGGGAATGCGCGTGCACGAAGCCCTGCAGGAAGCGGCC  
CATCATGGTGGTCAGGGTCTTGTGCTAGTGAAGGTCAGCGGAATGCCG  
CGGTGCTCCTCGTTGATGTACAGGTGGCAGATGCGGCGGTACACCTCGC  
CCTGCTCGGGCATCAGCTGGAAGTTGGCTTTCAGGTGCGGTCTCCACGCG  
GTAGCGGTCCATCAGCATAGTCATGATTTCCATAACCTTCTCCCAGGCCG  
AGACGATGGGCAGGCTCATAGGGTTCTTACCATCATCTTAGCGCTAGCA  
GCCGCGGCCAGGGGGTTCGCTCTCGTCCAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGC  
CGTCTTCTCGGTGATCCGCACCGGGGGGTAGCTGAAGCCCACGGCCGC  
CAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTTCGTCCTCGCTGTCCTGGCTGACGTCTT  
GCAGGACCACATGCTTGGTCTTGGGGGTTCTTCTTGGGCGGCAGCGG

[0991]

CGGCGGAGATGTTGGAGATGGCGAGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCAC  
CACTACTATCTCTTCTCTTCTTGGTCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTAT  
GTCTCTTCGGGGGCGAGAGGCGGAGGCGACGGGCTCTCGCCGCCGCGAC  
TTGGCGGATGGCTGGCAGAGCCCCCTTCCGCGTTCGGGGGTGCGCTCCCG  
GCGGCGCTCTGACTGACTTCTCTCCGCGGCCCGCCATTGTGTTCTCCTAGG  
GAGGAACAACAAGCATGGAGACTCAGCCATCGCCAACCTCGCCATCTGC  
CCCCACCGCCGACGAGAAGCAGCAGCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGC  
CCCGCCGCCAGCCCCGCCACCTCCGACGCGGCCGTCCCAGACATGCAA  
GAGATGGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGGCTATGTGACGCCCGCGG  
AGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTGCCTTTTTACAAGAAGAGATACACC  
AAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAATGAGCAGAGTCAGGCTGGG  
CTCGAGCATGACGGCGACTACCTCCACCTGAGCGGGGGGGAGGACGCG  
CTCATCAAGCATCTGGCCCGGCAGGCCACCATCGTCAAGGATGCGCTGC  
TCGACCGCACCGAGGTGCCCCCTCAGCGTGGAGGAGCTCAGCCGCGCCT  
ACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGCGCGTGCCCCCAAGCGCCAGCCCAA  
TGGCACCTGCGAGCCCAACCCGCGCCTCAACTTCTACCCGGTCTTCGCG  
GTGCCCGAGGCCCCGGCCACCTACCACATCTTTTTCAAGAACCAAAAAGA  
TCCCCGTCTCCTGCCGCGCCAACCGCACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAA  
CCTGGGTCCCGGCGCCCGCCTACCTGATATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTG  
CCAAGATCTTCGAGGGTCTGGGCAGCGACGAGACTCGGGCCGCGAACG  
CTCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGCATGAGCACACAGCGCCCTGGTCG  
AGTTGGAAGGCGACAACGCGCGGCTGGCGGTGCTCAAACGCACGGTCG  
AGCTGACCCATTTCGCCTACCCGGTCTGAACCTGCCCCCAAGTCATG  
AGCGCGGTGATGGACCAGGTGCTCATCAAGCGCGCGTCGCCCATCTCCG  
AGGACGAGGGCATGCAAGACTCCGAGGAGGGCAAGCCCGTGGTCAGCG  
ACGAGCAGCTGGCCCGGTGGCTGGGTCCCTAATGCTAGTCCCCAGAGTTT  
GGAAGAGCGGCGCAAACTCATGATGGCCGTGGTCCTGGTGACCGTGGA  
GCTGGAGTGCCCTGCGCCGCTTCTTCGCCGACGCGGAGACCCTGCGCAAG  
GTCGAGGAGAACCTGCACTACCTCTTCAGGCACGGGTTCGTGCGCCAGG  
CCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGACCAACCTGGTCTCCTACATGGG  
CATCTTGACGAGAACCGCCTGGGGCAGAACGTGCTGCACACCACCCTG  
CGCGGGGAGGCCCCGGCGCGACTACATCCGCGACTGCGTCTACCTCTACC  
TCTGCCACACCTGGCAGACGGGCATGGGCGTGTGGCAGCAGTGTCTGGA  
GGAGCAGAACCTGAAAGAGCTCTGCAAGCTCCTGCAGAAGAACCTCAA  
GGGTCTGTGGACCGGGTTTCGACGAGCGCACCAACCGCCTCGGACCTGGC  
CGACCTCATTTTCCCCGAGCGCCTCAGGCTGACGCTGCGCAACGGCCTG  
CCCGACTTTATGAGCCAAAGCATGTTGCAAACTTTTCGCTCTTTCATCCT  
CGAACGCTCCGGAATCCTGCCCGCCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGAC  
TTCGTGCCGCTGACCTTCCGCGAGTGCCCCCGCGCTGTGGAGCCACT  
GCTACCTGCTGCGCCTGGCCAACTACCTGGCCTACCACTCGGACGTGATC  
GAGGACGTCAGCGGCGAGGGCCTGCTCGAGTGCCACTGCCGCTGCAAC  
CTCTGCACGCCGCACCGCTCCCTGGCCTGCAACCCCCAGCTGCTGAGCG  
AGACCCAGATCATCGGCACCTTCGAGTTGCAAGGGCCCAGCGAAGGCG  
AGGGTTCAGCCGCCAAGGGGGGTCTGAAACTCACCCCGGGGCTGTGGA  
CCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTCGTGCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAG  
ATCAGGTTCTACGAGGACCAATCCCATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTGCG  
CCTGCGTCATCACCCAGGGGGCGATCCTGGCCCAATTGCAAGCCATCCA  
GAAATCCCGCCAAGAATTCTTGCTGAAAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTC  
GACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTCAACCCCGGCTTCCCCCAGGATGCCC  
CGAGGAAACAAGAAGCTGAAAGTGAGCTGCCGCCCGTGAGGATTG

[0992]

GAGGAAGACTGGGAGAACAGCAGTCAGGCAGAGGAGGAGGAGATGGA  
GGAAGACTGGGACAGCACTCAGGCAGAGGAGGACAGCCTGCAAGACA  
GTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAGGCAGAGGAGGAGGTGGAAGAAGCA  
GCCGCCGCCAGACCGTCGTCTCGGCGGGGGAGAAAGCAAGCAGCACG  
GATACCATCTCCGCTCCGGGTCGGGGTCCCGCTCGACCACACAGTAGAT  
GGGACGAGACCGGACGATTCCCGAACCCACCACCCAGACCGGTAAGA  
AGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCTGGCGGGGGCACAAAAACGCCATCG  
TCTCCTGCTTGCAGGCCTGCGGGGGCAACATCTCCTTCACCCGGCGCTA  
CCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAACCTTTCCCCGCAACATCTTGCACTACT  
ACCGTCACCTCCACAGCCCCTACTACTTCCAAGAAGAGGCAGCAGCAGC  
AGAAAAAGACCAGCAGAAAACCAGCAGCTAGAAAATCCACAGCGGGC  
GCAGCAGGTGGACTGAGGATCGCGGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGG  
GAGCTGAGGAACCGGATCTTTCCACCCCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAG  
TCGGGGGGCAGGAGCAGGAAGTCAAGAACCGTTCTCTGCGCTC  
GCTCACCCGCAGTTGTCTGTATCACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGC  
ACTCTCGAGGACGCCGAGGCTCTCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCACTC  
TTAAAGAGTAGCCCGCGCCCGCCCAGTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTA  
CGTCACCTGTGCCCTTCGCCCTAGCCGCTCCACCCATCATCATGAGCAA  
AGAGATTCCCACGCCTTACATGTGGAGCTACCAGCCCCAGATGGGCCTG  
GCCGCCGGTGCCGCCCAGGACTACTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCG  
CCGGGCCCGCGATGATCTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCCCACCGAAA  
CCAGATACTCCTAGAACAGTCAGCGCTCACCGCCACGCCCCGCAATCAC  
CTCAATCCGCGTAATTGGCCCCGCCGCCCTGGTGTACCAGGAAATTCCCCA  
GCCACGACCGTACTACTTCCGCGAGACGCCCAGGCCGAAGTCCAGCTG  
ACTAACTCAGGTGTCCAGCTGGCGGGCGGCGCCACCCTGTGTCTGTCACC  
GCCCGCTCAGGGTATAAAGCGGCTGGTGATCCGGGGCAGAGGCACACA  
GCTCAACGACGAGGTGGTGAGCTCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGA  
GTCTTCCAACTCGCCGGATCGGGGAGATCTTCCCTTCACGCCTCGTCAGGC  
CGTCTGACTTTGGAGAGTTTCGTCTCGCAGCCCCGCTCGGGTGGCATC  
GGCACTCTCCAGTTCGTGGAGGAGTTCACCTCCCTCGGTCTACTTCAACC  
CCTTCTCCGGCTCCCCCGGCCACTACCCGGACGAGTTCATCCCGAAGTTC  
GACGCCATCAGCGAGTCGGTGGACGGCTACGATTGAAACTAATCACCCC  
CTTATCCAGTGAAATAAAGATCATATTGATGATGATTTTACAGAAATAAAA  
AATAATCATTTGATTTGAAATAAAGATACAATCATATTGATGATTTGAGTTT  
AACAAAAAATAAAGAATCACTTACTTGAAATCTGATACCAGGTCTCTGT  
CCATGTTTTCTGCCAACACCACTTCACTCCCCTCTTCCCAGCTCTGGTAC  
TGCAGGCCCCGGCGGGCTGCAAACCTCCTCCACACGCTGAAGGGGATGT  
CAAATTCCTCCTGTCCCTCAATCTTCATTTATCTTCTATCAGATGTCCAA  
AAAGCGCGTCCGGGTGGATGATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGAT  
GCAGACAACGCACCGACCGTGCCCTTCATCAACCCCCCTTCGTCTCTTC  
AGATGGATTCCAAGAGAAGCCCCCTGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGGCC  
GACCCCGTCAACCACCAAGAACGGGGAAATCACCCCTCAAGCTGGGAGAG  
GGGGTGGACCTCGATTCCCTCGGGAAAACCTCATCTCCAACACGGCCACCA  
AGGCCGCCGCCCTCTCAGTTTTTCCAACAACACCATTTCCCTTAACATG  
GATCACCCCTTTTACACTAAAGATGGAAAATTATCCTTACAAGTTTCTCC  
ACCATTAATATACTGAGAACAAGCATTCTAAACACACTAGCTTTAGGTT  
TTGGATCAGGTTTAGGACTCCGTGGCTCTGCCCTGGCAGTACAGTTAGTC  
TCTCCACTTACATTTGATACTGATGGAAACATAAAGCTTACCTTAGACAG  
AGGTTTGCATGTTACAACAGGAGATGCAATTGAAAGCAACATAAGCTGG  
GCTAAAGGTTTAAAATTTGAAGATGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAA

[0993]

ATGGGTTAGAGTTTGGGAAGCAGTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGC  
TTACCCAATCCAAGTTAAACTTTGGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAG  
GAGCCATAATGGCTGGTAACAAAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGAC  
AACACCTGATCCATCACCAAACGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGCA  
AAACTAACACTTTGCTTGACTAAATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGT  
GTCAGTCTTAGTTGTAGGAAGTGGAACCTAAACCCCATTAAGTGGCACC  
GTAAGCAGTGCTCAGGTGTTTCTACGTTTTTGATGCAAACGGTGTTCTTTT  
AACAGAACATTCTACACTAAAAAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGAT  
AGCATAGATGGCACTCCATATACCAATGCTGTAGGATTCATGCCCAATTTA  
AAAGCTTATCCAAAGTCACAAAGTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGG  
GCAAGTATACATGAATGGAGATGTTTCAAAACCTATGCTTCTCACTATAAC  
CCTCAATGGTACTGATGACAGCAACAGTACATATTCAATGTCATTTTCATA  
CACCTGGACTAATGGAAGCTATGTTGGAGCAACATTTGGGGCTAACTCTT  
ATACCTTCTCATACATCGCCCAAGAATGAACACTGTATCCCACCCTGCAT  
GCCAACCCCTTCCCACCCCACTCTGTGGAACAACTCTGAAACACAAAAT  
AAAATAAAGTTCAAGTGTTTTATTGATTCAACAGTTTTACAGGATTTCGAG  
CAGTTATTTTTCTCCACCCTCCCAGGACATGGAATACACCACCCTCTCC  
CCCCGCACAGCCTTGAACATCTGAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTT  
GGTCTCCACGTTCCACACAGTTTCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTC  
AGGGAGATGAAACCCCTCCGGGCACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTCA  
ACAGCTGAGGATTGTCCTCGGTGGTCGGGATCACGGTTATCTGGAAGAA  
GCAGAAGAGCGGCGGTGGGAATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGG  
TGGTGTCGCATCAGGCCCGCAGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCA  
AGCTGCTGCTCAGGGGGTCCGGGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCC  
CACGGCCCTCAGCATCAGTCGTCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCATG  
CGGATCTCGCTCAGGTGCTGTCAGTACGTGCAACACAGAACCACCAGGT  
TGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACGCTCCAGCCGAACTCATCGCGGG  
AAGGATGCTACCCACGTGGCCGTCGTACCAGATCCTCAGGTAAATCAAG  
TGGTGCCCCCTCCAGAACACGCTGCCACGTACATGATCTCCTTGGGCAT  
GTGGCGGTTTACCACCTCCCGGTACCACATCACCTCTGGTTGAACATGC  
AGCCCCGGATGATCCTGCGGAACCACAGGGCCAGCACCGCCCCGCCCCG  
CATGCAGCGAAGAGACCCCGGGTCCCGGCAATGGCAATGGAGGACCCA  
CCGCTCGTACCCGTGGATCATCTGGGAGCTGAACAAGTCTATGTTGGCAC  
AGCACAGGCATATGCTCATGCATCTCTTCAGCACTCTCAACTCCTCGGGG  
GTCAAAACCATATCCCAGGGCACGGGGAACTCTTGCAAGGACAGCGAAC  
CCCGCAGAACAGGGCAATCCTCGCACAGAACTTACATTGTGCATGGACA  
GGGTATCGCAATCAGGCAGCACCGGGTGATCCTCCACCAGAGAAGCGCG  
GGTCTCGGTCTCCTCACAGCGTGGTAAGGGGGCCGGCCGATACGGGTGA  
TGGCGGGACGCGGCTGATCGTGTTCCGACCGTGTCATGATGCAGTTGC  
TTTCGGACATTTTCGTACTTGCTGTAGCAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCA  
CACCGATCGCCGGCGCGGTCTCGGCGCTTGGAACGCTCGGTGTTGAAA  
TTGTAAAACAGCCACTCTCTCAGACCGTGCAGCAGATCTAGGGCCTCAG  
GAGTGATGAAGATCCCATCATGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACC  
GTGGAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGATGCAATTTTGTGGGTTTCGG  
TGACGGCGAGCCTCGGGAACAACGATGAAGTAAATGCAAGCGGTGCGT  
TCCAGCATGGTTAGTTAGCTGATCTGTAGAAAAAACAATAATGAACATTA  
AACCATGCTAGCCTGGCGAACAGGTGGGTAAATCGTTCTCTCCAGCACC  
AGGCAGGCCACGGGGTCTCCGGCGCGACCCTCGTAAAAATTGTCGCTAT  
GATTGAAAACCATCACAGAGAGACGTTCCCGGTGGCCGGCGTGAATGAT  
TCGACAAGATGAATACACCCCCGGAACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAA

AAGCGCCCCGAGGAAGCAATAAGGCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCA  
GCAAAGCGATGCCATGCGGATGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAA  
AATGTAATTACTCCCCTCCTGCACAGGCAGCAAAGCCCCCGATCCCTCCA  
GGTACACATACAAAGCCTCAGCGTCCATAGCTTACCGAGCAGCAGCACA  
CAACAGGCGCAAGAGTCAGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTGTCCACCC  
GCTCTCTGCTCAATATATAGCCCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAG  
TCTAAAAATAACCCGCCAAATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAA  
ACCGGTGACACACTCAAAAAAATACGCGCACTTCTCAAACGCCCAAA  
ACTGCCGTCAATTTCCGGGTTCACGCTACGTCATCAAAACACGACTTTC  
AAATTCGTCGACCGTTAAAAACGTCACCCGCCCGCCCCCTAACGGTCG  
CCCGTCTCTCAGCCAATCAGCGCCCCGCGATCCCCAAATTCAAACACCTCA  
TTTGATATTAAACGCGCACAAAAAGTTTGAGGTATATTATTGATGATG

**ChAdV68-GFP-E4 缺失(SEQ ID NO: 58); 粗斜体=GFP 转基因**

CATCaTCAATAATATACCTCAAACTTTTGTGCGCGTTAATATGCAAATGA  
GGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGGATGAGC  
GACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTTGATGACGTGGTTGCGAGG  
AGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTCAAACGAGGT  
GTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTCTCTGACAGGAA  
ATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGGGGCCATTTTCGCGCG  
AAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAATTTTCGCGTTTATGGCAG  
GGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGACTTTGACCGATTACGTGGGG  
GTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAATTTCCGCGTACGGTGTCAAAGT  
CCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCTAGCTGATCGCCAGGGTATTTAAACCTGC  
GCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTCT  
CCTCCGCGCCGCGAGTCAGATCTACACTTTGAAAGTAGGGATAACAGGG  
TAATgacattgattattgactagttGttaaTAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAG  
CCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCCGCCTG  
GCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTT  
CCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTA  
TTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAA  
GTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCCGCCTGGCATTAT  
GCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGT  
ATTAGTCATCGCTATTACCATGgTGATGCGGTTTTTGGCAGTACACCAATGG  
GCGTGATAGCGGTTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTG  
ACGTCAATGGGAGTTTGTTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAA  
ATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTA  
CGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAgcTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGC  
CTGGAACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACAGCGATCGC  
Gccacc

**ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATCCTGG  
TCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGA  
GGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCTGAAGTTCATCTGC  
ACCACCGGCAAGCTGCCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCCTGA  
CCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCAC  
GACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCAT  
CTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTC  
GAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCA  
AGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAATAACAG  
CCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGA  
ACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGACGCTCGCCGA**

[0994]

[0995]

**CCACTACCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCC**  
**GACAACCCTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGA**  
**GAAGCGCGATCACATGGTCTGCTGGAGTTCTGTGACCGCCGCGGGGATC**  
**ACTCTCGGCATGGACGAGCTTACAAGTAG**  
tgaGTTTAAACTCCCATTAAATGTGAGGGTTAATGCTTCGAGCAGACATG  
ATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAA  
AAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCAT  
TATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTT  
TCAGGTTTCAAGGGGAGATGTGGGAGGTTTTTTTAAAGCAAGTAAAACCTC  
TACAAATGTGGTAAAATAACTATAACGGTCCTAAGGTAGCGAGTGAGTAG  
TGTTCTGGGGCGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAATAACTGAAATC  
TGTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCGGCTCCTTTGA  
GGGAGGGGTATTGAGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTCCCTCCTGGGCG  
GGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGGCCGGCCCGTGC  
AGCCCGCGAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAGCTCTTCGTC  
GTTGGACGCAGCTGCCGCCGCAGCTGCTGCATCTGCCGCCAGCGCCGTG  
CGCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACTCTGGTGGCCAACT  
CGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGAGGAGAAGCTGTTGCT  
GCTGATGGCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGCGCCTGGGCGAGCTGACC  
CAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGACGCGGGCCGCGGTTGCCACG  
GTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAATAAATAAACGGAGACGGTTGTT  
GATTTTAAACACAGAGTCTGAATCTTTATTTGATTTTTCGCGCGCGGTAGGC  
CCTGGACCACCGGTCTCGATCATTGAGCACCCGGTGGATCTTTTCCAGGA  
CCCGGTAGAGGTGGGCTTGGATGTTGAGGTACATGGGCATGAGCCCGTC  
CCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGCAGGGCCTCGTGCTCGGGGGTGGTG  
TTGTAAATCACCCAGTCATAGCAGGGGCGCAGGGCATGGTGTTCACAA  
TATCTTTGAGGAGGAGACTGATGGCCACGGGCAGCCCTTTGGTGTAGGT  
GTTTACAAATCTGTTGAGCTGGGAGGGATGCATGCCGGGGGAGATGAGG  
TGCATCTTGGCCTGGATCTTGAGATTGGCGATGTTACCGCCCAGATCCCG  
CCTGGGGTTCATGTTGTGCAGGACCACCAGCACGGTGTATCCGGTGCAC  
TTGGGGGAATTTATCATGCAACTTGGAAGGGAAGGCGTGAAAGAATTTGG  
CGACGCCCTTTGTGCCCGCCCAGGTTTTCCATGCACTCATCCATGATGATG  
GCGATGGGCCCCTGGGCGGCGGCCCTGGGCAAAGACGTTTCGGGGGTGCG  
GACACATCATAGTTGTGGTCTTGGGTGAGGTCATCATAGGCCATTTAAT  
GAATTTGGGCGGAGGGTGCCGGACTGGGGGACAAAGGTCCCTCGATC  
CCGGGGGGCGTAGTTCCCTCACAGATCTGCATCTCCAGGCTTTGAGCTC  
GGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCGGGGCGATAAAGAACACGGTTTCC  
GGGGCGGGGAGATGAGCTGGGCGGAAAGCAAGTTCCGGAGCAGCTGG  
GACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCCGTAGATGACCCCGATGACCGGCTGCA  
GGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGCTGCCGTCTCCCGGAGGAGGGGGG  
CCACCTCGTTCATCATCTCGCGCACGTGCATGTTCTCGCGCACCAAGTTCC  
GCCAGGAGGCGCTCTCCCCCAGGGATAGGAGCTCCTGGAGCGAGGCG  
AAGTTTTTCAGCGGCTTGAGTCCGTGCGCCATGGGCATTTTGGAGAGGG  
TTTGTTCGAAGAGTTCCAGGCGGTCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTAC  
GGCATCTCGATCCAGCAGACCTCCTCGTTTCGCGGGTTGGGACGGCTGC  
GGGAGTAGGGCACCAGACGATGGGCGTCCAGCGCAGCCAGGGTCCGGT  
CCTTCCAGGGTCGCAGCGTCCGCGTCAGGGTGGTCTCCGTACGGTGAA  
GGGGTGCGCGCCGGGCTGGGCGCTTGCGAGGGTGCGCTTCAGGCTCATC  
CGGCTGGTTCGAAAACCGCTCCCGATCGGCGCCCTGCGCGTCGGCCAGGT  
AGCAATTGACCATGAGTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCGCGTGGCCTTT

[0996]

GGCGCGGAGCTTACCTTTGGAAGTCTGCCCCGAGGCGGGACAGAGGAG  
GGACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGGGCGAGGAAGACGGACTCGGGGGC  
GTAGGCGTCCGCGCCGCACTGGGCGCAGACGGTCTCGCACTCCACGAG  
CCAGGTGAGGTGCGGGCTGGTCCGGGTCAAAAACCACTTTCCCGCCGTTT  
TTTTTGATGCGTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGTGTCCCCGCTGG  
GTGACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCCGTAGACCGACTTTATGGGCCGGT  
CCTCGAGCGGTGTGCCGCGGTCTCTCGTAGAGGAACCCCGCCCACTC  
CGAGACGAAAGCCCCGGGTCCAGGCCAGCACGAAGGAGGCCACGTGGG  
ACGGGTAGCGGTCTGTTGTCCACCAGCGGGTCCACCTTTTCCAGGGTATG  
CAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGAAGGTGATTGGCTTGTA  
GTGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGGCGGGGGGGTATAAAAGGGT  
GCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTTCCGGATCGCTGTCCAGGAGCG  
CCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCTCTCGAAGGCGGGCATGACCTCGGC  
ACTCAGGTTGTGAGTTTCTAGAAACGAGGAGGATTTGATATTGACGGTGC  
CGCGGAGATGCCTTTCAAGAGCCCCTCGTCCATCTGGTCAGAAAAGAC  
GATCTTTTTGTTGTGCGAGCTTGGTGGCGAAGGAGCCGTAGAGGGCGTTG  
GAGAGGAGCTTGGCGATGGAGCGCATGGTCTGGTTTTTTTCCTTGTCGG  
CGCGCTCCTTGGCGGCGATGTTGAGCTGCACGTACTCGCGCGCCACGCA  
CTTCCATTGCGGGAAGACGGTGGTCAGCTCGTCGGGCACGATTCTGACC  
TGCCAGCCCCGATTATGCAGGGTGATGAGGTCCACACTGGTGGCCACCT  
CGCCGCGCAGGGGCTCATTAGTCCAGCAGAGGCGTCCGCCCTTGCGCGA  
GCAGAAGGGGGGCAGGGGGTCCAGCATGACCTCGTCGGGGGGGTGCGC  
ATCGATGGTGAAGATGCCGGGCAGGAGGTGCGGGTCAAAGTAGCTGATG  
GAAGTGCCAGATCGTCCAGGGCAGCTTGCCATTGCGGCACGGCCACGG  
CGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTGCCCCAGGGCATGGGATGGGTAA  
GCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTCGTAGACGTAGAGGGGCTCCTC  
GAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGGATGCTGGCG  
CGCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGCCCCGGGCC  
AGGTTGGTGGCACTGGGCTTTTCGGCGCGGTAGACGATCTGGCGGAAAA  
TGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCCTTTGGAAGATGTTGAAGTG  
GGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGCGGATGAAGTGGGCGTAGGAGTC  
TTGCAGCTTGGCGACGAGCTCGGCGGTGACTAGGACGTCCAGAGCGCA  
GTAGTCGAGGGTCTCCTGGATGATGTCATACTTGAGCTGTCCCTTTTGT  
CCACAGCTCGCGGTTGAGAAGGAACTCTTCGCGGTCTTCCAGTACTCT  
TCGAGGGGGAACCCGTCTGATCTGCACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGA  
ACTGGTTGACGGCCTTGTTAGGCGCAGCAGCCCTTCTCCACGGGGAGGGC  
GTAGGCCTGGGCGGCCTTGCGCAGGGAGGTGTGCGTGAGGGCGAAAGT  
GTCCCTGACCATGACCTTGAGGAACTGGTGCTTGAAGTCGATATCGTCG  
AGCCCCCTGCTCCCAGAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTGTAGGCGGG  
GTTGGGCAAAGCGAAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCCGCGCGG  
GGCATAAAGTTGCGAGTGATGCGGAAAGGTGGGGACCTCGGCCCGGT  
TGTTGATGACCTGGGCGGCGAGCACGATCTCGTCGAAGCCGTTGATGTT  
GTGGCCACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGGCCCTTGACGTGG  
GGCAGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGTCTGCTGAGCC  
CGTGCTGCTCGAGCGCCAGTCGGCGAGATGGGGGTGGCGCGGAGGA  
AGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGCAGACGGTCCCGGT  
ACTGACGGAAGTGTGCCCCGACGGCCATTTTTCGGGGGTGACGCAGTA  
GAAGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCTGGAGGGCG  
AGATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTCTGTCGCCGAGAGTTTCATGA  
CCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACCCCATCCAGGTGTA

[0997]

GGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTCGGTGCGAGGATGCGAG  
CCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCCACCAATTGGAGGAATGGCTGT  
TGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCGCCGAACACTCGTGCTT  
GTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCTCGCAACGCTGCACGGGATGCACG  
TGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTCCCTTGACGAGGAATTCAGTGGA  
AGTGAGTTCGTGGCGCCTGCATCTCGTGCTGTACTACGTTCGTGGTGGTC  
GGCCTGGCCCTCTTCTGCCTCGATGGTGGTCATGCTGACGAGCCCGCGC  
GGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCGCGAGCGGGTCGGAGAGCGAGGAC  
GAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCCAGGGTCCTGAGACGCTGCGGAGT  
CAGGTCAGTGGGCAGCGGCGGCGCGCGGTTGACTTGCAGGAGTTTTC  
AGGGCGCGCGGGAGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGCGCCATTGG  
TGGCGACGTCGATGGCTTGCAGGGTCCCGTGCCCTGGGGTGTGACCAC  
CGTCCCCCGTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGGCGACGGGGGCGGTGCCTCT  
TCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGGCAGGGGCG  
GCTCGGGGCCCGAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGTTCGGCGCCCGCGCG  
CGGGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCCGAGAAGACTGGCGTGAGCGACGA  
CGCGACGGTTGACGTCCCTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAAGGCCACGGG  
ACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTTCGACAGAATCAATCTCGGTA  
TCGTTGACGGCGGCCTGCCGAGGATCTCTTGACGTCGCCCCGAGTTGT  
CCTGGTAGGCGATCTCGGTCATGAACTGCTCGATCTCCTCCTCTTGAAGG  
TCTCCGCGGCGGCGCGCTCCACGGTGGCCGCGAGGTCGTTGGAGATGC  
GGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTTCATGCCCGCCTCGTTCCAGACGCG  
GCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGATCGCGGGCGCGCATGACCACCTGG  
GCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAGACCGCGTAGTTGCAGAGG  
CGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGGCGATGTGCTCGGTGACGAAGA  
AATACATGATCCAGCGGCGGAGCGGCATCTCGCTGACGTCGCCACGCGC  
CTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTAAAAGTCCACGGCGAAGTTGAAAAAC  
TGGGAGTTGCGCGCCGAGACGGTCAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATG  
AGCTCGGCGATGGTGGCGCGCACCTCGCGCTCGAAGGCCCGGGAGTT  
CCTCCACTTCCTCTTCTTCTCCTCCTCCACTAACATCTCTTCTACTTCCTCCT  
CAGGCGGCAGTGGTGGCGGGGGAGGGGGCCTGCGTCGCCGGCGGCGCA  
CGGGCAGACGGTCGATGAAGCGCTCGATGGTCTCGCCGCGCCGGCGTCG  
CATGGTCTCGGTGACGGCGCGCCCGTCTCCTCGCGGGGCCGACGCTGAAG  
ACGCCCCCGCGCATCTCCAGGTGGCCGGGGGGGTCCCCGTTGGGCAGG  
GAGAGGGCGCTGACGATGCATCTTATCAATTGCCCCGTAGGGACTCCGC  
GCAAGGACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGGATCTGAAAACCGCTGAA  
CGAAGGCTTCGAGCCAGTCGCAAGTCCGAAGGTAGGCTGAGCACGGTTT  
CTTCTGGCGGGTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTGCTGGT  
GATGAAGTTGAAATAGGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGGAG  
CACCAGGTCTTTGGGCCCCGGCTTGCTGGATGCGCAGACGGTCGGCCATG  
CCCCAGGCGTGGTCTTGACACCTGGCCAGGTCCCTTGTAGTAGTCCTGCAT  
GAGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCCTCGCCCGCGCGGCCGTCATGCGC  
GTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCAGGTTCGGCGACG  
ACGCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGTGAGGGTGGTCTGGA  
AGTCATCAAAGTCGACGAAGCGGTGGTAGGCTCCGGTGTTGATGGTGTA  
GGAGCAGTTGGCCATGACGGACAGTTGACGGTCTGGTGGCCCCGGACG  
CACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGTAGGCGCGCGTGTGCAAGATG  
TAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAAGTACTGGTAGCCGATGAGGAAGTGCG  
GCGGCGGCTGGCGGTAGAGCGGCCATCGCTCGGTGGCGGGGGCGCCGG  
GCGCGAGGTCCTCGAGCATGGTGCGGTGGTAGCCGTAGATGTACCTGGA

[0998]

CATCCAGGTGATGCCGGCGGCGGTGGTGGAGGCGCGCGGGAACCTCGCG  
GACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCAGGAAGTAGTTTCATGGTGGGC  
ACGGTCTGGCCCGTGAGGCGCGCGCAGTCGTGGATGCTCTATACGGGCA  
AAAACGAAAGCGGTCAGCGGCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTAAGCG  
AACGGGTTGGGCTGCGCGTGTACCCCGGTTTGAATCTCGAATCAGGCTG  
GAGCCGCAGCTAACGTGGTATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGCCTGC  
ACCAACCCTCCAGGATACGGAGGCGGGTCGTTTTGCAACTTTTTTTTGG  
AGGCCGGATGAGACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCGGACCGCGATGGCT  
CGCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGTGCC  
CCGGTTCGAGGCCGCGCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCTGCCC  
CGTCGTTTCCAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTACGGAGCG  
AGCCCTCTTTTGTGTTTTGTGTTTTGCCAGATGCATCCCGTACTGCGGC  
AGATGCGCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCCCCCTCCACAGCC  
GGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGCCACGACCGCCGCG  
GCCGCGGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGATCACCAGCTGGCCTTGG  
AAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCGCCTGGGGGCGTCGTGCGCCGAGCGGC  
ACCCGCGCGTGAGATGAAAAGGGACGCTCGCGAGGCCTACGTGCCCCA  
AGCAGAACCTGTTTACAGAGACAGGAGCGGCGAGGAGCCCGAGGAGATGC  
GCGCGGCCCGGTTCCACGCGGGGCGGGAGCTGCGGCGCGGCCTGGACC  
GAAAGAGGGTGCTGAGGGACGAGGATTTTCAGAGCGGACGAGCTGACGG  
GGATCAGCCCCGCGCGCGCGCACGTGGCCGCGGCCAACCTGGTCACGG  
CGTACGAGCAGACCGTGAAGGAGGAGAGCAACTTCCAAAAATCCTTCA  
ACAACCACGTGCGCACCTGATCGCGCGCGAGGAGGTGACCCTGGGCC  
TGATGCACCTGTGGGACCTGCTGGAGGCCATCGTGCAGAACCCACCAG  
CAAGCCGCTGACGGCGCAGCTGTTCTGGTGGTGCAGCATAGTCGGGAC  
AACGAAGCGTTCAGGGAGGCGCTGCTGAATATCACCGAGCCCGAGGGC  
CGCTGGCTCCTGGACCTGGTGAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGCAGG  
AGCGCGGGCTGCCGCTGTCCGAGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTCGGT  
GCTGAGTTTGGGCAAGTACTACGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCGTAC  
GTGCCCATAGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGGTTTTACATGCGCATGA  
CCCTGAAAGTGCTGACCCTGAGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCAACGA  
CAGGATGCACCGTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCTGAGCGA  
CCAGGAGCTGATGCATAGTCTGCAGCGGGCCCTGACCGGGGCGGGGACC  
GAGGGGGAGAGCTACTTTGACATGGGCGCGGACCTGCACTGGCAGCCC  
AGCCGCCGGGCCCTTGGAGGCGGCGGACGAGGACCCTACGTAGAAGAGGTG  
GACGATGAGGTGGACGAGGAGGGCGAGTACCTGGAAGACTGATGGCGC  
GACCGTATTTTTGCTAGATGCAACAACAACAGCCACCTCCTGATCCCGCG  
ATGCGGGCGGCGCTGCAGAGCCAGCCGTCCGGCATTAACTCCTCGGACG  
ATTGGACCCAGGCCATGCAACGCATCATGGCGCTGACGACCCGCAACCC  
CGAAGCCTTTAGACAGCAGCCCCAGGCCAACCGGCTCTCGGCCATCCTG  
GAGGCCGTGGTGCCCTCGCGCTCCAACCCACGCACGAGAAGGTCCTG  
GCCATCGTGAACGCGCTGGTGGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGACGAG  
GCCGGCCTGGTGTACAACGCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCGCTACAACA  
GCACCAACGTGCAGACCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTGCGCG  
AGGCCGTGGCCAGCGCGAGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTGGGAT  
CCATGGTGGCGCTGAACGCCTTCTCAGCACCCAGCCCGCCAACGTGCC  
CCGGGGCCAGGAGGACTACACCAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCTGATG  
GTGACCGAGGTGCCCCAGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGGCCGACTAC  
TTCTTCCAGACCAAGTCGCCAGGGCTTGCAGACCGTGAACCTGAGCCAGG  
CTTTCAAGAACTTGACGGGCCTGTGGGGCGTGCAGGCCCGGTCGGGG

[0999]

ACCGCGCGACGGTGTCTGAGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGCCTGCTGCT  
GCTGCTGGTGGCCCCCTTCACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCAACTCG  
TACCTGGGCTACCTGATTAACTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAGGCGC  
ACGTGGACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCGCGCCC  
TGGGCCAGGACGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCCTGAACTTTTTGCT  
GACCAACCGGTCTGCAGAAGATCCCCGCCAGTACGCGCTCAGCACCGA  
GGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTGGGCCTGTTCTCTG  
ATGCAGGAGGGGGGCCACCCCGAGCGCCGCGCTCGACATGACCGCGCGC  
AACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGCCCGTTTCATCAATAAAC  
TGATGGACTACTTGCATCGGGCGGGCCGATGAACTCTGACTATTTACC  
AACGCCATCCTGAATCCCCACTGGCTCCCGCCGCGGGGTTCTACACGG  
GCGAGTACGACATGCCCGACCCCAATGACGGGTTCTGTGGGACGATGT  
GGACAGCAGCGTGTTCTCCCCCGACCGGGTGCTAACGAGCGCCCTTG  
TGGAAGAAGGAAGGCAGCGACCGACGCCCGTCTCGGCGCTGTCCGGC  
CGCGAGGGTGCTGCCGCGCGGTGCCCGAGGCCGCCAGTCTTTCCCGA  
GCTTGCCCTTCTCGCTGAACAGTATCCGCAGCAGCGAGCTGGGCAGGAT  
CACGCGCCCGCGCTTGCTGGGCGAAGAGGAGTACTTGAATGACTCGCTG  
TTGAGACCCGAGCGGGAGAAGAACTTCCCCAATAACGGGATAGAAAGC  
CTGGTGGACAAGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCACAGG  
GACGATCCCCGGGCGTCTGCAGGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGCCGCC  
CGTAAACGCCGGTGGCACGACAGGCAGCGGGGACAGATGTGGGACGAT  
GAGGACTCCGCCGACGACAGCAGCGTGTTGGACTTGGGTGGGAGTGGT  
AACCCGTTCCGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGCGCATGATGTAAGAGA  
AACCGAAAATAAATGATACTCACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGCGTT  
CGTTTCTTCTCTGTTGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCGTACCCG  
GAGGGTCCCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGCGATGGCGG  
CGGCGGCGATGCAGCCCCCGCTGGAGGGTCTTTACGTGCCCGCGGGTA  
CCTGGCGCCTACGGAGGGGGCGGAACAGCATTCGTTACTCGGAGCTGGCA  
CCCTTGTAACGATACCACCCGGTTGTACCTGGTGGACAACAAGTCGGCGG  
ACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCACAGCAACTTCCTGACCAC  
CGTGGTGCAGAACAAATGACTTCACCCCCACGGAGGCCAGCACCCAGAC  
CATCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGTGGGGCGGCCAGCTGAAAACCATC  
ATGCACACCAACATGCCCAACGTGAACGAGTTCATGTACAGCAACAAGT  
TCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCCGCAAGACCCCCAATGGGGTGACAGT  
GACAGAGGATTATGATGGTAGTCAGGATGAGCTGAAGTATGAATGGGTG  
GAATTTGAGCTGCCCCGAAGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATCGACC  
TGATGAACAACGCCATCATCGACAATTACTTGGCGGTGGGGCGGCAGAA  
CGGGGTGCTGGAGAGCGACATCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGAACCT  
CAGGCTGGGCTGGGACCCCGTGACCGAGCTGGTCATGCCCGGGGTGTAC  
ACCAACGAGGCTTTCCATCCCGATATTGTCTTGCTGCCCGGCTGCGGGGT  
GGACTTCACCGAGAGCCGCCTCAGCAACCTGCTGGGCATTTCGAAGAG  
GCAGCCCTTCAGGAAGGCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAGGGG  
GGCAACATCCCCGCGCTCCTGGATGTGACGCCTATGAGAAAAGCAAGG  
AGGATGCAGCAGCTGAAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTCTACCGA  
GGTCAGGGGGCGATAATTTTGCAAGCGCCGACGAGTGGCAGCGGCCGA  
GGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATTTCAGCCGGTGGAGAAGGAT  
AGCAAGAACAGGAGCTACAACGTACTACCGGACAAGATAAACACCGCC  
TACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACCTATGGCGACCCCGAGAAGGGCG  
TGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCACCTCGGACGTCACCTGCGGCGTGGA  
GCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCGACATGATGCAAGACCCGGTCACCTTC

[1000]

CGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTGGGCGCCGAGCTCC  
TGCCCGTCTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGCAGGCCGTCTACTCGCA  
GCAGCTGCGCGCCTTACCTCGTTACGCACGTCTTCAACCGCTTCCCCG  
AGAACCAGATCCTCGTCCGCCCGCCCGCGCCACCATTACCACCGTCAG  
TGAAAACGTTCTGCTCTCACAGATCACGGGACCCTGCCGCTGCGCAGC  
AGTATCCGGGGAGTCCAGCGCGTGACCGTTACTGACGCCAGACGCCGCA  
CCTGCCCCCTACGTCTACAAGGCCCTGGGCATAGTCGCGCCCGCGCGTCTC  
TCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGCCCAGTAATAACAC  
CGGTTGGGGCCTGCGCGCGCCAGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGCCA  
ACGCTCCACGCAACACCCCGTGCGCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCTCCC  
TGGGGCGCCCTCAAGGGCCGCGTGCGGTGCGGCACCACCGTCGACGAC  
GTGATCGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTACACCCCGCCGCGC  
CGCCCGTCTCCACCGTGGACGCCGTCATCGACAGCGTGGTGGCAGACGC  
GCGCCGGTACGCCCCGCGCAAGAGCCGGCGGCGGCGCATCGCCCGGCG  
GCACCGGAGCACCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGCTGCGCAG  
GGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCCATGCTCAGGGCGGCCAGACGCGC  
GGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGACGCGCGGCCACGGC  
GGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCGCGGCGAGGGAACGT  
GTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCGCGTGCCCGTGCGCACC  
CGCCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTCGCGATGTTGATGTGTCCA  
GCGGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAAATTCAAGGAAGAGATGCTCCAG  
GTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCCTGCGGTGGTGAAGGAGGAAAGA  
AAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTCAAAAAGGACAAAAAGGAAGAAGA  
AAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGTTTGTGCGCGAGTTCGCCCCCGG  
CGGCGCGTGCAGTGGCGCGGGCGGAAGGTGCAACCGGTGCTGAGACCC  
GGCACCACCGTGGTCTTACGCCCGGCGAGCGCTCCGGCACCGCTTCCA  
AGCGCTCCTACGACGAGGTGTACGGGGATGATGATATTCTGGAGCAGGC  
GGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGCTTACGGCAAGCGCAGCCGTTCCGCA  
CCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATCCCGCTGGACCACGGCAACCCACG  
CCGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGACGACAGGTGCTGCCGACCGCGCGC  
CCGCGCCGGGGTTCAAGCGCGAGGGCGAGGATCTGTACCCACCATGC  
AGCTGATGGTGCCCAAGCGCCAGAAGCTGGAAGACGTGCTGGAGACCA  
TGAAGGTGGACCCGGACGTGCAGCCCGAGGTCAAGGTGCGGCCCATCA  
AGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGGCGTGACAGACCGTGGACATCAAGATTCC  
CACGGAGCCCATGGAAACGCAGACCGAGCCCATGATCAAGCCCAGCAC  
CAGCACCATGGAGGTGCAGACGGATCCCTGGATGCCATCGGCTCCTAGT  
CGAAGACCCCGGCGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCTGCTGATGCCAAC  
TACGCGCTGCATCCTTCCATCATCCCCACGCCGGGCTACCGCGGCACGCG  
CTTCTACCGCGGTATACCAGCAGCCGCCCGCCGCAAGACCACCACTCGC  
CGCCGCGTGCCTGCACCGCCGCTGCAACCACCCCTGCCGCCCTGGTGC  
GGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGCACCTCTGACCCTGCCGCGCGCGC  
GCTACCACCCGAGCATCGCCATTAAACTTTTCGCCGCTTTGCAGATCAAT  
GGCCCTCACATGCCGCCTTCGCGTTCCCATACGGGCTACCGAGGAAGA  
AAACCGCGCCGTAGAAGGCTGGCGGGGAACGGGATGCGTCGCCACCAC  
CACCGGCGGCGGCGCGCCATCAGCAAGCGGTTGGGGGGAGGCTTCTTG  
CCCGCGCTGATCCCCATCATCGCCGCGGCGATCGGGGCGATCCCCGGCAT  
TGCTTCCGTGGCGGTGCAGGCCTCTCAGCGCCACTGAGACACACTTGGA  
AACATCTTGTAATAAACCAATGGACTCTGACGCTCCTGGTCCTGTGATGT  
GTTTTCGTAGACAGATGGAAGACATCAATTTTTTCGTCCCTGGCTCCGCGA  
CACGGCACGCGGCCGTTTCATGGGCACCTGGAGCGACATCGGCACCAGCC

[1001]

AACTGAACGGGGGCGCCTTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGGCTTAA  
GAATTTTCGGGTCCACGCTTAAACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAACAGC  
ACCACAGGGCAGGCGCTGAGGGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTCCAG  
CAGAAGGTGGTCGATGGGCTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTGGAC  
CTGGCCAACCAGGCCGTGCAGCGGCAGATCAACAGCCGCCTGGACCCG  
GTGCCGCCCGCCGGCTCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGAGGAGGAGCTG  
CCTCCCCTGGACAAGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGCCCCGATGCGGAG  
GAGACGCTGCTGACGCACACGGACGAGCCGCCCCCGTACGAGGAGGCG  
GTGAAACTGGGTCTGCCCACCACGCGGCCCATCGCGCCCCCTGGCCACCG  
GGGTGCTGAAACCCGAAAAGCCCGCGACCCTGGACTTGCCTCCTCCCCA  
GCCTTCCCGCCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCCCTGCCGCCGGTGGCCGTG  
GCCCCGCGCGCAGCCCGGGGGCACCGCCCCGCCCTCATGCGAACTGGCAG  
AGCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGGGAGTGCAGAGTGTGAAGCGC  
CGCCGCTGCTATTAAACCTACCGTAGCGCTTAACTTGCTTGTCTGTGTGT  
GTATGTATTATGTCGCCGCCGCCGCTGTCCACCAGAAGGAGGAGTGAAG  
AGGCGCGTCGCCGAGTTGCAAGATGGCCACCCCATCGATGCTGCCCCAG  
TGGGCGTACATGCACATCGCCGGACAGGACGCTTCGGAGTACCTGAGTC  
CGGGTCTGGTGCAGTTTGCCCCGCGCCACAGACACCTACTTCAGTCTGGG  
GAACAAGTTTAGGAACCCACCGGTGGCGCCACGCACGATGTGACCAC  
CGACCGCAGCCAGCGGCTGACGCTGCGCTTCGTGCCCGTGGACCGCGA  
GGACAACACCTACTCGTACAAAGTGGGCTACACGCTGGCCGTGGGCGAC  
AACC CGCTGCTGGACATGGCCAGCACCTACTTTGACATCCGCGGCGTGC  
TGGATCGGGGCCCTAGCTTCAAACCCTACTCCGGCACCGCCTACAACAG  
TCTGGCCCCCAAGGGAGCACCCCAACACTTGTCAGTGGACATATAAAGCC  
GATGGTGAAACTGCCACAGAAAAACCTATACATATGGAAATGCACCCG  
TGCAGGGCATTAACATCACAAAAGATGGTATTCAACTTGGAAGTACAC  
CGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAAAACCTATCAGCCTGAACCTCAAG  
TGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCACTGGTACTGATGAAAAGTATGGA  
GGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAAATGAAGCCTTGTTATGGTTCTTT  
TGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAATGTGAAAACAGG  
AACAGGCACTACTAAAGAATATGACATAGACATGGCTTTCTTTGACAACA  
GAAGTGCGGCTGCTGCTGGCCTAGCTCCAGAAATTGTTTTGTATACTGAA  
AATGTGGATTTGGAACTCCAGATACCCATATTGTATACAAAGCAGGCAC  
AGATGACAGCAGCTCTTCTATTAAATTTGGGTCAGCAAGCCATGCCCAACA  
GACCTAACTACATTGGTTTCAGAGACAACCTTATCGGGCTCATGTACTAC  
AACAGCACTGGCAATATGGGGGTGCTGGCCGGTCAGGCTTCTCAGCTGA  
ATGCTGTGGTTGACTTGCAAGACAGAAACACCGAGCTGTCTACCAGCT  
CTTGCTTGACTCTCTGGGTGACAGAACCCGGTATTTTCAGTATGTGGAATC  
AGGCGGTGGACAGCTATGATCCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGGT  
GTGGAGGATGAACCTCCCAACTATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCAG  
AACAGATACTTATCAGGGAATTAAGGCTAATGGAAGTATCAAACCACAT  
GGACCAAAGATGACAGTGTCAATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGGTAA  
TCCATTTCGCCATGGAAATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAACTTC  
CTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTGCCCGACTCTTACAAGTACACGCC  
GGCCAATGTTACCCTGCCCACCAACACCAACACCTACGATTACATGAAC  
GGCCGGGTGGTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCAACATCGGGG  
CGCGCTGGTTCGCTGGATCCCATGGACAACGTGAACCCCTTCAACCACCA  
CCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCTGGGCAACGGGCGC  
TACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAATTTTTCGCCATCAAGAG  
CCTCCTGCTCCTGCCCGGGTCTACACCTACGAGTGGAAGTTCGCAAG

[1002]

GACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTCCCTCGGCAACGACCTGCGCACGG  
ACGGGGCCTCCATCTCCTTACCAGCATCAACCTCTACGCCACCTTCTTC  
CCCATGGCGCACAAACACGGCCTCCACGCTCGAGGCCATGCTGCGCAACG  
ACACCAACGACCAGTCTTCAACGACTACCTCTCGGCGGCCAACATGCT  
CTACCCCATCCCGGCCAACGCCACCAACGTGCCCATCTCCATCCCCTCGC  
GCAACTGGGCGCCTTCCGCGGCTGGTCTTACGCGTCTCAAGACCAA  
GGAGACGCCCTCGCTGGGCTCCGGGTTGACCCCTACTTCGTCTACTCG  
GGCTCCATCCCCTACCTCGACGGCACCTTCTACCTCAACCACACCTTCAA  
GAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCCGTCAGCTGGCCCCGGCAACGAC  
CGGCTCCTGACGCCCAACGAGTTGAAATCAAGCGCACCGTCGACGGC  
GAGGGCTACAACGTGGCCCAAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTCTTG  
GTCCAGATGCTGGCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCC  
CGAGGGCTACAAGGACCGCATGTAATCTTCTCCGCAACTTCCAGCCC  
ATGAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAACTACAAGGACTACCAGGCC  
GTCACCCTGGCCTACCAGCACAACTCGGGCTTCGTGGCTACCTCG  
CGCCACCATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACTACCCCTACCC  
GCTCATCGGCAAGAGCGCCGTACCAAGCGTCACCCAGAAAAAGTTCTCT  
TGCGACAGGGTCATGTGGCGCATCCCCCTTCTCCAGCAACTTCATGTCCAT  
GGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTATGCCAACTCCGCC  
CACGCGCTAGACATGAATTTGGAAGTCGACCCCATGGATGAGTCCACCC  
TTCTCTATGTTGTCTTTCGAAGTCTTCGACGTCTGTCGAGTGCACCAGCCC  
CACCGCGCGTCATCGAGGCCGTCTACCTGCGCACCCCTTCTCGGGCCG  
GTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTGCAAGCCATGGCCGCGGGC  
TCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCATCCGCGACCTGGGCTGCGGGC  
CCTACTTCTGGGCACCTTCGATAAGCGCTTCCCGGGATTTCATGGCCCCG  
CACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAACACGGCCGCGCGAGACCGGG  
GGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCTGGAACCCGCGCTCGAACACCTGCT  
ACCTCTTCGACCCCTTCGGGTTCTCGGACGAGCGCCTCAAGCAGATCTA  
CCAGTTCGAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGACGCGCCCTGGCCACCGA  
GGACCGCTGCGTCACCCTGGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCAGGGTCC  
GCGCTCGGCCGCTGCGGGCTCTTCTGCTGCATGTTCTGACGCCTTCG  
TGCACTGGCCCGACCGCCCCATGGACAAGAACCCACCATGAACCTTGCT  
GACGGGGGTGCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCAC  
CCTGCGCCGCAACCAGGAGGCGCTCTACCGCTTCTCAACTCCCACTCC  
GCCTACTTTTCGCTCCACCGCGCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTTCG  
ACCGCATGAATCAAGACATGTAAACCGTGTGTGTATGTTAAATGTCTTAA  
ATAAACAGCACTTTCATGTTACACATGCATCTGAGATGATTTATTTAGAAA  
TCGAAAGGGTTCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCGCGGGCAGGGACACG  
TTGCGGAACCTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAACCTCGGGGATCAGCAGTT  
TGGGCAGCGGGGTGTGCGGGAAGGAGTCGGTCCACAGCTTCCGCGTCA  
GTTGCAGGGCGCCAGCAGGTGCGGCGCGGAGATCTTGAAATCGCAGTT  
GGGACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGTTGCGGTACACGGGGTTGCAGCA  
CTGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTACGCTCGCCAGCACCGTCCGG  
TCGGTGATGCTCTCCACGTCGAGGTCTTCGGCGTTGGCCATCCCGAAGG  
GGGTATCTTGCAGGTCTGCCTTCCCATGGTGGGCACGCACCCGGGCTT  
GTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATCAGCATCATCTGGGCCTGGTCG  
GCGTTTATCCCGGGTACATGGCCTTCATGAAAGCCTCCAATTGCCTGAA  
CGCCTGCTGGGCCTTGGCTCCCTCGGTGAAGAAGACCCCGCAGGACTTG  
CTAGAGAACTGGTTGGTGGCGCACCCGGCGTCTGTCACGCAGCAGCGC  
GCGTCGTTGTTGGCCAGCTGCACCACGCTGCGCCCCCAGCGTTCTGGG

[1003]

TGATCTTGGCCCGGTGCGGGTTCTCCTTCAGCGCGCGCTGCCCGTTCTCG  
CTCGCCACATCCATCTCGATCATGTGCTCCTTCTGGATCATGGTGGTCCCG  
TGCAGGCACCGCAGCTTGCCCTCGGCCTCGGTGCACCCGTGCAGCCACA  
GCGCGCACCCGGTGCACCTCCCAGTTCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGC  
GTGCACGAAGCCCTGCAGGAAGCGGCCCATCATGGTGGTCAGGGTCTTG  
TTGCTAGTGAAGGTCAGCGGAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACA  
GGTGGCAGATGCGGCGGTACACCTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAA  
GTTGGCTTTCAGGTCGGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCATCAGCATAGTCA  
TGATTTCCATACCTTCTCCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCTCATAGGG  
TTCTTACCATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGGGTCGCTCTC  
GTCCAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCTTCTCGGTGATCCGCACC  
GGGGGGTAGCTGAAGCCACGGCCGCCAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTT  
CGTCTCGCTGTCTTGCTGACGTCTGCAGGACCACATGCTTGGTCTTG  
CGGGGTTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGAGATGTTGGAGATGGCG  
AGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCCTACTATCTCTTCTTCTTGG  
TCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTCTCTTCGGGGGCAGAGGCGGAG  
GCGACGGGCTCTCGCCGCCGCGACTTGGCGGATGGCTGGCAGAGCCCCT  
TCCGCGTTTCGGGGGTGCGCTCCCGGCGGCGCTCTGACTGACTTCTCCG  
CGGCCGCGCCATTGTGTTCTCCTAGGGAGGAACAACAAGCATGGAGACTC  
AGCCATCGCCAACCTCGCCATCTGCCCCCACC GCCGACGAGAAGCAGCA  
GCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCGCCAGCCCCGCCACCTCC  
GACGCGGCGGTCCCAGACATGCAAGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTG  
ACCTGGGCTATGTGACGCCCCGCGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTGC  
GCTTTTCAACAAGAAGAGATACACCAAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAG  
AGAATGAGCAGAGTCAGGCTGGGCTCGAGCATGACGGCGACTACCTCC  
ACCTGAGCGGGGGGGAGGACGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCGGCAGG  
CCACCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCTCAG  
CGTGGAGGAGCTCAGCCGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGCGC  
GTGCCCCCAAGCGCCAGCCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCCGCGCC  
TCAACTTCTACCCGGTCTTCGCGGTGCCCGAGGCCCTGGCCACCTACCA  
CATCTTTTTTCAAGAACC AAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGCGCCAACCGC  
ACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAACCTGGGTCCCGGCGCCCGCCTACCTG  
ATATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTCCCAAGATCTTCGAGGGTCTGGGCAG  
CGACGAGACTCGGGCCGCGAACGCTCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGC  
ATGAGCACCAAGCGCCCTGGTCGAGTTGGAAGGCGACAACGCGCGGC  
TGGCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAGCTGACCCATTTGCGCTACCCGGC  
TCTGAACCTGCCCCCAAAGTCATGAGCGCGGT CATGGACCAGGTGCTC  
ATCAAGCGCGCTCGCCCATCTCCGAGGACGAGGGCATGCAAGACTCCG  
AGGAGGGCAAGCCCGTGGTCAGCGACGAGCAGCTGGCCCGGTGGCTGG  
GTCCTAATGCTAGTCCCCAGAGTTTGGAAGAGCGGCGCAAACCTCATGAT  
GGCCGTGGTCCTGGTGACCGTGAGCTGGAGTGCCTGCGCCGCTTCTTC  
GCCGACGCGGAGACCCTGCGCAAGGTGAGGAGAACCTGCACTACCTC  
TTCAGGCACGGGTTCGTGCGCCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGC  
TGACCAACCTGGTCTCCTACATGGGCATCTTGACAGAGAACCGCCTGGG  
GCAGAACGTGCTGCACACCACCCTGCGCGGGGAGGCCCGGCGCGACTA  
CATCCGCGACTGCGTCTACCTCTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGGGC  
ATGGGCGTGTGGCAGCAGTGTCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTC  
TGCAAGCTCCTGCAGAAGAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGTTTCGAC  
GAGCGCACCAACCGCCTCGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCC  
TCAGGCTGACGCTGCGCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCAT

[1004]

GTTGCAAAACITTCGCTCTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCCCG  
CCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCCGCGA  
GTGCCCCCGCCGCTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGCCAAC  
TACCTGGCCTACCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCGAGGGCC  
TGCTCGAGTGCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCACCGCTCCCT  
GGCCTGCAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCATCGGCACCTTC  
GAGTTGCAAGGGCCCCAGCGAAGGCGAGGGTTCAGCCGCCAAGGGGGGT  
CTGAAACTCACCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTCTG  
TGCCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAATCC  
CATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTCCGGCTGCGTCATCACCCAGGGGGCGA  
TCCTGGCCCAATTGCAAGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAATTCTTGCTG  
AAAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTCGACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTC  
AACCCCGGCTTCCCCCAGGATGCCCCGAGGAAACAAGAAGCTGAAAGT  
GGAGCTGCCGCCCCTGGAGGATTTGGAGGAAGACTGGGAGAACAGCAG  
TCAGGCAGAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTCAGG  
CAGAGGAGGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAG  
GCAGAGGAGGAGGTGGAAGAAGCAGCCGCCGCCAGACCGTTCGTCTCTCG  
GCGGGGGAGAAAGCAAGCAGCACGGATACCATCTCCGCTCCGGGTCTGG  
GGTCCCGCTCGACCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGACGATTCCCGA  
ACCCACACCCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCT  
GGCGGGGGGCACAAAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGCAAGGCCTGCGGGG  
GCAACATCTCCTTCACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAA  
CTTTCCCCGCAACATCTTGCATTACTACCGTCACCTCCACAGCCCCTACT  
ACTTCCAAGAAGAGGCAGCAGCAGCAGCAAAAAGACCAGCAGAAAACC  
AGCAGCTAGAAAATCCACAGCGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCGC  
GGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTTTCC  
CACCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGGCAGGAGCAGGAACTG  
AAAGTCAAGAACCGTTCTCTGCGCTCGCTCACCCGCAGTTGTCTGTATC  
ACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAGGACGCCGAGGCTC  
TCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAGCCCCGCGCCCGC  
CCAGTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTACCTGTGCCCTTCGCCCTA  
GCCGCCTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGATTCCCACGCCTTACATGT  
GGAGCTACCAGCCCCAGATGGGCCTGGCCGCCGGTGCCGCCCAGGACTA  
CTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCGCCGGGCCCCGCGATGATCTCACGG  
GTGAATGACATCCGCGCCCAACGAAACCAGATACTCCTAGAACAGTCAG  
CGCTCACCGCCACGCCCCGCAATCACCTCAATCCGCGTAATTGGCCCCGCC  
GCCCTGGTGTACCAGGAAATTCCCCAGCCCACGACCGTACTACTTCCGC  
GAGACGCCCAGGCCGAAGTCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGG  
CGGGCGGCGCCACCCTGTGTCGTCACCGCCCCGCTCAGGGTATAAAGCG  
GCTGGTGATCCGGGGCAGAGGCACACAGCTCAACGACGAGGTGGTGAG  
CTCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGAGTCTTCCAACCTCGCCGGATCG  
GGGAGATCTTCCTTCACGCCTCGTCAGGCCGTCTGACTTTGGAGAGTT  
CGTCCTCGCAGCCCCGCTCGGGTGGCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGA  
GGAGTTCACTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCC  
ACTACCCGGACGAGTTCATCCCGAACTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGT  
GGACGGCTACGATTGAAACTAATCACCCCTTATCCAGTGAAATAAAGAT  
CATATTGATGATGATTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTTGATTTGAAAT  
AAAGATACAATCATATTGATGATTTGAGTTTAAACAAAAAATAAAGAATC  
ACTTACTTGAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCTGCCAACAC  
CACTTCACTCCCCTCTTCCCAGCTCTGGTACTGCAGGCCCCGGCGGGCT

[1005]

GCAAACCTTCCTCCACACGCTGAAGGGGATGTCAAATTCCTCCTGTCCCTC  
AATCTTCATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAGCGCGTCCGGGTGGAT  
GATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGCAGACAACGCACCGACCG  
TGCCCTTCATCAACCCCCCTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCAAGAGAAG  
CCCCTGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCACCACCAAGA  
ACGGGGAAATCACCTCAAGCTGGGAGAGGGGGTGGACCTCGATTCTCTC  
GGGAAAACATCTCCAACACGGCCACCAAGGCCGCCGCCCTCTCAGT  
TTTTCCAACAACACCATTTCCCTTAACATGGATCACCCCTTTTACACTAAA  
GATGGAAAATTATCCTTACAAGTTTCTCCACCATTAAATATACTGAGAACA  
AGCATTCTAAACACACTAGCTTTAGGTTTGGATCAGGTTTAGGACTCCG  
TGGCTCTGCCCTTGGCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTTGATACTG  
ATGGAAACATAAAGCTTACCTTAGACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGG  
AGATGCAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAAATTTGAA  
GATGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTAGAGTTTGGAAAGCA  
GTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAAACTT  
GGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGGTAACA  
AAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCCATCACCAAA  
CTGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGCAAAACTAACACTTTGCTTGACTA  
AATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTGTCAGTCTTAGTTGTAGGAAGT  
GGAAACCTAAACCCCATTAAGTGGCACCCTAAGCAGTGCTCAGGTGTTTC  
TACGTTTTGATGCAAACGGTGTCTTTTAAACAGAACATTCTACACTAAAA  
AAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGATAGCATAGATGGCACTCCATATAC  
CAATGCTGTAGGATTCATGCCCAATTTAAAAGCTTATCCAAAGTCACAAA  
GTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGTATACATGAATGGAGATG  
TTTCAAACCTATGCTTCTCACTATAACCCCTCAATGGTACTGATGACAGC  
AACAGTACATATTCAATGTCAATTTTCATACACCTGGACTAATGGAAGCTAT  
GTTGGAGCAACATTTGGGGCTAACTCTTATACCTTCTCATACATCGCCCA  
AGAATGAACACTGTATCCCACCCCTGCATGCCAACCCTTCCCACCCCACTC  
TGTGGAACAAACTCTGAAACACAAAATAAAATAAAGTTCAAGTGTTTTA  
TTGATTCAACAGTTTTACAGGATTCGAGCAGTTATTTTTCTCCACCCCTCC  
CAGGACATGGAATACACCACCCTCTCCCCCGCACAGCCTTGAACATCT  
GAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTTGGTCTCCACGTTCCACACAGTT  
TCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACCCTCCGGG  
CACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTCAACAGCTGAGGATTGTCTCTCGG  
TGGTCCGGGATCACGGTTATCTGGAAGAAGCAGAAGAGCGGCGGTGGGA  
ATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTGGTGTGCGATCAGGCCCCCGC  
AGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAAGCTGCTGCTCAGGGGGTCCG  
GGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCCACGGCCCTCAGCATCAGTCG  
TCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCATGCGGATCTCGCTCAGGTCTGCTG  
CAGTACGTGCAACACAGAACCACAGGTTGTTCAACAGTCCATAGTTCA  
ACACGCTCCAGCCGAACTCATCGCGGGAAGGATGCTACCCACGTGGCC  
GTCGTACCAGATCCTCAGGTAAATCAAGTGGTGCCCCCTCCAGAACACG  
CTGCCCACGTACATGATCTCCTTGGGCATGTGGCGGTTTACCACCTCCCG  
GTACCACATCACCTCTGGTTGAACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGGA  
ACCACAGGGCCAGCACCGCCCCGCCCGCCATGCAGCGAAGAGACCCCG  
GGTCCCGGCAATGGCAATGGAGGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATCAT  
CTGGGAGCTGAACAAGTCTATGTTGGCACAGCACAGGCATATGCTCATG  
CATCTCTTCAGCACTCTCAACTCCTCGGGGGTCAAACCATATCCCAGGG  
CACGGGGAACCTTTGCAGGACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCC  
TCGCACAGAACTTACATTGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGC

[1006]

ACCGGGTGATCCTCCACCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCACAGC  
GTGGTAAGGGGGCCGGCCGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGCTGATCG  
TGTTCCGACCGTGTTCATGATGCAGTTGCTTTCGGACATTTTCGTACTTG  
CTGTAGCAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGCCGGCGGCGGT  
CTCGGCGCTTGGAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAAACAGCCACTCTCT  
CAGACCGTGCAGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATCA  
TGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACCGTGGAATGGGCCAGACCCA  
GCCAGATGATGCAATTTTGTGGGTTTCGGTGACGGCGAGCCTCGGGAA  
CAACGATGAAGTAAATGCAAGCGGTGCGTTCAGCATGGTTAGTTAGCT  
GATCTGTAGAAAAACAATAATGAACATTAAACCATGCTAGCCTGGCGA  
ACAGGTGGGTAAATCGTTCTCTCCAGCACCAGGCAGGCCACGGGGTCTC  
CGGCGCGACCCTCGTAAAAATTGTGCTATGATTGAAAACCATCACAGA  
GAGACGTTCCCGGTGGCCGGCGTGAATGATTGACAAGATGAATACACC  
CCCGGAACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAAAGCGCCCGAGGAAGCAA  
TAAGGCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCG  
GATGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAATTACTCCCTCC  
TGCACAGGCAGCAAAGCCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAAGCCT  
CAGCGTCCATAGCTTACCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCAAGAGTC  
AGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCTCAATATATA  
GCCCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAAAATACCCGCCAA  
ATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAAACCGGTGACACACTCAA  
AAAAATACGCGCACTTCTCAAACGCCCAAACTGCCGTCATTTCCGGG  
TTCCACGCTACGTACATCAAAACACGACTTTCAAATTCCGTCGACCGTTA  
AAAACGTCACCCGCCCGCCCCCTAACGGTCCGCCGCTCTCTCAGCCAATC  
AGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAACACCTCATTTGCATATTAACGCGCA  
CAAAAAGTTTGAGGTATATTATTGATGATG

**ChAdV68-空-E4 缺失(SEQ ID NO:59)**

CATCTTCAATAATATACCTCAAACTTTTGTGCGCGTTAATATGCAAATGA  
GGCGTTTGAATTTGGGGAGGAAGGGCGGTGATTGGTCGAGGGATGAGC  
GACCGTTAGGGGCGGGGCGAGTGACGTTTTGATGACGTGGTTGCGAGG  
AGGAGCCAGTTTGCAAGTTCTCGTGGGAAAAGTGACGTCAAACGAGGT  
GTGGTTTGAACACGGAAATACTCAATTTTCCCGCGCTCTCTGACAGGAA  
ATGAGGTGTTTCTGGGCGGATGCAAGTGAAAACGGGGCCATTTTCGCGCG  
AAAACCTGAATGAGGAAGTGAAAATCTGAGTAATTTTCGCGTTTATGGCAG  
GGAGGAGTATTTGCCGAGGGCCGAGTAGACTTTGACCGATTACGTGGGG  
GTTTCGATTACCGTGTTTTTCACCTAAATTTCCGCGTACGGTGTCAAAGT  
CCGGTGTTTTTACGTAGGTGTCAGCTGATCGCCAGGGTATTTAAACCTGC  
GCTCTCCAGTCAAGAGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTTCT  
CCTCCGCGCCGCGAGTCAGATCTACACTTTGAAAGTAGGGGataaGGTAGCG  
AGTGAGTAGTGTTCTGGGGCGGGGGAGGACCTGCATGAGGGCCAGAAT  
AACTGAAATCTGTGCTTTTCTGTGTGTTGCAGCAGCATGAGCGGAAGCG  
GCTCCTTTGAGGGAGGGGTATTACGCCCTTATCTGACGGGGCGTCTCCCC  
TCCTGGGCGGGAGTGCGTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGGCC  
GGCCCGTGACGCCCGCAACTCTTCAACCCTGACCTATGCAACCCTGAG  
CTCTTCGTCGTTGGACGCGAGCTGCCGCCGAGCTGCTGCATCTGCCGCC  
AGCGCCGTGCGCGGAATGGCCATGGGCGCCGGCTACTACGGCACTCTGG  
TGCCCAACTCGAGTTCCACCAATAATCCCGCCAGCCTGAACGAGGAGAA  
GCTGTTGCTGCTGATGGCCCAGCTCGAGGCCTTGACCCAGCGCCTGGGC  
GAGCTGACCCAGCAGGTGGCTCAGCTGCAGGAGCAGACGCGGGCCGCG  
GTTGCCACGGTGAAATCCAAATAAAAAATGAATCAATAAATAACGGAG

[1007]

ACGGTTGTTGATTTTAAACACAGAGTCTGAATCTTTATTTGATTTTTTCGCGC  
GCGGTAGGCCCTGGACCACCGGTCTCGATCATTGAGCACCCGGTGGATC  
TTTTCCAGGACCCGGTAGAGGTGGGCTTGGATGTTGAGGTACATGGGCA  
TGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGCAGGGCCTCGTGCTC  
GGGGGTGGTGTGTAAATCACCCAGTCATAGCAGGGGCGCAGGGCATGG  
TGTTGCACAATATCTTTGAGGAGGAGACTGATGGCCACGGGCAGCCCTT  
TGGTGTAGGTGTTTACAAATCTGTTGAGCTGGGAGGGATGCATGCGGGG  
GGAGATGAGGTGCATCTTGGCCTGGATCTTGAGATTGGCGATGTTACCGC  
CCAGATCCCGCTGGGGTTCATGTTGTGCAGGACCACCAGCACGGTGTA  
TCCGGTGCACCTGGGGGAATTTATCATGCAACTTGGAAGGGAAGGCGTGA  
AAGAATTTGGCGACGCCTTTGTGCCCCGCCAGGTTTTCCATGCACTCATC  
CATGATGATGGCGATGGGCCCGTGGGCGGCGGCCTGGGCAAAGACGTTT  
CGGGGGTCCGACACATCATAGTTGTGGTCTTGGGTGAGGTTCATCATAGG  
CCATTTTAATGAATTTGGGGCGGAGGGTGCCGGAAGTGGGGGACAAAGGT  
ACCTTCGATCCCGGGGGCGTAGTTCCCTCACAGATCTGCATCTCCAGG  
CTTTGAGCTCGGAGGGGGGGATCATGTCCACCTGCGGGGCGATAAAGAA  
CACGGTTTCCGGGGCGGGGGAGATGAGCTGGGCCGAAAGCAAGTTCCG  
GAGCAGCTGGGACTTGCCGCAGCCGGTGGGGCCGTAGATGACCCCGATG  
ACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGCTGCCGTCTCCCGG  
AGGAGGGGGGCCACCTCGTTCATCATCTCGCGCACGTGCATGTTCTCGC  
GCACCAGTTCCGCCAGGAGGCGCTCTCCCCCAGGGATAGGAGCTCTTG  
GAGCGAGGCGAAGTTTTTTCAGCGGCTTGAGTCCGTCCGCCATGGGCATT  
TTGGAGAGGGTTTGTGCAAGAGTTCCAGGCGGTCCCAGAGCTCGGTGA  
TGTGCTCTACGGCATCTCGATCCAGCAGACCTCCTCGTTTCGCGGGTTGG  
GACGGCTGCGGGAGTAGGGCACAGACGATGGGCGTCCAGCGCAGCCA  
GGGTCCGGTCTTCCAGGGTCCGAGCGTCCGCGTCAGGGTGGTCTCCGT  
CACGGTGAAGGGGTGCGCGCCGGGCTGGGCGCTTGCGAGGGTGCGCTT  
CAGGCTCATCCGGCTGGTCAAAACCGCTCCCGATCGGCGCCCTGCGCG  
TCGGCCAGGTAGCAATTGACCATGAGTTTCGTAGTTGAGCGCCTCGGCCG  
CGTGGCCTTTGGCGCGGAGCTTACCTTTGGAAGTCTGCCCCGAGGCGGG  
ACAGAGGAGGGACTTGAGGGCGTAGAGCTTGGGGGCGAGGAAGACGG  
ACTCGGGGGCGTAGGCGTCCGCGCCGCACTGGGCGCAGACGGTCTCGC  
ACTCCACGAGCCAGGTGAGGTGCGGCTGGTTCGGGGTCAAAAACAGTT  
TCCCGCCGTTCTTTTTGATGCGTTTCTTACCTTTGGTCTCCATGAGCTCGT  
GTCCCCGCTGGGTGACAAAGAGGCTGTCCGTGTCCCCGTAGACCGACTT  
TATGGGCCGGTCTCGAGCGGTGTGCCGCGGTCTCTCTCGTAGAGGAAC  
CCCGCCCACTCCGAGACGAAAGCCCGGGTCCAGGCCAGCACGAAGGAG  
GCCACGTGGGACGGGTAGCGGTCTGTTGTCCACCAGCGGGTCCACCTTTT  
CCAGGGTATGCAAACACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGAAGGTGAT  
TGGCTTGTAAGTGTAGGCCACGTGACCGGGGGTCCCGGCCGGGGGGGTA  
TAAAAGGGTGCGGGTCCCTGCTCGTCTCACTGTCTTCCGGATCGCTGTC  
CAGGAGCGCCAGCTGTTGGGGTAGGTATTCCCTCTCGAAGGCGGGCATG  
ACCTCGGCACTCAGGTTGTGAGTTTCTAGAAACGAGGAGGATTTGATATT  
GACGGTGCCGGCGGAGATGCCTTTCAAGAGCCCCTCGTCCATCTGGTCA  
GAAAAGACGATCTTTTTGTTGTGCGAGCTTGGTGGCGAAGGAGCCGTAGA  
GGGCGTTGGAGAGGAGCTTGGCGATGGAGCGCATGGTCTGGTTTTTTTC  
CTTGTGCGGCGCGCTCCTTGGCGGCGATGTTGAGCTGCACGTACTCGCGC  
GCCACGCACTTCCATTCGGGGAAGACGGTGGTTCAGCTCGTCCGGCACGA  
TTCTGACCTGCCAGCCCCGATTATGCAGGGTGATGAGGTCCACACTGGT  
GGCCACCTCGCCGCGCAGGGGCTCATTAGTCCAGCAGAGGCGTCCGCC

[1008]

TTGCGCGAGCAGAAGGGGGGCAGGGGGTCCAGCATGACCTCGTCGGGG  
GGGTCCGCATCGATGGTGAAGATGCCGGGCAGGAGGTCGGGGTCAAAG  
TAGCTGATGGAAGTGGCCAGATCGTCCAGGGCAGCTTGCCATTCGCGCA  
CGGCCAGCGCGCGCTCGTAGGGACTGAGGGGCGTGCCCCAGGGCATGG  
GATGGGTAAGCGCGGAGGCGTACATGCCGCAGATGTCGTAGACGTAGAG  
GGGCTCCTCGAGGATGCCGATGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGG  
ATGCTGGCGCGCACGTAGTCATACAGCTCGTGCGAGGGGGCGAGGAGCC  
CCGGGCCAGGTTGGTGC GACTGGGCTTTTCGGCGCGGTAGACGATCTG  
GCGGAAAATGGCATGCGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCCTTTGGAAGATG  
TTGAAGTGGGCGTGGGGCAGTCCGACCGAGTCGCGGATGAAGTGGGCG  
TAGGAGTCTTGACGCTTGGCGACGAGCTCGGCGGTGACTAGGACGTCCA  
GAGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCCTGGATGATGTCATACTTGAGCTGTCCC  
TTTTGTTTTCCACAGCTCGCGGTTGAGAAGGAACTCTTCGCGGTCTTCCA  
GTACTCTTCGAGGGGGAACCCGTCTGATCTGCACGGTAAGAGCCTAGC  
ATGTAGAACTGGTTGACGGCCTTG TAGGGCGCAGCAGCCCTTCTCCACGG  
GGAGGGCGTAGGCCTGGGCGGCCTTGCGCAGGGAGGTGTGCGTGAGGG  
CGAAAGTGTCCCTGACCATGACCTTGAGGAACTGGTGCTTGAAGTCGAT  
ATCGTCGCAGCCCCCTGCTCCCAGAGCTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTG  
TAGGCGGGGTTGGGCAAAGCGAAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGC  
CCGCGCGGGGCATAAAGTTGCGAGTGATGCGGAAAGGTTGGGGCACCT  
CGCCCCGGTTGTTGATGACCTGGGCGGCGAGCACGATCTCGTCGAAGCC  
GTTGATGTTGTGGCCACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGACGCGCCC  
TTGACGTGGGGCAGTTTCTTGAGCTCCTCGTAGGTGAGCTCGTCGGGGT  
CGCTGAGCCCGTGCTGCTCGAGCGCCAGTCGGCGAGATGGGGGTTGGC  
GCGGAGGAAGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTTTGACAGACG  
GTCCCGGTACTGACGGAAGTCTGCCCCAGCGCCATTTTTTCGGGGGTG  
ACGCAGTAGAAGGTGCGGGGGTCCCCGTGCCAGCGATCCCATTTGAGCT  
GGAGGGCGAGATCGAGGGCGAGCTCGACGAGCCGGTCGTCCCCGGAGA  
GTTTCATGACCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTTGCCGAAGGACCCCAT  
CCAGGTGTAGGTTTCCACATCGTAGGTGAGGAAGAGCCTTTCGGTGCGA  
GGATGCGAGCCGATGGGGAAGAACTGGATCTCCTGCCACCAATTGGAGG  
AATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCGCCGAACA  
CTCGTGCTTGTTGTTTATACAAGCGGCCACAGTGCTCGCAACGCTGCACG  
GGATGCACGTGCTGCACGAGCTGTACCTGAGTTCCTTTGACGAGGAATT  
TCAGTGGAAGTGGAGTCGTGGCGCCTGCATCTCGTGCTGTACTACGTC  
GTGGTGGTCCGCCCTGGCCCTCTTCTGCCTCGATGGTGGTCATGCTGACGA  
GCCCCGCGGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCGCGAGCGGGTCGGAGAG  
CGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCCAGGGTCCTGAGACGCT  
GCGGAGTCAGGTCAGTGGGCAGCGGCGGCGCGCGGTTGACTTGACAGGA  
GTTTTTCCAGGGCGCGCGGGAGGTCCAGATGGTACTTGATCTCCACCGC  
GCCATTTGGTGGCGACGTCGATGGCTTGACAGGGTCCCGTGCCCCCTGGGGT  
GTGACCACCGTCCCCCGTTTTCTTCTTGGGCGGCTGGGGCGACGGGGGCG  
GTGCCTCTTCCATGGTTAGAAGCGGCGGCGAGGACGCGCGCCGGGCGG  
CAGGGGCGGCTCGGGGCCCGGAGGCAGGGGCGGCAGGGGCACGTCCG  
CGCCGCGCGCGGGTAGGTTCTGGTACTGCGCCCGGAGAAGACTGGCGTG  
ACCGACGACGCGACGGTTGACGTCTGGATCTGACGCCTCTGGGTGAAG  
GCCACGGGACCCGTGAGTTTGAACCTGAAAGAGAGTTTCGACAGAATCA  
ATCTCGGTATCGTTGACGGCGGCCTGCCGCAGGATCTCTTGACGTCCGC  
CGAGTTGTCTGGTAGGCGATCTCGGTATGAAGTCTCGATCTCCTCCT  
CTTGAAGGTCTCCGCGGCCGCGCGCTCCACGGTGGCCGCGAGGTCTGTT

[1009]

GGAGATGCGGCCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCATGCCCGCCTCGTTC  
CAGACGCGGCTGTAGACCACGACGCCCTCGGGATCGCGGGCGCGCATGA  
CCACCTGGGCGAGGTTGAGCTCCACGTGGCGCGTGAAGACCGCGTAGTT  
GCAGAGGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGGCGATGTGCTCGGTG  
ACGAAGAAATACATGATCCAGCGGCGGAGCGGCATCTCGCTGACGTGCG  
CCAGCGCCTCCAAACGTTCCATGGCCTCGTAAAAGTCCACGGCGAAGTT  
GAAAAACTGGGAGTTGCGCGCCGAGACGGTCAACTCCTCCTCCAGAAG  
ACGGATGAGCTCGGCGATGGTGGCGCGCACCTCGCGCTCGAAGGCCCCC  
GGGAGTTCCTCCACTTCCTCTTCTTCCTCCTCCACTAACATCTCTTCTACT  
TCCTCCTCAGGCGGCAGTGGTGGCGGGGAGGGGGCCTGCGTCGCCGG  
CGGCGCACGGGCAGACGGTTCGATGAAGCGCTCGATGGTCTCGCCGCGCC  
GGCGTCGCATGGTCTCGGTGACGGCGCGCCCGTCCTCGCGGGGCCGAG  
CGTGAAGACGCCGCCGCGCATCTCCAGGTGGCCGGGGGGGTCCCCGTTG  
GGCAGGGAGAGGGCGCTGACGATGCATCTTATCAATTGCCCCGTAGGGA  
CTCCGCGCAAGGACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGGATCTGAAAACCG  
CTGAACGAAGGCTTCGAGCCAGTCGCAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCAC  
GGTTTCTTCTGCGGGTTCATGTTGGTTGGGAGCGGGGCGGGCGATGCTG  
CTGGTGATGAAGTTGAAATAGGCGGTTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGA  
GGAGCACCAGGTCTTTGGGCCCGGCTTGCTGGATGCGCAGACGGTCGGC  
CATGCCCCAGGCGTGGTCCTGACACCTGGCCAGGTCCTTGTTAGTAGTCCT  
GCATGAGCCGCTCCACGGGCACCTCCTCCTCGCCCCGCGCGGCCGTGCAT  
GCGCGTGAGCCCGAAGCCGCGCTGGGGCTGGACGAGCGCCAGGTCGGC  
GACGACGCGCTCGGCGAGGATGGCTTGCTGGATCTGGGTGAGGGTGGTC  
TGGAAGTCATCAAAGTCGACGAAGCGGTGGTAGGCTCCGGTGTTGATGG  
TGTAGGAGCAGTTGGCCATGACGGACCAGTTGACGGTCTGGTGGCCCGG  
ACGCACGAGCTCGTGGTACTTGAGGCGCGAGTAGGCGCGCGTGTGCAA  
GATGTAGTCGTTGCAGGTGCGCACCAGGTACTGGTAGCCGATGAGGAAG  
TGCGGCGGCGGCTGGCGGTAGAGCGGCCATCGCTCGGTGGCGGGGGCG  
CCGGGCGCGAGGTCTTCGAGCATGGTGCGGTGGTAGCCGTAGATGTACC  
TGGACATCCAGGTGATGCCGCGCGCGGTGGTGGAGGCGCGCGGGAAC  
CGCGGACGCGGTTCCAGATGTTGCGCAGCGGCAGGAAGTAGTTTCATGGT  
GGGCACGGTCTGGCCCGTGAGGCGCGCGCAGTCGTGGATGCTCTATACG  
GGCAAAAACGAAAGCGGTCAGCGGCTCGACTCCGTGGCCTGGAGGCTA  
ACCGAACGGGTTGGGCTGCGCGTGTACCCCGGTTTCAATCTCGAATCAG  
GCTGGAGCCGCGAGCTAACGTGGTATTGGCACTCCCGTCTCGACCCAAGC  
CTGCACCAACCCTCCAGGATACGGAGGCGGGTTCGTTTTGCAACTTTTTTT  
TGGAGGCCGGATGAGACTAGTAAGCGCGGAAAGCGGCCGACCGCGATG  
GCTCGCTGCCGTAGTCTGGAGAAGAATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGTGT  
GCCCCGTTTCGAGGCCGCGCGGATTCCGCGGCTAACGAGGGCGTGGCTG  
CCCCGTCGTTTCCAAGACCCCATAGCCAGCCGACTTCTCCAGTTACGGA  
GCGAGCCCCCTCTTTTGTTTTGTTTTGTTCGAGATGCATCCCGTACTGC  
GGCAGATGCGCCCCCACCACCCTCCACCGCAACAACAGCCCCCTCCACA  
GCCGGCGCTTCTGCCCCCGCCCCAGCAGCAACTTCCAGCCACGACCGCC  
GCGGCCGCCGTGAGCGGGGCTGGACAGAGTTATGATCACCAGCTGGCCT  
TGGAAGAGGGCGAGGGGCTGGCGCGCCTGGGGGCGTTCGTGCGCGGAGC  
GGCACC CGCGGTGCAGATGAAAAGGGACGCTCGCGAGGCCTACGTGC  
CCAAGCAGAACCTGTTTCAGAGACAGGAGCGGCGAGGAGCCCGAGGAG  
ATGCGCGCGGCCCGGTTCCACGCGGGGCGGGAGCTGCGGCGCGGCCTG  
GACCGAAAGAGGGTGCTGAGGGACGAGGATTTGAGGCGGACGAGCTG  
ACGGGGATCAGCCCCGCGCGCGCACGTGGCCGCGGCCAACCTGGTC

[1010]

ACGGCGTACGAGCAGACCGTGAAGGAGGAGAGCAACTTCCAAAAATCC  
TTCAACAACCACGTGCGCACCCCTGATCGCGCGCGAGGAGGTGACCCTGG  
GCCTGATGCACCTGTGGGACCTGCTGGAGGCCATCGTGCAGAACCCAC  
CAGCAAGCCGCTGACGGCGCAGCTGTTCTTGGTGGTGCAGCATAGTCGG  
GACAACGAAGCGTTTCAAGGAGGGCGCTGCTGAATATCACCGAGCCCGAG  
GGCCGCTGGCTCCTGGACCTGGTGAACATTCTGCAGAGCATCGTGGTGC  
AGGAGCGCGGGCTGCCGCTGTCCGAGAAGCTGGCGGCCATCAACTTCTC  
GGTGCTGAGTTTGGGCAAGTACTACGCTAGGAAGATCTACAAGACCCCG  
TACGTGCCCATAGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGGTTTTACATGCGCA  
TGACCCTGAAAGTGCTGACCCTGAGCGACGATCTGGGGGTGTACCGCAA  
CGACAGGATGCACCGTGCGGTGAGCGCCAGCAGGCGGCGCGAGCTGAG  
CGACCAGGAGCTGATGCATAGTCTGCAGCGGGCCCTGACCGGGGCCGG  
GACCGAGGGGGAGAGCTACTTTGACATGGGCGCGGACCTGCACTGGCA  
GCCCAGCCCGCCGGGCCCTTGGAGGCGGCGGCAGGACCTACGTAGAAGA  
GGTGGACGATGAGGTGGACGAGGAGGGCGAGTACCTGGAAGACTGATG  
GCGCGACCGTATTTTTGCTAGATGCAACAACAACAGCCACCTCCTGATCC  
CGCGATGCGGGCGGCGCTGCAGAGCCAGCCGTCCGGCATTAACTCCTCG  
GACGATTGGACCCAGGCCATGCAACGCATCATGGCGCTGACGACCCGCA  
ACCCCGAAGCCTTTAGACAGCAGCCCCAGGCCAACCGGCTCTCGGCCAT  
CCTGGAGGCCGTGGTGCCCTCGCGCTCCAACCCACGCACGAGAAGGT  
CCTGGCCATCGTGAACGCGCTGGTGGAGAACAAGGCCATCCGCGGCGA  
CGAGGCCCGCCTGGTGTACAACGCGCTGCTGGAGCGCGTGGCCCGCTAC  
AACAGCACCAACGTGCAGACCAACCTGGACCGCATGGTGACCGACGTG  
CGCGAGGCCGTGGCCCAGCGCGAGCGGTTCCACCGCGAGTCCAACCTG  
GGATCCATGGTGGCGCTGAACGCCCTTCTCAGCACCCAGCCCGCCAACG  
TGCCCCGGGGCCAGGAGGACTACCAAACTTCATCAGCGCCCTGCGCCT  
GATGGTGACCGAGGTGCCCCAGAGCGAGGTGTACCAGTCCGGGGCCGGA  
CTACTTCTTCCAGACCAGTCGCCAGGGCTTGCAGACCGTGAACCTGAGC  
CAGGCTTTCAAGAACTTGCAGGGCCTGTGGGGCGTGCAGGCCCCGGTC  
GGGGACCGCGCGACGGTGTGAGCCTGCTGACGCCGAACCTCGCGCCTG  
CTGCTGCTGCTGGTGGCCCCCTTACGGACAGCGGCAGCATCAACCGCA  
ACTCGTACCTGGGCTACCTGATTAACTGTACCGCGAGGCCATCGGCCAG  
GCGCACGTGGACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACCCACGTGAGCCGC  
GCCCTGGGCCAGGACGACCCGGGCAACCTGGAAGCCACCTGAACTTT  
TTGCTGACCAACCGGTGCGAGAAGATCCCGCCCCAGTACGCGCTCAGCA  
CCGAGGAGGAGCGCATCCTGCGTTACGTGCAGCAGAGCGTGGGCCTGTT  
CCTGATGCAGGAGGGGGCCACCCCCAGCGCCGCGCTCGACATGACCGC  
GCGCAACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAGCAACCGCCCCGTTTCAAT  
AACTGATGGACTACTTGCATCGGGCGGCCCGCCATGAACTCTGACTATTT  
CACCAACGCCATCCTGAATCCCCACTGGCTCCCGCCGCGGGGTTCTAC  
ACGGGCGAGTACGACATGCCCCAGCCCCAATGACGGGTTCTGTGGGACG  
ATGTGGACAGCAGCGTGTCTCCCCCGACCGGGTGCTAACGAGCGCCC  
CTTGTGGAAGAAGGAAGGCAGCGACCGACGCCCCTCCTCGGCGCTGTC  
CGGCCGCGAGGGTGCTGCCGCGGCGGTGCCGAGGCCGCCAGTCCTTTT  
CCGAGCTTGCCCTTCTCGCTGAACAGTATCCGCAGCAGCGAGCTGGGCA  
GGATCACGCGCCCGCGCTTGCTGGGCGAAGAGGAGTACTTGAATGACTC  
GCTGTTGAGACCCGAGCGGGAGAAGAACTTCCCCAATAACGGGATAGA  
AAGCCTGGTGGACAAGATGAGCCGCTGGAAGACGTATGCGCAGGAGCA  
CAGGGACGATCCCCGGGCGTCGAGGGGGGCCACGAGCCGGGGCAGCGC  
CGCCCGTAAACGCCCGGTGGCACGACAGGCAGCGGGACAGATGTGGGA

[1011]

CGATGAGGACTCCGCCGACGACAGCAGCGTGTGGACTTGGGTGGGAG  
TGGTAACCCGTTTCGCTCACCTGCGCCCCCGTATCGGGCGCATGATGTAAG  
AGAAACCGAAATAAATGATACTACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGC  
GTTTCGTTTCTTCTCTGTTGTTGTTGTATCTAGTATGATGAGGCGTGCGTAC  
CCGGAGGGTTCCTCCTCCCTCGTACGAGAGCGTGATGCAGCAGGCGATGG  
CGGCGGCGGCGATGCAGCCCCCGCTGGAGGCTCCTTACGTGCCCCCGCG  
GTACCTGGCGCCTACGGAGGGGCGGAACAGCATTTCGTTACTCGGAGCTG  
GCACCCTTGTACGATACCACCCGGTTGTACCTGGTGGACAACAAGTCGG  
CGGACATCGCCTCGCTGAACTACCAGAACGACCACAGCAACTTCCTGAC  
CACCGTGGTGCAGAACAAATGACTTCACCCCCACGGAGGCCAGCACCCA  
GACCATCAACTTTGACGAGCGCTCGCGGTGGGGCGGCCAGCTGAAAAC  
CATCATGCACACCAACATGCCCAACGTGAACGAGTTCATGTACAGCAAC  
AAGTTCAAGGCGCGGGTGATGGTCTCCCGCAAGACCCCCAATGGGGTGA  
CAGTGACAGAGGATTATGATGGTAGTCAGGATGAGCTGAAGTATGAATG  
GGTGGAATTTGAGCTGCCCCGAAGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATC  
GACCTGATGAACAACGCCATCATCGACAATTACTTGGCGGTGGGGCGGC  
AGAACGGGGTGCTGGAGAGCGACATCGGCGTGAAGTTCGACACTAGGA  
ACTTCAGGCTGGGCTGGGACCCCGTGACCGAGCTGGTCATGCCCGGGGT  
GTACACCAACGAGGCTTTCATCCCGATATTGTCTTGCTGCCCGGCTGCG  
GGGTGGACTTCACCGAGAGCCGCCTCAGCAACCTGCTGGGCATTTCGAA  
GAGGCAGCCCTTCCAGGAAGGCTTCCAGATCATGTACGAGGATCTGGAG  
GGGGGCAACATCCCCGCGCTCCTGGATGTCGACGCCTATGAGAAAAGCA  
AGGAGGATGCAGCAGCTGAAGCAACTGCAGCCGTAGCTACCGCCTCTAC  
CGAGGTCAGGGGCGATAATTTGCAAGCGCCGAGCAGTGGCAGCGGC  
CGAGGCGGCTGAAACCGAAAGTAAGATAGTCATTCAGCCGGTGGAGAA  
GGATAGCAAGAACAGGAGCTACAACGTACTACCGGACAAGATAAACACC  
GCCTACCGCAGCTGGTACCTAGCCTACAACCTATGGCGACCCCGAGAAGG  
GCGTGCGCTCCTGGACGCTGCTCACCACTCGGACGTCACCTGCGGCGT  
GGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCCGACATGATGCAAGACCCGGTCACC  
TTCCGCTCCACGCGTCAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTGGGCGCCGAGC  
TCCTGCCCCTCTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGCAGGCCGTCTACTCG  
CAGCAGCTGCGCGCCTTACCTCGCTTACGCACGCTTCAACCGCTTCCC  
CGAGAACCAGATCCTCGTCCGCCCCGCGCCGCGCCACCATTACCACCGTC  
AGTGAAAACGTTCTGCTCTCACAGATCACGGGACCCTGCCGCTGCGCA  
GCAGTATCCGGGGAGTCCAGCGCGTGACCGTTACTGACGCCAGACGCCG  
CACCTGCCCCCTACGTCTACAAGGCCCTGGGCATAGTCGCGCCGCGCGTC  
CTCTCGAGCCGCACCTTCTAAATGTCCATTCTCATCTCGCCAGTAATAAC  
ACCGGTTGGGGCCTGCGCGCGCCCAGCAAGATGTACGGAGGCGCTCGC  
CAACGCTCCACGCAACACCCCGTGCGCGTGCGCGGGCACTTCCGCGCTC  
CCTGGGGCGCCCTCAAGGGCCGCGTGCGGTGCGGCACCAACCGTCGACG  
ACGTGATCGACCAAGGTGGTGGCCGACGCGCGCAACTACACCCCCGCCG  
CGCGCCCGTCTCCACCGTGGACGCCGTATCGACAGCGTGGTGGCAGAC  
GCGCGCCCGGTACGCCCCGCGCCAAGAGCCGGCGGCGGCGCATCGCCCGG  
CGGCACCGGAGACCCCCGCCATGCGCGCGGCGCGAGCCTTGCTGCGC  
AGGGCCAGGCGCACGGGACGCAGGGCCATGCTCAGGGCGGCCAGACGC  
GCGGCTTCAGGCGCCAGCGCCGGCAGGACCCGGAGACGCGCGGCCACG  
GCGGCGGCAGCGGCCATCGCCAGCATGTCCCGCCCCGCGGCGAGGGAAC  
GTGTACTGGGTGCGCGACGCCGCCACCGGTGTGCGCGTGCCCGTGCGCA  
CCCCCCCCCTCGCACTTGAAGATGTTCACTTCGCGATGTTGATGTGTCC  
CAGCGGCGAGGAGGATGTCCAAGCGCAAATTCAAGGAAGAGATGCTCC

[1012]

AGGTCATCGCGCCTGAGATCTACGGCCCTGCGGTGGTGAAGGAGGAAA  
GAAAGCCCCGCAAAATCAAGCGGGTCAAAAAGGACAAAAAGGAAGAA  
GAAAGTGATGTGGACGGATTGGTGGAGTTTGTGCGCGAGTTCGCCCCC  
GGCGGCGCGTGCAGTGGCGCGGGCGGAAGGTGCAACCGGTGCTGAGAC  
CCGGCACCACCGTGGTCTTCACGCCCCGGCGAGCGCTCCGGCACCGCTTC  
CAAGCGCTCCTACGACGAGGTGTACGGGGATGATGATATTCTGGAGCAG  
GCGGCCGAGCGCCTGGGCGAGTTTGCTTACGGCAAGCGCAGCCGTTCCG  
CACCGAAGGAAGAGGCGGTGTCCATCCCGCTGGACCACGGCAACCCCA  
CGCCGAGCCTCAAGCCCGTGACCTTGACAGCAGGTGCTGCCGACCGCGG  
CGCCGCGCCGGGGGTTCAGCGCGAGGGCGAGGATCTGTACCCACCAT  
GCAGCTGATGGTGCCCAAGCGCCAGAAGCTGGAAGACGTGCTGGAGAC  
CATGAAGGTGGACCCGGACGTGCAGCCCGAGGTCAAGGTGCGGCCCAT  
CAAGCAGGTGGCCCCGGGCCTGGGCGTGCAGACCGTGGACATCAAGAT  
TCCCACGGAGCCCATGGAAACGCAGACCGAGCCCATGATCAAGCCACG  
ACCAGCACCATGGAGGTGCAGACGGATCCCTGGATGCCATCGGCTCCTA  
GTCGAAGACCCCGGCGCAAGTACGGCGCGGCCAGCCTGCTGATGCCCA  
ACTACGCGCTGCATCCTTCCATCATCCCCACGCCGGGCTACCGCGGCACG  
CGCTTCTACCGCGGTCTATACCAGCAGCCGCCCGCCGCAAGACCACCTC  
GCCGCCGCCGTCGCCGCACCGCCGCTGCAACCACCCCTGCCGCCCTGGT  
GCGGAGAGTGTACCGCCGCGGCCGCGCACCTCTGACCCTGCCGCGCGC  
GCGCTACCACCCGAGCATCGCCATTTAAACTTTTCGCCtGCTTTGCAGATCA  
ATGGCCCTCACATGCCGCCTTCGCGTTCCCATACGGGCTACCGAGGAAG  
AAAACCGCGCCCGTAGAAGGCTGGCGGGGAACGGGATGCGTCGCCACCA  
CCACCGGCGGCGGCGCGCCATCAGCAAGCGGTTGGGGGGAGGCTTCCT  
GCCCCGCGCTGATCCCCATCATCGCCGCGGCGATCGGGGGCGATCCCCGGC  
ATTGCTTCCGTGGCGGTGCAGGCCTCTCAGCGCCACTGAGACACACTTG  
GAAACATCTTGTATAAACC<sub>a</sub>ATGGACTCTGACGCTCCTGGTCTGTGAT  
GTGTTTTCTGTAGACAGATGGAAGACATCAATTTTTCTGTCCTGGCTCCGC  
GACACGGCACGCGGCCGTTCATGGGCACCTGGAGCGACATCGGCACCA  
GCCAACTGAACGGGGGCGCCTTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGGCT  
TAAGAATTTTCGGGTCCACGCTTAAAACCTATGGCAGCAAGGCGTGGAAC  
AGCACACAGGGCAGGCGCTGAGGGATAAGCTGAAAGAGCAGAACTTC  
CAGCAGAAGGTGGTCGATGGGCTCGCCTCGGGCATCAACGGGGTGGTG  
GACCTGGCCAACCAGGCCGTGCAGCGGCAGATCAACAGCCGCCTGGAC  
CCGGTGCCGCCCGCCGGCTCCGTGGAGATGCCGCAGGTGGAGGAGGAG  
CTGCCTCCCCTGGACAAGCGGGGCGAGAAGCGACCCCGCCCCGATGCG  
GAGGAGACGCTGCTGACGCACACGGACGAGCCGCCCCCGTACGAGGAG  
GCGGTGAAACTGGGTCTGCCACCACGCGGCCCATCGCGCCCTGGCCA  
CCGGGGTGCTGAAACCCGAAAAGCCCGCGACCCCTGGACTTGCTCTCTCC  
CCAGCCTTCCCGCCCCCTCTACAGTGGCTAAGCCCCTGCCGCCGGTGGCC  
GTGGCCCGCGCGCGACCCGGGGGACCCGCCCGCCCTCATGCCAACTGG  
CAGAGCACTCTGAACAGCATCGTGGGTCTGGGAGTGCAGAGTGTGAAG  
CGCCGCCGCTGCTATTAAACCTACCGTAGCGCTTAACCTTGCTTGTCTGTG  
TGTGTATGTATTATGTCGCCGCCGCCGCTGTCCACCAGAAGGAGGAGTGA  
AGAGGCGCGTCGCCGAGTTGCAAGATGGCCACCCCATCGATGCTGCCCC  
AGTGGGCGTACATGCACATCGCCGGACAGGACGCTTCGGAGTACCTGAG  
TCCGGGTCTGGTGCAGTTTGCCCGCGCCACAGACACCTACTTCAGTCTG  
GGGAACAAGTTTAGGAACCCACCGGTGGCGCCACGCACGATGTGACC  
ACCGACCGCAGCCAGCGGCTGACGCTGCGCTTCGTGCCCGTGGACCGC  
GAGGACAACACCTACTCGTACAAAGTGCGCTACACGCTGGCCGTGGGCG

[1013]

ACAACCGCGTGCTGGACATGGCCAGCACCTACTTTGACATCCGCGGCGT  
GCTGGATCGGGGCCCTAGCTTCAAACCCTACTCCGGCACCGCCTACAAC  
AGTCTGGCCCCCAAGGGAGCACCCAACACTTGTCAAGTGGACATATAAAG  
CCGATGGTGAAACTGCCACAGAAAAACCTATACATATGGAAATGCACC  
CGTGCAGGGCATTAAACATCACAAAAGATGGTATTCAACTTGGAACTGAC  
ACCGATGATCAGCCAATCTACGCAGATAAAACCTATCAGCCTGAACCTCA  
AGTGGGTGATGCTGAATGGCATGACATCACTGGTACTGATGAAAAGTATG  
GAGGCAGAGCTCTTAAGCCTGATACCAAAATGAAGCCTTGTTATGGTTCT  
TTTGCCAAGCCTACTAATAAAGAAGGAGGTCAGGCAAATGTGAAAACAG  
GAACAGGCACTACTAAAGAATATGACATAGACATGGCTTTCTTTGACAAC  
AGAAGTGCGGCTGCTGCTGGCCTAGCTCCAGAAATTGTTTTGTATACTGA  
AAATGTGGATTTGGAACTCCAGATACCCATATTGTATACAAAGCAGGCA  
CAGATGACAGCAGCTCTTCTATTAAATTTGGGTCAGCAAGCCATGCCAAC  
AGACCTAACTACATTGGTTTTAGAGACAACCTTTATCGGGCTCATGTACTA  
CAACAGCACTGGCAATATGGGGGTGCTGGCCGGTCAGGCTTCTCAGCTG  
AATGCTGTGGTTGACTTGCAAGACAGAAACACCGAGCTGTCCTACCAGC  
TCTTGCTTGACTCTCTGGGTGACAGAACCCGGTATTTCAAGTATGTGGAAT  
CAGGCGGTGGACAGCTATGATCCTGATGTGCGCATTATTGAAAATCATGG  
TGTGGAGGATGAACTTCCCAACTATTGTTTCCCTCTGGATGCTGTTGGCA  
GAACAGATACTTATCAGGGAATTAAGGCTAATGGAAGTATGCAAAACCAC  
ATGGACCAAAGATGACAGTGTCAATGATGCTAATGAGATAGGCAAGGGT  
AATCCATTGCGCCATGGAAATCAACATCCAAGCCAACCTGTGGAGGAACT  
TCCTCTACGCCAACGTGGCCCTGTACCTGCCCGACTCTTACAAGTACACG  
CCGGCCAATGTTACCCTGCCACCAACACCAACACCTACGATTACATGAA  
CGGCCGGGTGGTGGCGCCCTCGCTGGTGGACTCCTACATCAACATCGGG  
GCGCGCTGGTCGCTGGATCCCATGGACAACGTGAACCCCTTCAACCACC  
ACCGCAATGCGGGGCTGCGCTACCGCTCCATGCTCCTGGGCAACGGGCG  
CTACGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCCCAGAAATTTTCGCCATCAAGA  
GCCTCCTGCTCCTGCCCCGGGTCTACACCTACGAGTGGAACCTTCCGCAA  
GGACGTCAACATGATCCTGCAGAGCTCCCTCGGCAACGACCTGCGCACG  
GACGGGGCCTCCATCTCCTTCACCAGCATCAACCTCTACGCCACCTTCTT  
CCCCATGGCGCACAAACACGGCCTCCACGCTCGAGGCCATGCTGCGCAAC  
GACACCAACGACCAGTCCTTCAACGACTACCTCTCGGCGGCCAACATGC  
TCTACCCCATCCCGGCCAACGCCACCAACGTGCCCATCTCCATCCCCTCG  
CGCAACTGGGCGCCTTCCGCGGCTGGTCCTTACGCGTCTCAAGACCA  
AGGAGACGCCCTCGCTGGGCTCCGGGTTCGACCCCTACTTCGTCTACTC  
GGGCTCCATCCCCTACCTCGACGGCACCTTCTACCTCAACCACACCTTCA  
AGAAGGTCTCCATCACCTTCGACTCCTCCGTCAGCTGGCCCGGCAACGA  
CCGGCTCCTGACGCCAACGAGTTCGAAATCAAGCGCACCGTCGACGGC  
GAGGGCTACAACGTGGCCCAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTCTTG  
GTCCAGATGCTGGCCCACTACAACATCGGCTACCAGGGCTTCTACGTGCC  
CGAGGGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTCCGCAACTTCCAGCCC  
ATGAGCCGCCAGGTGGTGGACGAGGTCAACTACAAGGACTACCAGGCC  
GTCACCTTGGCCTACCAGCACAACTCGGGCTTCGTCGGCTACCTCG  
CGCCACCATGCGCCAGGGCCAGCCCTACCCCGCCAACCTACCCCTACCC  
GCTCATCGGCAAGAGCGCCGTCACCAGCGTCACCCAGAAAAAGTTCCTC  
TGCGACAGGGTCATGTGGCGCATCCCCTTCTCCAGCAACTTCATGTCCAT  
GGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTATGCCAACTCCGCC  
CACGCGCTAGACATGAATTTGGAAGTCGACCCCATGGATGAGTCCACCC  
TTCTCTATGTTGTCTTCGAAGTCTTCGACGTCGTCCGAGTGCACCAGCCC

[1014]

CACCGCGGCGTCATCGAGGCCGTCTACCTGCGCACCCCCTTCTCGGCCG  
GTAACGCCACCACCTAAGCTCTTGCTTCTTGCAAGCCATGGCCGCGGGC  
TCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCATCCGCGACCTGGGCTGCGGGC  
CCTACTTCTGGGCACCTTCGATAAGCGCTTCCCGGGATTCATGGCCCCG  
CACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTCAACACGGCCGGCCGCGAGACCGGG  
GGCGAGCACTGGCTGGCCTTCGCCTGGAACCCGCGCTCGAACACCTGCT  
ACCTCTTCGACCCCCTTCGGGTTCTCGGACGAGCGCCTCAAGCAGATCTA  
CCAGTTCGAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGCGAGCGCCCTGGCCACCGA  
GGACCGCTGCGTCACCCTGGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCAGGGTCC  
GCGCTCGGCCGCGCTGCGGGCTCTTCTGCTGCATGTTCTGCACGCCTTCG  
TGCACTGGCCCGACCGCCCCATGGACAAGAACCCCAACCATGAACTTGCT  
GACGGGGGTGCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCAC  
CCTGCGCCGCAACCAGGAGGCGCTCTACCGCTTCTCAACTCCCACTCC  
GCCTACTTTCGCTCCCACCGCGCGCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTTCG  
ACCGCATGAATCAAGACATGTAAACCGTGTGTGTATGTTAAATGTCTTTA  
ATAAACAGCACTTTCATGTTACACATGCATCTGAGATGATTTATTTAGAAA  
TCGAAAGGGTTCTGCCGGGTCTCGGCATGGCCCCGCGGGCAGGGACACG  
TTGCGGAACCTGGTACTTGGCCAGCCACTTGAACTCGGGGATCAGCAGTT  
TGGGCAGCGGGGTGTGCGGGAAGGAGTCGGTCCACAGCTTCCGCGTCA  
GTTGCAGGGCGCCCAGCAGGTGCGGCGCGGAGATCTTGAAATCGCAGTT  
GGGACCCGCGTTCTGCGCGCGGGAGTTGCGGTACACGGGGTTGCAGCA  
CTGGAACACCATCAGGGCCGGGTGCTTCACGCTCGCCAGCACCGTCGCG  
TCGGTGATGCTCTCCACGTCGAGGTCTCTCGGCGTTGGCCATCCCGAAGG  
GGGTCACTTTGCAGGTCTGCCTTCCCATGGTGGGCACGCACCCGGGCTT  
GTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGGATCAGCATCATCTGGGCCTGGTCG  
GCGTTCATCCCCGGGTACATGGCCTTCATGAAAGCCTCCAATTGCCTGAA  
CGCTGCTGGGCCTTGGCTCCCTCGGTGAAGAAGACCCCGCAGGACTTG  
CTAGAGAACTGGTTGGTGGCGCACCCGGCGTCGTGCACGCAGCAGCGC  
GCGTCGTTGTTGGCCAGCTGCACCACGCTGCGCCCCCAGCGGTTCTGGG  
TGATCTTGGCCCGGTGCGGGTTCTCCTTCAGCGCGCGCTGCCCGTTCTCG  
CTCGCCACATCCATCTCGATCATGTGCTCCTTCTGGATCATGGTGGTCCCG  
TGCAGGCACCGCAGCTTGCCCTCGGCCTCGGTGCACCCGTGCAGCCACA  
GCGCGCACCCGGTGCACCTCCAGTTCTTGTGGGCGATCTGGGAATGCGC  
GTGCACGAAGCCCTGCAGGAAGCGGCCCATCATGGTGGTCAGGGTCTTG  
TTGCTAGTGAAGGTCAGCGGAATGCCGCGGTGCTCCTCGTTGATGTACA  
GGTGGCAGATGCGGCGGTACACCTCGCCCTGCTCGGGCATCAGCTGGAA  
GTTGGCTTTCAGGTGCGTCTCCACGCGGTAGCGGTCCATCAGCATAGTCA  
TGATTTCCATACCCCTTCTCCAGGCCGAGACGATGGGCAGGCTCATAGGG  
TTCTTCACCATCATCTTAGCGCTAGCAGCCGCGGCCAGGGGGTCTGCTCTC  
GTCCAGGGTCTCAAAGCTCCGCTTGCCGTCTTCTCGGTGATCCGCACC  
GGGGGGTAGCTGAAGCCACGGCCGCCAGCTCCTCCTCGGCCTGTCTTT  
CGTCCTCGCTGTCCTGGCTGACGTCTGTCAGGACCACATGCTTGGTCTTG  
CGGGGTCTTCTTCTTGGGCGGCAGCGGCGGCGGAGATGTTGGAGATGGCG  
AGGGGGAGCGCGAGTTCTCGCTCACCCTACTATCTCTTCTTCTTGG  
TCCGAGGCCACGCGGCGGTAGGTATGTCTCTTCGGGGGCAGAGGCGGAG  
GCGACGGGCTCTCGCCGCCGCGACTTGGCGGATGGCTGGCAGAGCCCCT  
TCCGCGTTTCGGGGGTGCGCTCCCGGCGGCGCTCTGACTGACTTCTCTCCG  
CGGCCCGGCCATTGTGTTCTCCTAGGGAGGAACAACAAGCATGGAGACTC  
AGCCATCGCCAACCTCGCCATCTGCCCCACCGCCGACGAGAAGCAGCA  
GCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCGCCAGCCCCGCCACCTCC

[1015]

GACGCGGCCGTCCCAGACATGCAAGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTG  
ACCTGGGCTATGTGACGCCCCGCGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCAGTGC  
GCTTTTCAACAAGAAGAGATACACCAAGAACAGCCAGAGCAGGAAGCAG  
AGAATGAGCAGAGTCAGGCTGGGCTCGAGCATGACGGCGACTACCTCC  
ACCTGAGCGGGGGGAGGACGCGCTCATCAAGCATCTGGCCCCGGCAGG  
CCACCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCACCGAGGTGCCCTCAG  
CGTGGAGGAGCTCAGCCGCGCCTACGAGTTGAACCTCTTCTCGCCGCGC  
GTGCCCCCAAGCGCCAGCCCAATGGCACCTGCGAGCCCAACCCGCGCC  
TCAACTTCTACCCGGTCTTCGCGGTGCCCGAGGCCCTGGCCACCTACCA  
CATCTTTTTCAAGAACC AAAAGATCCCCGTCTCCTGCCGCGCCAACCGC  
ACCCGCGCCGACGCCCTTTTCAACCTGGGTCCCGGCGCCCGCCTACCTG  
ATATCGCCTCCTTGGAAGAGGTTCCCAAGATCTTCGAGGGTCTGGGCAG  
CGACGAGACTCGGGCCGCGAACGCTCTGCAAGGAGAAGGAGGAGAGC  
ATGAGCACACAGCGCCCTGGTCGAGTTGGAAGGCGACAACGCGCGGC  
TGCGCGGTGCTCAAACGCACGGTCGAGCTGACCCATTTGCGCTACCCGGC  
TCTGAACCTGCCCCCAAAGTCATGAGCGCGGTCTATGGACCAGGTGCTC  
ATCAAGCGCGCGTCTGCCCATCTCCGAGGACGAGGGCATGCAAGACTCCG  
AGGAGGGCAAGCCCCGTGGTCAGCGACGAGCAGCTGGCCCCGGTGGCTGG  
GTCTTAATGCTAGTCCCCAGAGTTTGGAAGAGCGGCGCAAACCTCATGAT  
GGCCGTGGTCTTGGTGACCGTGAGCTGGAGTGCCTGCGCCGCTTCTTC  
GCCGACGCGGAGACCCTGCGCAAGGTGAGGAGAACCTGCACTACCTC  
TTCAGGCACGGGTTCGTGCGCCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGC  
TGACCAACCTGGTCTCCTACATGGGCATCTTGACAGAGAACCGCCTGGG  
GCAGAACGTGCTGCACACCACCCTGCGCGGGGAGGCCCGGCGCGACTA  
CATCCGCGACTGCGTCTACCTCTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGGGC  
ATGGGCGTGTGGCAGCAGTGTCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTC  
TGCAAGCTCCTGCAGAAAGAACCTCAAGGGTCTGTGGACCGGGTTCGAC  
GAGCGCACCAACCGCCTCGGACCTGGCCGACCTCATTTTCCCCGAGCGCC  
TCAGGCTGACGCTGCGCAACGGCCTGCCCGACTTTATGAGCCAAAGCAT  
GTTGCAAAACTTTTCGCTCTTTCATCCTCGAACGCTCCGGAATCCTGCCCG  
CCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGACTTCGTGCCGCTGACCTTCCGCGA  
GTGCCCCCGCCGCTGTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCGCCTGGCCAAC  
TACCTGGCCTACCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGGCGAGGGCC  
TGCTCGAGTGCCACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCGCAACCGCTCCCT  
GGCCTGCAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCATCGGCACCTTC  
GAGTTGCAAGGGCCCCAGCGAAGGCGAGGGTTAGCCGCCAAGGGGGGT  
CTGAAACTACCCCCGGGGCTGTGGACCTCGGCCTACTTGCGCAAGTTCTG  
TGCCCGAGGACTACCATCCCTTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAATCC  
CATCCGCCCAAGGCCGAGCTGTCGGCCTGCGTCATCACCCAGGGGGCGA  
TCCTGGCCCAATTGCAAGCCATCCAGAAATCCCGCCAAGAATCTTGCTG  
AAAAAGGGCCGCGGGGTCTACCTCGACCCCCAGACCGGTGAGGAGCTC  
AACCCCGGCTTCCCCCAGGATGCCCCGAGGAAACAAGAAGCTGAAAGT  
GGAGCTGCCGCCCCTGGAGGATTTGGAGGAAGACTGGGAGAACAGCAG  
TCAGGCAGAGGAGGAGGAGATGGAGGAAGACTGGGACAGCACTCAGG  
CAGAGGAGGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGAGGAAGACGAGGAGGAG  
GCAGAGGAGGAGGTGGAAGAAGCAGCCGCCGCCAGACCGTTCGTCTCTCG  
GCGGGGGAGAAAGCAAGCAGCACGGATAACCATCTCCGCTCCGGGTCTCG  
GGTCCCGCTCGACCACACAGTAGATGGGACGAGACCGGACGATTCCCGA  
ACCCACCAACCCAGACCGGTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCT  
GGCGGGGGCACAAAAACGCCATCGTCTCCTGCTTGCAAGGCCTGCGGGG

[1016]

GCAACATCTCCTTCACCCGGCGCTACCTGCTCTTCCACCGCGGGGTGAA  
CTTTCCCCGCAACATCTTGCACTACTACCGTCACCTCCACAGCCCCTACT  
ACTTCCAAGAAGAGGGCAGCAGCAGCAGAAAAAGACCAGCAGAAAACC  
AGCAGCTAGAAAATCCACAGCGGCGGCAGCAGGTGGACTGAGGATCGC  
GGCGAACGAGCCGGCGCAAACCCGGGAGCTGAGGAACCGGATCTTTCC  
CACCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAGTCGGGGGCAGGAGCAGGAACTG  
AAAGTCAAGAACCGTTCTCTGCGCTCGCTCACCCGCAGTTGTCTGTATC  
ACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGCACTCTCGAGGACGCCGAGGCTC  
TCTTCAACAAGTACTGCGCGCTCACTCTTAAAGAGTAGCCCGCGCCCGC  
CCAGTCGCAGAAAAAGGCGGGAATTACGTCACCTGTGCCCTTCGCCCTA  
GCCGCCTCCACCCATCATCATGAGCAAAGAGATTCCCACGCCTTACATGT  
GGAGCTACCAGCCCCAGATGGGCCTGGCCGCCGGTGCCGCCAGGACTA  
CTCCACCCGCATGAATTGGCTCAGCGCCGGGCCCCGCGATGATCTCACGG  
GTGAATGACATCCGCGCCCCACCGAAACCAGATACTCCTAGAACAGTCAG  
CGCTCACCGCCACGCCCCGCAATCACCTCAATCCGCGTAATTGGCCCCGCC  
GCCCTGGTGTACCAGGAAATTCCCCAGCCCACGACCGTACTACTTCCGC  
GAGACGCCCAGGCCGAAGTCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGG  
CGGGCGGCGCCACCCTGTGTCTGTCACCGCCCCGCTCAGGGTATAAAGCG  
GCTGGTGATCCGGGGCAGAGGCACACAGCTCAACGACGAGGTGGTGAG  
CTCTTCGCTGGGTCTGCGACCTGACGGAGTCTTCCAACCTCGCCGGATCG  
GGGAGATCTTCTTCACGCCTCGTCAGGCCGTCTGACTTTGGAGAGTT  
CGTCCTCGCAGCCCCGCTCGGGTGGCATCGGCACTCTCCAGTTCGTGGA  
GGAGTTCACTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTTCTCCGGCTCCCCCGGCC  
ACTACCCGGACGAGTTTATCCCGAAGTTCGACGCCATCAGCGAGTCGGT  
GGACGGCTACGATTGAACTAATCACCCCTTATCCAGTGAAATAAAGAT  
CATATTGATGATGATTTTACAGAAATAAAAAATAATCATTTGATTTGAAAT  
AAAGATACAATCATATTGATGATTTGAGTTTAAACAAAAAATAAAGAATC  
ACTTACTTGAAATCTGATACCAGGTCTCTGTCCATGTTTTCTGCCAACAC  
CACTTCACTCCCCCTCTTCCCAGCTCTGGTACTGCAGGCCCGGCGGGCT  
GCAAACCTCCTCCACACGCTGAAGGGGATGTCAAATTCCTCCTGTCCCTC  
AATCTTCATTTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAAGCGCGTCCGGGTGGAT  
GATGACTTCGACCCCGTCTACCCCTACGATGCAGACAACGCACCGACCG  
TGCCCTTCATCAACCCCCCTTCGTCTCTTCAGATGGATTCCAAGAGAAG  
CCCCCTGGGGGTGTTGTCCCTGCGACTGGCCGACCCCGTCACCACCAAGA  
ACGGGGAAATCACCTCAAGCTGGGAGAGGGGGTGGACCTCGATTCTCTC  
GGGAAAACCTCATCTCCAACACGGCCACCAAGGCCGCCGCCCTCTCAGT  
TTTTCCAACAACACCATTTCCCTTAACATGGATCACCCCTTTTACACTAAA  
GATGGAAAATTATCCTTACAAGTTTCTCCACCATTAAATATACTGAGAAC  
AGCATTCTAAACACACTAGCTTTAGGTTTTGGATCAGGTTTAGGACTCCG  
TGGCTCTGCCTTGGCAGTACAGTTAGTCTCTCCACTTACATTTGATACTG  
ATGGAAACATAAAGCTTACCTTAGACAGAGGTTTGCATGTTACAACAGG  
AGATGCAATTGAAAGCAACATAAGCTGGGCTAAAGGTTTAAATTTGAA  
GATGGAGCCATAGCAACCAACATTGGAAATGGGTTAGAGTTTGAAGCA  
GTAGTACAGAAACAGGTGTTGATGATGCTTACCCAATCCAAGTTAAACTT  
GGATCTGGCCTTAGCTTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGGTAACA  
AAGAAGACGATAAACTCACTTTGTGGACAACACCTGATCCATCACCAAA  
CTGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGCAAAACTAACACTTTGCTTGACTA  
AATGTGGTAGTCAAATACTGGCCACTGTGTCTAGTCTTAGTTGTAGGAAGT  
GGAAACCTAAACCCCATTAAGTGGCACCGTAAGCAGTGCTCAGGTGTTTC  
TACGTTTTGATGCAAACGGTGTCTTTTAAACAGAACATTCTACACTAAAA

[1017]

AAATACTGGGGGTATAGGCAGGGAGATAGCATAGATGGCACTCCATATAC  
CAATGCTGTAGGATTCATGCCCAATTTAAAAGCTTATCCAAAGTCACAAA  
GTTCTACTACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGTATACATGAATGGAGATG  
TTTCAAACCTATGCTTCTCACTATAACCCCTCAATGGTACTGATGACAGC  
AACAGTACATATTCAATGTCAATTTTCATACACCTGGACTAATGGAAGCTAT  
GTTGGAGCAACATTTGGGGCTAACTCTTATACCTTCTCATACATCGCCCA  
AGAATGAACACTGTATCCCACCCCTGCATGCCAACCCTTCCCACCCCACTC  
TGTGGAACAACTCTGAAACACAAAATAAAATAAAGTTCAAGTGTTTTA  
TTGATTCAACAGTTTTACAGGATTCGAGCAGTTATTTTTCTCCACCCTCC  
CAGGACATGGAATACACCACCCTCTCCCCCGCACAGCCTTGAACATCT  
GAATGCCATTGGTGATGGACATGCTTTTGGTCTCCACGTTCCACACAGTT  
TCAGAGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACCCTCCGGG  
CACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTCAACAGCTGAGGATTGTCTCGG  
TGGTCGGGATCACGGTTATCTGGAAGAAGCAGAAGAGCGGCGGTGGGA  
ATCATAGTCCGCGAACGGGATCGGCCGGTGGTGTTCGCATCAGGCCCCGC  
AGCAGTCGCTGCCGCCGCCGCTCCGTCAAGCTGCTGCTCAGGGGGTCCG  
GGTCCAGGGACTCCCTCAGCATGATGCCACGGCCCTCAGCATCAGTCG  
TCTGGTGCGGCGGGCGCAGCAGCGCATGCGGATCTCGCTCAGGTCGCTG  
CAGTACGTGCAACACAGAACCACCAGGTTGTTCAACAGTCCATAGTTCA  
ACACGCTCCAGCCGAACTCATCGCGGGAAGGATGCTACCCACGTGGCC  
GTCGTACCAGATCCTCAGGTAAATCAAGTGGTGCCCCCTCCAGAACACG  
CTGCCACGTACATGATCTCCTTGGGCATGTGGCGGTTACCACCTCCCG  
GTACCACATCACCTCTGGTTGAACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGGA  
ACCACAGGGCCAGCACCCGCCCGCCCGCCATGCAGCGAAGAGACCCCG  
GGTCCCGGCAATGGCAATGGAGGACCCACCGCTCGTACCCGTGGATCAT  
CTGGGAGCTGAACAAGTCTATGTTGGCACAGCACAGGCATATGCTCATG  
CATCTCTTCAGCACTCTCAACTCCTCGGGGGTCAAAACCATATCCCAGGG  
CACGGGGAACCTCTTGCAGGACAGCGAACCCCGCAGAACAGGGCAATCC  
TCGCACAGAACTTACATTGTGCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGC  
ACCGGGTGATCCTCCACCAGAGAAGCGCGGGTCTCGGTCTCCTCACAGC  
GTGGTAAGGGGGCCGGCCGATACGGGTGATGGCGGGACGCGGCTGATCG  
TGTTTCGCGACCGTGTATGATGCAGTTGCTTTTCGGACATTTTCGTACTTG  
CTGTAGCAGAACCTGGTCCGGGCGCTGCACACCGATCGCCGGCGGCGGT  
CTCGGCGCTTGGAACGCTCGGTGTTGAAATTGTAAAACAGCCACTCTCT  
CAGACCGTGCAGCAGATCTAGGGCCTCAGGAGTGATGAAGATCCCATCA  
TGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACCGTGGAATGGGCCAGACCCA  
GCCAGATGATGCAATTTTGTGGGTTTCGGTGACGGCGAGCCTCGGGAA  
CAACGATGAAGTAAATGCAAGCGGTGCGTTCAGCATGGTTAGTTAGCT  
GATCTGTAGAAAAACAAAATGAACATTAAACCATGCTAGCCTGGCGA  
ACAGGTGGGTAAATCGTTCTCTCCAGCACCAAGGCAGGCCACGGGGTCTC  
CGGCGCGACCCCTCGTAAAAATTGTCGCTATGATTGAAAACCATCACAGA  
GAGACGTTCCCGGTGGCCGGCGTGAATGATTTCGACAAGATGAATACACC  
CCCGGAACATTGGCGTCCGCGAGTGAAAAAAGCGCCCGAGGAAGCAA  
TAAGGCACTACAATGCTCAGTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATGCG  
GATGAAGCACAAAATTCTCAGGTGCGTACAAAATGTAATTACTCCCCTCC  
TGCACAGGCAGCAAAGCCCCCGATCCCTCCAGGTACACATACAAAGCCT  
CAGCGTCCATAGCTTACCGAGCAGCAGCACACAACAGGCGCAAGAGTC  
AGAGAAAGGCTGAGCTCTAACCTGTCCACCCGCTCTCTGCTCAATATATA  
GCCAGATCTACACTGACGTAAAGGCCAAAGTCTAAAAATACCCGCCAA  
ATAATCACACACGCCCAGCACACGCCCAGAAACCGGTGACACACTCAA

[1018]

```
AAAAATACGCGCACTTCCTCAAACGCCCAAACCTGCCGTCATTTCCGGG
TTCCCACGCTACGTCATCAAACACGACTTTCAAATTCCGTCGACCGTTA
AAAACGTCACCCGCCCGCCCCCTAACGGTCGCCCGTCTCTCAGCCAATC
AGCGCCCCGCATCCCCAAATTCAAACACCTCATTTGCATATTAACGCGCA
CAAAAAGTTTGAGGTATATTATTGATGATG
```

[1019] 参考文献

[1020] 1.Desrichard,A.,Snyder,A.&Chan,T.A.Cancer Neoantigens and Applications for Immunotherapy.Clin.Concer Res.Off.J Am.Assoc.Cancer Res.(2015). doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-3175

[1021] 2.Schumacher,T.N.&Schreiber,R.D.Neoantigens in cancer immunotherapy.Science 348,69-74(2015).

[1022] 3.Gubin,M.M.,Artyomov,M.N.,Mardis,E.R&Schreiber,R.D.Tumor neoantigens:building a framework for personalized cancer immunotherapy.J.Clin.Invest.125,3413-3421(2015).

[1023] 4.Rizvi,N.A.et al.Cancer immunology.Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer.Science 348,124-128(2015).

[1024] 5.Snyder,A.et al.Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma.N.Engl.J.Med.371,2189-2199(2014).

[1025] 6.Carreno,B.M.et al.Cancer immunotherapy.A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells.Science 348,803-808(2015).

[1026] 7.Tran,E.et al.Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4+T cells in a patient with epithelial cancer.Science 344,641-645(2014).

[1027] 8.Hacohen,N.&Wu,C.J.-Y.United States Patent Application:20110293637-COMPOSITIONS AND METHODS OF IDENTIFYING TUMOR SPECIFIC NEOANTIGENS.(A1).at<<http://appft1.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1-PT01&Sect2=HITOFF&d=PG01&p=1&u=/netahtml/PTO/srchnum.html&r=1&f=G&l=50&s1=20110293637.PG&NR>>

[1028] 9.Lundegaard,C.,Hoof,I.,Lund,O.&Nielsen,M.State of the art and challenges in sequence based T-cell epitope prediction.Immunome Res.6 Suppl 2,S3(2010).

[1029] 10.Yadav,M.et al.Predicting immunogenic tumour mutations by combining mass spectrometry and exome sequencing.Nature 515,572-576(2014).

[1030] 11.Bassani-Stenberg,M.,Pletscher-Frankild,S.,Jensen,L.J.&Mann,M.Mass spectrometry of human leukocyte antigen class I peptidomes reveals strong effects of protein abundance and turnover on antigen presentation.Mol.Cell.Proteomics MCP 14,658-673(2015).

[1031] 12.Van Allen,E.M.et al.Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma.Science 350,207-211(2015).

[1032] 13Yoshida,K.&Ogawa,S.Splicing factor mutations and cancer.Wiley

Interdiscip.Rev.RNA 5,445-459(2014) .

[1033] 14.Cancer Genome Atlas Research Network.Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma.Nature 511,543-550(2014) .

[1034] 15.Rajasagi,M.et al.Systematic identification of personal tumor-specific neoantigens in chronic lymphocytic leukemia.Blood 124,453-462(2014) .

[1035] 16.Downing,S.R.et al.United States Patent Application:0120208706-OPTIMIZATION OF MULTIGENE ANALYSIS OF TUMOR SAMPLES. (A1) .at <[http://appft1.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PT01&Sect2=HITOFF&d=PG01&p=1&u=/netahtml/PTO/srchnum.html&r=1&f=G&l=50&s1=20120208706\\_PGNR](http://appft1.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PT01&Sect2=HITOFF&d=PG01&p=1&u=/netahtml/PTO/srchnum.html&r=1&f=G&l=50&s1=20120208706_PGNR)>

[1036] 17.Target Capture for NextGen Sequencing-IDT.at<<http://www.idtdna.com/pages/products/nextgen/target-capture>>

[1037] 18.Shukla,S.A.et al.Comprehensive analysis of cancer-associated somatic mutations in class I HLA genes.Nat.Biotechnol.33,1152-1158(2015) .

[1038] 19.Cieslik,M.et al.The use of exome capture RNA-seq for highly degraded RNA with application to clinical cancer sequencing.Genome Res.25, 1372-1381(2015) .

[1039] 20.Bodini,M.et al.The hidden genomic landscape of acute myeloid leukemia:subclonal structure revealed by undetected mutations.Blood 125,600-605(2015) .

[1040] 21.Saunders,C.T.et al.Strelka:accurate somatic small-variant calling from sequenced tumor-normal sample pairs.Bioinforma.Oxf.Engl.28,1811-1817 (2012) .

[1041] 22.Cibulskis,K.et al.Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples.Nat.Biotechnol.31,213-219(2013) .

[1042] 23.Wilkerson,M.D.et al.Integrated RNA and DNA sequencing improves mutation detection in low purity tumors.Nucleic Acids Res.42,e107(2014) .

[1043] 24.Mose,L.E.,Wilkerson,M.D.,Hayes,D.N.,Perou,C.M.&Parker,J.S.ABRA: improved coding indel detection via assembly-based realignment.Bioinforma.Oxf.Engl.30,2813-2815(2014) .

[1044] 25.Ye,K.,Schulz,M.H.,Long.Q.,Apweiler,R.&Ning,Z.Pindel:a pattern growth approach to detect break points of large deletions and medium sized insertions from paired-end short reads.Bioinforma.Oxf.Engl.25,2865-2871 (2009) .

[1045] 26.Lam,H.Y.K.et al.Nucleotide-resolution analysis of structural variants using BreakSeq and a breakpoint library.Nat.Biotechnol.28,47-55 (2010) .

[1046] 27.Frampton,G.M.et al.Development and validation of a clinical cancer genomic profiling test based on massively parallel DNA sequencing.Nat.Biotechnol.31,1023-1031(2013) .

- [1047] 28.Boegel,S.et al.HLA typing from RNA-Seq sequence reads.Genome Med.4,102(2012) .
- [1048] 29.Liu,C.et al.ATHLATES:accurate typing of human leukocyte antigen through exome sequencing.Nucleic Acids Res.41,e142(2013) .
- [1049] 30.Mayor,N.P.et al.HLA Typing for the Next Generation.PloS One 10, e0127153(2015) .
- [1050] 31.Roy,C.K.,Olson,S.,Graveley,B.R.,Zamore,P.D.&Moore,M.J.Assessing long-distance RNA sequence connectivity via RNA-templated DNA-DNA ligation.eLife 4,(2015) .
- [1051] 32.Song,L.&Florea,L.CLASS:constrained transcript assembly of RNA-seq reads.BMC Bioinformatics 14 Suppl 5,S14(2013) .
- [1052] 33.Maretty,L.,Sibbesen,J.A.&Krogh,A.Bayesian transcriptome assembly.Genome Biol.15,501(2014) .
- [1053] 34.Pertea,M et al.StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads.Nat.Biotechnol.33,290-295(2015) .
- [1054] 35.Roberts,A.,Pimentel,H.,Trapnell,C.&Pachter,L.Identification of novel transcripts in annotated genomes using RNA-Seq.Bioinforma.Oxf.Engl.(2011).doi:10.1093/bioinformatics/btr355
- [1055] 36.Vitting-Seerup,K.,Porse,B.T.,Sandelin,A.&Waage,J.spliceR:an R package for classification of alternative splicing and prediction of coding potential from RNA-seq data.BMC Bioinformatics 15,81(2014) .
- [1056] 37.Rivas,M.A.et al.Human genomics.Effect of predicted protein-truncating genetic variants on the human transcriptome.Science 348,666-669 (2015) .
- [1057] 38.Skelly,D.A.,Johansson,M.,Madeoy,J.,Wakefield,J.&Akey,I.M.A powerful and flexible statistical framework for testing hypotheses of allele-specific gene expression from RNA-seq data.Genome Res.21,1728-1737(2011) .
- [1058] 39.Anders,S.,Pyl,P.T.&Huber,W.HTSeq-a Python framework to work with high-throughput sequencing data.Bioinforma.Oxf.Engl.31,166-169(2015) .
- [1059] 40.Furney,S.J.et al.SF3B1 mutations are associated with alternative splicing in uveal melanoma.Cancer Discov.(2013).doi:10.1158/2159-8290.CD-13-0330
- [1060] 41.Zhou,Q.at al.A chemical genetics approach for the functional assessment of novel cancer genes.Cancer Res.(2015).doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-2930
- [1061] 42.Maguire,S.L.at al.SF3B1 mutations constitute a novel therapeutic target in breast cancer.J.Pathol.235,571-580(2015) .
- [1062] 43.Carithers,L.J.et al.A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement:The GTEx Project.Biopreservation Biobanking 13,311-319

(2015) .

[1063] 44.Xu,G.et al.RNA CoMPASS:a dual approach for pathogen and host transcriptome analysis of RNA-seq datasets.PloS One 9,e89445(2014) .

[1064] 45.Andreatta,M.&Nielsen,M.Gapped sequence alignment using artificial neural networks:application to the MHC class I system.Bioinforma.Oxf.Engl.(2015).doi:10.1093/bioinformatics/btv639

[1065] 46. ~~Jørgensen~~,K.W.,Rasmussen,M.,Buus,S.&Nielsen,M.NetMHCstabpredicting stability of peptide-MHC-I complexes;impacts for cytotoxic T lymphocyte epitope discovery.Immunology 141,18-26(2014) .

[1066] 47.Larsen,M.V.et al.An integrative approach to CTL epitope prediction:a combined algorithm integrating MHC class I binding,TAP transport efficiency,and proteasomal cleavage predictions.Eur.J.Immunol.35,2295-2303 (2005) .

[1067] 48.Nielsen,M.,Lundegaard,C.,Lund,O.&Kesmir,C.The role of the proteasome in generating cytotoxic T-cell epitopes:insights obtained from improved predictions of proteasomal cleavage.Immunogenetics 57,33-41(2005) .

[1068] 49.Boisvert,F.-M.et al.A Quantitative Spatial Proteomics Analysis of Proteome Turnover in Human Cells.Mol.Cell.Proteomics 11,M111.011429-M111.011429(2012) .

[1069] 50.Duan,F.et al Genomic and bioinformatic profiling of mutational neoepitopes reveals new rules to predict anticancer immunogenicity.J.Exp.Med.211,2231-2248(2014) .

[1070] 51.Janeway's Immunobiology:9780815345312:Medicine&Health Science Books @Amazon.com.at<<http://www.amazon.com/Janeways-Immunobiology-Kenneth-Murphy/dp/0815345313>>

[1071] 52.Calis,J.J.A.et al.Properties of MHC Class I Presented Peptides That Enhance Immunogenicity.PLoS Comput.Biol.9,e1003266(2013) .

[1072] 53.Zhang,J.et al.Intratumor heterogeneity in localized lung adenocarcinomas delineated by multiregion sequencing.Science 346,256-259 (2014)

[1073] 54.Walter,M.J.et al.Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia.N.Engl J.Med 366,1090-1098(2012) .

[1074] 55.Hunt DF,Henderson RA,Shabanowitz J,Sakaguchi K,Michel H,Sevilir N,Cox AL,Appella E,Engelhard VH.Characterization of peptides bound to the class I MHC molecule HLA-A2.1 by mass spectrometry.Science 1992.255:1261-1263.

[1075] 56.Zarling AL,Polefrone JM,Evans AM,Mikesh LM,Shabanowitz J,Lewis ST,Engelhard VH,Hunt DF.Identification of class I MHC-associated phosphopeptides as targets for cancer immunotherapy.Proc Natl Acad Sci U S A.2006 Oct 3;103 (40):14889-94.

- [1076] 57. Bassani-Sternberg M, Pletscher-Frankild S, Jensen LJ, Mann M. Mass spectrometry of human leukocyte antigen class I peptidomes reveals strong effects of protein abundance and turnover on antigen presentation. *Mol Cell Proteomics*. 2015 Mar;14(3):658-73. doi:10.1074/mcp.M114.042812.
- [1077] 58. Abelin JG, Trantham PD, Penny SA, Patterson AM, Ward ST, Hildebrand WH, Cobbold M, Bai DL, Shabanowitz J, Hunt DF. Complementary IMAC enrichment methods for HLA-associated phosphopeptide identification by mass spectrometry. *Nat Protoc*. 2015 Sep;10(9):1308-18. doi:10.1038/nprot.2015.086. Epub 2015 Aug 6
- [1078] 59. Barnstable CJ, Bodmer WF, Brown G, Galfre G, Milstein C, Williams AF, Ziegler A. Production of monoclonal antibodies to group A erythrocytes, HLA and other human cell surface antigens—new tools for genetic analysis. *Cell*. 1978 May;14(1):9-20.
- [1079] 60. Goldman JM, Hibbin J, Kearney L, Orchard K, Th'ng KH. HLA-DR monoclonal antibodies inhibit the proliferation of normal and chronic granulocytic leukaemia myeloid progenitor cells. *Br J Haematol*. 1982 Nov;52(3):411-20.
- [1080] 61. Eng JK, Jahan TA, Hoopmann MR. Comet: an open-source MS/MS sequence database search tool. *Proteomics*. 2013 Jan;13(1):22-4. doi:10.1002/pmic.201200439. Epub 2012 Dec 4.
- [1081] 62. Eng JK, Hoopmann MR, Jahan TA, Egertson JD, Noble WS, MacCoss MJ. A deeper look into Comet—implementation and features. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2015 Nov;26(11):1865-74. doi:10.1007/s13361-015-1179-x. Epub 2015 Jun 27.
- [1082] 63. Lukas **Kall**, Jesse Canterbury, Jason Weston, William Stafford Noble and Michael J. MacCoss. Semi-supervised learning for peptide identification from shotgun proteomics datasets. *Nature Methods* 4:923-925, November 2007
- [1083] 64. Lukas **Kall**, John D. Storey, Michael J. MacCoss and William Stafford Noble. Assigning confidence measures to peptides identified by tandem mass spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 7(1):29-34, January 2008
- [1084] 65. Lukas **Kall**, John D. Storey and William Stafford Noble. Nonparametric estimation of posterior error probabilities associated with peptides identified by tandem mass spectrometry. *Bioinformatics*, 24(16):142-148, August 2008
- [1085] 66. Kinney RM, BJ Johnson, VL Brown, Dw Trent. Nucleotide Sequence of the 26 S mRNA of the Virulent Trinidad Donkey Strain of Venezuelan Equine Encephalitis Virus and Deduced Sequence of the Encoded Structural Proteins. *Virology* 152(2), 400-413. 1986 Jul 30.
- [1086] 67. Jill E Slansky, Frédérique M Rattis, Lisa F Boyd, Tarek Fahmy, Elizabeth M Jaffee, Jonathan P Schneck, David H Margulies, Drew M Pardoll. Enhanced Antigen-Specific Antitumor Immunity with Altered Peptide

Ligands that Stabilize the MHC-Peptide-TCR Complex. *Immunity*, Volume 13, Issue 4, 1 October 2000, Pages 529-538.

[1087] 68. A Y Huang, P H Gulden, A s Woods, M C Thomas, C D Tong, w Wang, V H Engelhard, G Pasternack, R Cotter, D Hunt, D M Pardoll, and E M Jaffee. The immunodominant major histocompatibility complex class I-restricted antigen of a murine colon tumor derives from an endogenous retroviral gene product. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 93(18):9730-9735, 1996 Sep 3.

[1088] 69. JOHNSON, BARBARA J.B., RICHARD M. KINNEY, CRYSTLE L. KOST AND DENNIS W. TRENT. Molecular Determinants of Alphavirus Neurovirulence: Nucleotide and Deduced Protein Sequence Changes during Attenuation of Venezuelan Equine Encephalitis Virus. *J Gen Virol* 67:1951-1960, 1986.

[1089] 70. Aarnoudse, C.A., Krüse, M., Konopitzky, R., Brouwenstijn, N., and Schrier, P.I. (2002). TCR reconstitution in Jurkat reporter cells facilitates the identification of novel tumor antigens by cDNA expression cloning. *Int J Cancer* 99, 7-13.

[1090] 71. Alexander, J., Sidney, J., Southwood, S., Ruppert, J., Oseroff, C., Maewal, A., Snoke, K., Serra, H.M., Kubo, R.T., and Sette, A. (1994). Development of high potency universal DR-restricted helper epitopes by modification of high affinity DR-blocking peptides. *Immunity* 1, 751-761.

[1091] 72. Banu, N., Chia, A., Ho, Z.Z., Garcia, A.T., Paravasivam, K., Grotenbreg, G.M., Bertoletti, A., and Gehring, A.J. (2014). Building and optimizing a virus-specific T cell receptor library for targeted immunotherapy in viral infections. *Scientific Reports* 4, 4166.

[1092] 73. Cornet, S., Miconnet, I., Menez, J., Lemonnier, F., and Kosmatopoulos, K. (2006). Optimal organization of a polypeptide-based candidate cancer vaccine composed of cryptic tumor peptides with enhanced immunogenicity. *Vaccine* 24, 2102-2109.

[1093] 74. Depla, E., van der Aa, A., Livingston, B.D., Crimi, C., Allosery, K., de Brabandere, V., Krakover, J., Murthy, S., Huang, M., Power, S., et al. (2008). Rational design of a multiepitope vaccine encoding T-lymphocyte epitopes for treatment of chronic hepatitis B virus infections. *Journal of Virology* 82, 435-450.

[1094] 75. Ishioka, G.Y., Fikes, J., Hermanson, G., Livingston, B., Crimi, C., Qin, M., del Guercio, M.F., Oseroff, C., Dahlberg, C., Alexander, J., et al. (1999). Utilization of MHC class I transgenic mice for development of minigene DNA vaccines encoding multiple HLA-restricted CTL epitopes. *J Immunol* 162, 3915-3925.

[1095] 76. Janetzki, S., Price, L., Schroeder, H., Britten, C.M., Welters, M.J.P., and Hoos, A. (2015). Guidelines for the automated evaluation of Elispot assays. *Nat Protoc* 10, 1098-1115.

[1096] 77. Lyons, G.E., Moore, T., Brasic, N., Li, M., Roszkowski, J.J., and Nishimura,

- M.I. (2006). Influence of human CD8 on antigen recognition by T-cell receptor-transduced cells. *Cancer Res* 66,11455-11461.
- [1097] 78. Nagai, K., Ochi, T., Fujiwara, H., An, J., Shirakata, T., Mineno, J., Kuzushima, K., Shiku, H., Melenhorst, J.J., Gostick, E., et al. (2012). Aurora kinase A-specific T-cell receptor gene transfer redirects T lymphocytes to display effective antileukemia reactivity. *Blood* 119,368-376.
- [1098] 79. Panina-Bordignon, P., Tan, A., Termijtelen, A., Demotz, S., Corradin, G., and Lanzavecchia, A. (1989). Universally immunogenic T cell epitopes: promiscuous binding to human MHC class II and promiscuous recognition by T cells. *Eur J Immunol* 19,2237-2242.
- [1099] 80. Vitiello, A., Marchesini, D., Furze, J., Sherman, L.A., and Chesnut, R.W. (1991). Analysis of the HLA-restricted influenza-specific cytotoxic T lymphocyte response in transgenic mice carrying a chimeric human-mouse class I major histocompatibility complex. *J Exp Med* 173,1007-1015.
- [1100] 81. Yachi, P.P., Ampudia, J., Zal, T., and Gascoigne, N R.J. (2006). Altered peptide ligands induce delayed CD8-T cell receptor interaction-a role for CD8 in distinguishing antigen quality. *Immunity* 25,203-211.
- [1101] 82. Pushko P, Parker M, Ludwig GV, Davis NL, Johnston RE, Smith JF. Replicon-helper systems from attenuated Venezuelan equine encephalitis virus: expression of heterologous genes in vitro and immunization against heterologous pathogens in vivo. *Virology*. 1997 Dec 22;239(2):389-401.
- [1102] 83. Strauss, JH and EG Strauss. The alphaviruses: gene expression, replication, and evolution. *Microbiol Rev*. 1994 Sep;58(3):491-562
- [1103] 84. Rheme C, Ehrengreuber MU, Grandgird D. Alphaviral cytotoxicity and its implication in vector development. *Exp Physiol*. 2005 Jan;90(1):45-52. Epub 2004 Nov 12.
- [1104] 85. Riley, Michael K. II, and Wilfred Vermerris. Recent Advances in Nanomaterials for Gene Delivery-A Review. *Nanomaterials* 2017,7(5),94.
- [1105] 86. Frolov I, Hardy R, Rice CM. Cis-acting RNA elements at the 5' end of Sindbis virus genome RNA regulate minus- and plus-strand RNA synthesis. *RNA*. 2001 Nov;7(11):1638-51.
- [1106] 87. Jose J, Snyder JE, Kuhn RJ. A structural and functional perspective of alphavirus replication and assembly. *Future Microbiol*. 2009 Sep;4(7):837-56.
- [1107] 88. Bo Li and C. olin N. Dewey. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a referenfe genome. *BMC Bioinformatics*, 12: 323, August 2011
- [1108] 89. Hillary Pearson, Tariq Daouda, Diana Paola Granados, Chantal Durette, Eric Bonneil, Mathieu Courcelles, Anja Rodenbrock, Jean-Philippe Laverdure, Caroline Cote, Sylvie Mader, Sebastien Lemieux, Pierre Thibault, and Claude

- Perreault.MHC class I-associated peptides derive from selective regions of the human genome.The Journal of Clinical Investigation,2016,
- [1109] 90.Juliane Liepe,Fabio Marino,John Sidney,Anita Jeko,Daniel E.Bunting,Alessandro Sette,Peter M.Kloetzel,Michael P.H.Stumpf,Albert J.R.Heck,Michele Mishto.A large fraction of HLA class I ligands are proteasome-generated spliced peptides.Science,21,October 2016.
- [1110] 91.Mommen GP.,Marino,F.,Meiring HD.,Poelen,MC.,van Gaans-van den Brink.JA.,Mohammed S.,Heck AJ.,and van Els CA.Sampling From the Proteome to the Human Leukocyte Antigen-DR (HLA-DR) Ligandome Proceeds Via High Specificity.Mol Cell Proteomics 15(4):1412-1423,April 2016.
- [1111] 92.Sebastian Kreiter,Mathias Vormehr,Niels van de Roemer,Mustafa Diken,Martin **Löwer**,Jan Diekmann,Sebastian Boegel,Barbara **Schrörs**,Fulvia Vascotto,John C.Castle,Arbel D.Tadmor,Stephen P.Schoenberger,Christoph Huber,Ozlem Türeci,and Ugur Sahin.Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune responses to cancer.Nature 520,692-696,April 2015.
- [1112] 93.Tran E.,Turcotte S.,Gros A.,Robbins P.F.,Lu Y.C.,Dudley ME,Wunderlich J.R.,Somerville R.P.,Hogan K.,Hinrichs C.S.,Parkhurst M.R.,Yang J.C.,Rosenberg S.A.Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4+T cells in a patient with epithelial cancer.Science 344(6184)641-645,May 2014.
- [1113] 94.Andreatta M.,Karosiene E.,Rasmussen M.,Stryhn A.,Buus S.,Nielsen M.Accurate pan-specific prediction of peptide-MHC class II binding affinity with improved binding core identification Immunogenetics 67(11-12)641-650, November 2015.
- [1114] 95.Nielsen,M.,Lund,O.NN-align.An artificial neural network-based alignment algorithm for MHC class II peptide binding prediction.BMC Bioinformatics 10:296,September 2009.
- [1115] 96.Nielsen,M.,Lundegaard,C.,Lund,O.Prediction of MHC class II binding affinity using SMM-align,a novel stabilization matrix alignment method.BMC Bioinformatics 8:238,July 2007.
- [1116] 97.Zhang,J.,et al.PEAKS DB:de novo sequencing assisted database search for sensitive and accurate peptide identification Molecular&Cellular Proteomics.11(4):1-8.1/2/2012.
- [1117] 98.Jensen,Kamilla Kjaergaard,et al“Improved Methods for Predicting Peptide Binding Affinity to MHC Class II Molecules.”Immunology,2018,doi: 10.1111/imm.12889.
- [1118] 99.Carter,S.L.,Cibulskis,K.,Helman,E.,McKenna,A.,Shen,H.,Zack,T.,Laird,P.W.,Onofrio,R.C.,Winckler,W.,Weir,B.A.,et al.(2012).Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer.Nat.Biotechnol.30, 413-421

[1119] 100. McGranahan, N., Rosenthal, R., Hiley, C.T., Rowan, A.J., Watkins, T.B.K., Wilson, G.A., Birkbak, N.J., Veeriah, S., Van Loo, P., Herrero, J., et al. (2017) . Allele-Specific HLA Loss and Immune Escape in Lung Cancer Evolution Cell 171, 1259-1271.e11.

[1120] 101. Shukla, S.A., Rooney, M.S., Rajasagi, M., Tiao, G., Dixon, P.M., Lawrence, M.S., Stevens, J., Lane, W.J., Dellagatta, J.L., Steelman, S., et al. (2015) . Comprehensive analysis of cancer-associated somatic mutations in class I HLA genes. Nat. Biotechnol. 33, 1152-1158.

[1121] 102. Van Loo, P., Nordgard, S.H., **Lingjærde, O.C.**, Russnes, H.G., Rye, I.H., Sun, W., Weigman, V.J., Marynen, P., Zetterberg, A., Naume, B., et al. (2010) . Allele-specific copy number analysis of tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107, 16910-16915.

[1122] 103. Van Loo, P., Nordgard, S.H., **Lingjærde, O.C.**, Russnes, H.G., Rye, I.H., Sun, W., Weigman, V.J., Marynen, P., Zetterberg, A., Naume, B., et al. (2010) . Allele-specific copy number analysis of tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107, 16910-16915.

[1123] 优选的实施方式:

[1124] 1. 一种腺病毒载体, 所述腺病毒载体包含:

[1125] 腺病毒骨架, 其包含腺病毒基因组的一个或多个基因或调控序列, 并且

[1126] 其中所述腺病毒骨架包含关于所述腺病毒基因组的部分缺失的E4基因, 其中所述部分缺失的E4基因包含缺失或部分缺失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区, 和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区, 并且

[1127] 任选地, 其中所述腺病毒载体还包含盒, 所述盒包含:

[1128] (1) 至少一个有效负载核酸序列, 任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽, 任选地其中所述多肽包含抗原, 任选地其中所述抗原包含:

[1129] -MHC I类表位,

[1130] -MHC II类表位,

[1131] -能够刺激B细胞反应的表位, 或

[1132] -其组合, 并且

[1133] 任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列, 并且任选地其中;

[1134] (2) 可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,

[1135] (3) 任选地, 至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列;

[1136] (4) 任选地, 至少一个编码GPGPG的接头序列 (SEQ ID NO:56); 和

[1137] (5) 任选地, 至少一个多聚腺苷酸化序列。

[1138] 2. 一种包含经修饰的ChAdV68序列的黑猩猩腺病毒载体, 其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

[1139] (a) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因, 并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642; 和

[1140] (b) 以SEQ ID NO:1所示的所述ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因中的至少一者;并且

[1141] 任选地,其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[1142] 3. 一种包含经修饰的ChAdV68序列的黑猩猩腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

[1143] (a) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642;

[1144] (b) 以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;和

[1145] (c) 以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5',并且

[1146] 任选地,其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[1147] 4. 一种黑猩猩腺病毒载体,所述黑猩猩腺病毒载体包含:

[1148] a. 经修饰的ChAdV68序列,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

[1149] (i) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642;

[1150] (ii) 以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;和

[1151] (iii) 和以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5',和;

[1152] b. CMV衍生的启动子序列;

[1153] c. SV40多聚腺苷酸化信号核苷酸序列;和

[1154] d. 盒,所述盒包含至少一个至少一个有效负载核酸序列,其编码:

[1155] -至少一个MHC I类表位,任选地其中所述至少一个MHC I类表位包含至少2个不同的MHC I类表位,所述至少2个不同的MHC I类表位彼此线性连接,并且各自任选地包含:

[1156] (A) 使所编码的肽序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列的至少一个改变,其中所述不同的MHC I表位的长度为7-15个氨基酸,

[1157] (B) N末端接头,其包含所述不同的MHC I表位的长度为至少3个氨基酸的原生N末端氨基酸序列,

[1158] (C) C末端接头,其包含所述不同的MHC I表位的长度为至少3个氨基酸的原生C末端酸序列,或

[1159] (D) 其组合,

[1160] -至少一个MHC II类表位,任选地其中所述至少一个MHC II类表位包含至少2个不同的MHC II类表位,

[1161] -至少一个能够刺激B细胞反应的表位,或

[1162] -其组合,并且

[1163] 其中所述盒被插入ChAdV68的缺失区域内,并且所述CMV衍生的启动子序列可操作地连接到所述盒。

[1164] 5. 如项目1-4中任一项所述的载体,其中所述盒包含以下式描述的有序序列,从5'至3'包含:

[1165]  $P_a - (L5_b - N_c - L3_d)_X - (G5_e - U_f)_Y - G3_g - A_h$

[1166] 其中,

[1167] N包含所述至少一个有效负载核酸序列之一,任选地其中每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,任选地存在至少一个改变,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,其中c=1,

[1168] P包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的至少一个启动子序列,其中a=1,

[1169] L5包含5'接头序列,其中b=0或1,

[1170] L3包含3'接头序列,其中d=0或1,

[1171] G5包含至少一个编码GPGPG氨基酸接头 (SEQ ID NO:56) 的核酸序列之一,其中e=0或1,

[1172] G3包含至少一个编码GPGPG氨基酸接头 (SEQ ID NO:56) 的核酸序列之一,其中g=0或1,

[1173] U包含至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列之一,其中f=1,

[1174] A包含至少一个多聚腺苷酸化序列,其中h=0或1,

[1175] X=2至400,其中对于每个X,相应的 $N_c$ 是有效负载核酸序列,任选地其中对于每个X,相应的 $N_c$ 是不同的有效负载核酸序列,并且

[1176] Y=0-2,其中对于每个Y,相应的 $U_f$ 是通用的编码MHC II类抗原的核酸序列,任选地其中对于每个Y,相应的 $U_f$ 是不同的通用的编码MHC II类抗原的核酸序列。

[1177] 6. 如项目5所述的载体,其中所述盒还包含至少一个未编码在所述有序序列中的额外有效负载核酸序列。

[1178] 7. 如项目5或6所述的载体,其中:

[1179] b=1, d=1, e=1, g=1, h=1, X=10, Y=2,

[1180] P是CMV衍生的启动子序列,

[1181] 每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,

[1182] L5编码所述表位的天然N末端氨基酸序列,并且其中所述5'接头序列编码长度为至少3个氨基酸的肽,

[1183] L3编码所述表位的天然C末端氨基酸序列,并且其中所述3'接头序列编码长度为

至少3个氨基酸的肽,

[1184] U是PADRE II类序列和破伤风类毒素MHC II类序列中的每一者,并且

[1185] 所述载体包含经修饰的ChAdV68序列,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

[1186] (a) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642;

[1187] (b) 以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3',并且任选地所述核苷酸2至34,916另外缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,和/或缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失;和

[1188] (c) 以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,643至36,518,并且其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸35,643至36,518的5'。

[1189] 8. 如项目2-4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述载体是黑猩猩腺病毒载体,任选地其中所述黑猩猩腺病毒载体是ChAdV68载体。

[1190] 9. 如项目2-4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述部分缺失的E4基因包含:

[1191] A. 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至35,642,

[1192] B. 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,916至34,942、核苷酸34,952至35,305、以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸35,302至35,642,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至36,518,

[1193] C. 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,980至36,516,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至36,518,

[1194] D. 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸34,979至35,642,并且其中所述载体至少包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至36,518,

[1195] E. 至少部分缺失E4orf2、完全缺失E4orf3和至少部分缺失E4orf4的E4缺失,

[1196] F. 至少部分缺失E4orf2、至少部分缺失E4orf3和至少部分缺失E4orf4的E4缺失,

[1197] G. 至少部分缺失E4orf1、完全缺失E4orf2和至少部分缺失E4orf3的E4缺失,或

[1198] H至少部分缺失E4orf2和至少部分缺失E4orf3的E4缺失。

[1199] 10. 如项目2-4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述载体包含以SEQ ID NO:1所示的ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列选自由以下组成的组:以SEQ ID NO:1所示的所述序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因。

[1200] 11. 如前述项目中任一项所述的载体,其中所述腺病毒骨架或经修饰的ChAdV68序列还包含关于腺病毒基因组或关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列在选自由腺病毒E1A、E1B、E2A、E2B、E3、L1、L2、L3、L4和L5基因组成的组的至少一个基因中的功能性缺失,任选地其中所述腺病毒骨架或经修饰的ChAdV68序列完全缺失或功能性缺失以下各者:(1) E1A和

E1B;或(2)E1A、E1B和E3,关于所述腺病毒基因组或关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列,任选地其中所述E1基因通过关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列的至少核苷酸577至3403的E1缺失而功能性缺失,并且任选地其中所述E3基因通过关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列的至少核苷酸27,125至31,825的E3缺失而功能性缺失。

[1201] 12.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述盒存在并插入所述载体中的E1区、E3区和/或允许并入所述盒的任何缺失AdV区中。

[1202] 13.如项目2-4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述载体是从第一代、第二代或辅助依赖性腺病毒载体中的一者产生。

[1203] 14.如项目2-13中任一项所述的载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸2至34,916,其中所述部分缺失的E4基因是所述核苷酸2至34,916的3'。

[1204] 15.如项目14所述的载体,其中所述核苷酸2至34,916缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失。

[1205] 16.如项目14所述的载体,其中所述核苷酸2至34,916缺少关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸456-3014。

[1206] 17.如项目14-16中任一项所述的载体,其中所述核苷酸2至34,916缺少关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125-31,825,对应于E3缺失。

[1207] 18.如项目14-16中任一项所述的载体,其中所述核苷酸2至34,916缺少关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,816-31,333。

[1208] 19.如项目14-16中任一项所述的载体,其中所述核苷酸2至34,916缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸577至3403,对应于E1缺失,并且缺少以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸27,125至31,825,对应于E3缺失。

[1209] 20.如项目14-19中任一项所述的载体,其中所述核苷酸2至34,916进一步缺少关于以SEQ ID NO:1所示的所述序列的核苷酸3957-10346、核苷酸21787-23370、核苷酸33486-36193或其组合。

[1210] 21.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码抗原,其中所述抗原包含:

[1211] -MHC I类表位,

[1212] -MHC II类表位,

[1213] -能够刺激B细胞反应的表位,或

[1214] -其组合。

[1215] 22.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码能够进行抗原加工为表位的多肽序列,任选地其中所述表位已知或疑似由MHC I类呈递在细胞表面上,任选地其中所述细胞表面是肿瘤细胞表面或受感染细胞表面。

[1216] 23.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码由MHC I类和/或MHC II类呈递在细胞表面上的多肽序列或其部分,任选地其中所述细胞表面是肿瘤细胞表面或受感染细胞表面。

[1217] 24.如项目22或23所述的载体,其中所述肿瘤细胞选自由以下组成的组:肺癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、睾丸癌、头颈癌、胰腺癌、脑癌、B细

胞淋巴瘤、急性粒细胞白血病、慢性粒细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、T细胞淋巴细胞白血病、非小细胞肺癌和小细胞肺癌,或

[1218] 其中所述受感染细胞选自由以下组成的组:病原体感染细胞、病毒感染细胞、细菌感染细胞、真菌感染细胞和寄生虫感染细胞,任选地其中所述病毒感染细胞选自由以下组成的组:HIV感染细胞、严重急性呼吸系统综合征相关冠状病毒(SARS)感染细胞、严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)感染细胞、埃博拉病毒感染细胞、乙型肝炎病毒(HBV)感染细胞、流感病毒感染细胞和丙型肝炎病毒(HCV)感染细胞。

[1219] 25.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码包含能够刺激B细胞反应的表位的多肽序列或其部分,任选地其中所述多肽序列或其部分包含经预测或已知能够由抗体结合的全长蛋白质、蛋白质结构域、蛋白质亚基或抗原片段。

[1220] 26.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码选自由以下组成的组的感染性疾病生物体肽:病原体衍生肽、病毒衍生肽、细菌衍生肽、真菌衍生肽和寄生虫衍生肽。

[1221] 27.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码具有至少一个改变的表位,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列。

[1222] 28.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码具有至少一个改变的MHC I类表位或MHC II类表位,所述改变使得所编码的肽序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,任选地其中所编码的多肽序列或其部分相对于被翻译的相应野生型核酸序列具有增加的结合亲和力、增加的结合稳定性和/或增加的在其相应MHC等位基因上呈递的可能性。

[1223] 29.如项目4、11-12或14-28所述的载体,其中所述至少一个改变包括点突变、移码突变、非移码突变、缺失突变、插入突变、剪接变体、基因组重排或蛋白酶体产生的剪接抗原。

[1224] 30.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码全长蛋白质、蛋白质结构域或蛋白质亚基。

[1225] 31.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码抗体、细胞因子、嵌合抗原受体(CAR)、T细胞受体和基因组编辑系统核酸酶。

[1226] 32.如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者包括非编码核酸序列。

[1227] 33.如项目32所述的载体,其中所述非编码核酸序列包含RNA干扰(RNAi)多核苷酸或基因组编辑系统多核苷酸。

[1228] 34.如项目4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者彼此直接连接。

[1229] 35.如项目4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者利用编码接头的核酸序列连接到不同的有效负载核酸序列。

[1230] 36.如项目35所述的载体,其中所述接头将编码MHC I类表位的两个有效负载核酸序列连接或将编码MHC I类表位的第一有效负载核酸序列连接到编码MHC II类表位或编码

能够刺激B细胞反应的表位序列的第二有效负载核酸序列。

[1231] 37. 如项目36所述的载体,其中所述接头选自自由以下组成的组:(1)连续甘氨酸残基,长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个残基;(2)连续丙氨酸残基,长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个残基;(3)两个精氨酸残基(RR);(4)丙氨酸、丙氨酸、酪氨酸(AAY);(5)由哺乳动物蛋白酶体有效加工的长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸残基的共有序列;和(6)侧接源自同源蛋白的抗原并且长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或2-20个氨基酸残基的一个或多个原生序列。

[1232] 38. 如项目35所述的载体,其中所述接头将两个编码MHC II类表位的有效负载核酸序列连接或将编码MHC II类表位的第一有效负载核酸序列连接到编码MHC I类表位或编码能够刺激B细胞反应的表位序列的第二有效负载核酸序列。

[1233] 39. 如项目38所述的载体,其中所述接头包含序列GPGPG (SEQ ID NO:56)。

[1234] 40. 如项目4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者可操作地或直接地连接到增强所述至少一个有效负载核酸序列的表达、稳定性、细胞运输、加工和呈递和/或免疫原性,和任选地由所述至少一个有效负载核酸序列编码的多肽的表达、稳定性、细胞运输、加工和呈递和/或免疫原性的分离或连续序列。

[1235] 41. 如项目40所述的载体,其中所述分离或连续的序列包含以下中的至少一者:泛素序列;经修饰以增加蛋白酶体靶向的泛素序列,任选地其中所述泛素序列在位置76处含有Gly至Ala的取代;免疫球蛋白信号序列,任选地其中所述免疫球蛋白信号序列包含IgK;主要组织相容性I类序列;溶酶体相关膜蛋白(LAMP)-1;人树突状细胞溶酶体相关膜蛋白;和主要组织相容性II类序列;任选地其中所述经修饰以增加蛋白酶体靶向的泛素序列是A76。

[1236] 42. 如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者的表达由所述至少一个启动子驱动。

[1237] 43. 如项目7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列包含至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个有效负载核酸序列。

[1238] 44. 如项目7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列包含至少11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或至多400个有效负载核酸序列。

[1239] 45. 如项目7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列包含至少2-400个有效负载核酸序列,并且其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合。

[1240] 46. 如项目4或7除外的前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列包含至少2-400个有效负载核酸序列,并且其中,当施用至所述受试者并被翻译时,所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者编码呈递在抗原呈递细胞上的抗原,产生靶向所述抗原的免疫应答。

[1241] 47. 如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列包含至少2-400个MHC I类和/或II类抗原编码核酸序列,其中,当施用至所述受试者并被翻译时,所述MHC I类或II类抗原中的至少一者呈递在抗原呈递细胞上,产生靶向细胞表面上的所述抗原中的至少一者的免疫应答,并且任选地其中所述至少2-400个MHC I类或II类抗原

编码核酸序列中的每一者的表达由所述至少一个启动子驱动。

[1242] 48. 如前述项目中任一项所述的载体, 其中每个MHC I类表位的长度独立地介于8至35个氨基酸之间, 任选地长度为7-15、9-17、9-25、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35个氨基酸。

[1243] 49. 如项目7除外的前述项目中任一项所述的载体, 其中存在所述至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列。

[1244] 50. 如项目7除外的前述项目中任一项所述的载体, 其中存在所述至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列, 并且包含至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列, 所述核酸序列包含至少一个改变, 所述改变使得所编码的肽序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列。

[1245] 51. 如项目7除外的前述项目中任一项所述的载体, 其中所述至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列的长度为12-20、12、13、14、15、16、17、18、19、20或20-40个氨基酸。

[1246] 52. 如项目7除外的前述项目中任一项所述的载体, 其中存在所述至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列, 并且其中所述至少一个通用序列包含破伤风类毒素和PADRE中的至少一者。

[1247] 53. 如前述项目中任一项所述的载体, 其中所述至少一个启动子序列是可控启动子, 任选地其中所述可控启动子是四环素 (TET) 阻遏蛋白 (TETr) 控制的启动子, 任选地其中所述可控启动子包含在所述启动子的RNA聚合酶结合序列的5'或3'的多个TET操纵子 (TETo) 序列。

[1248] 54. 如前述项目中任一项所述的载体, 其中所述至少一个启动子序列是组成型的。

[1249] 55. 如项目4或7除外的前述项目中任一项所述的载体, 其中所述至少一个启动子序列是CMV、SV40、EF-1、RSV、PGK、HSA、MCK或EBV启动子序列。

[1250] 56. 如前述项目中任一项所述的载体, 其中所述盒还包含至少一个可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的多聚腺苷酸化 (polyA) 序列, 任选地其中所述polyA序列位于所述至少一个有效负载核酸序列的3'。

[1251] 57. 如项目56所述的载体, 其中所述polyA序列包含SV40或牛生长激素 (BGH) polyA序列。

[1252] 58. 如前述项目中任一项所述的载体, 其中所述盒还包含以下中的至少一者: 内含子序列, 土拨鼠肝炎病毒转录后调控元件 (WPRE) 序列, 内部核糖体进入序列 (IRES) 序列, 编码2A自切割肽序列的核苷酸序列, 编码弗林蛋白酶切割位点的核苷酸序列, 编码TEV切割位点的核苷酸序列, 或已知增强可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的mRNA的核输出、稳定性或翻译效率的5'或3'非编码区中的序列。

[1253] 59. 如前述项目中任一项所述的载体, 其中所述盒包含报告基因, 所述报告基因包括但不限于绿色荧光蛋白 (GFP)、GFP变体、分泌型碱性磷酸酶、荧光素酶或荧光素酶变体。

[1254] 60. 如前述项目中任一项所述的载体, 其中所述载体还包含一个或多个编码至少一种免疫调节因子的有效负载核酸序列, 任选地其中所述至少一种免疫调节因子抑制免疫检查点分子。

[1255] 61. 如项目60所述的载体, 其中所述免疫调节因子是抗CTLA4抗体或其抗原结合片

段、抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段、抗4-1BB抗体或其抗原结合片段、或抗OX-40抗体或其抗原结合片段。

[1256] 62. 如项目61所述的载体,其中所述抗体或其抗原结合片段是Fab片段、Fab'片段、单链Fv(scFv)、呈单特异性或连接在一起的多特异性形式的单结构域抗体(sdAb)(例如骆驼科抗体结构域)、或全长单链抗体(例如具有通过柔性接头连接的重链和轻链的全长IgG)。

[1257] 63. 如项目61或62所述的载体,其中所述抗体的重链和轻链序列是由例如2A的自切割序列或IRES序列分隔开的连续序列,任选地其中所述自切割序列在所述自切割序列的5'具有弗林蛋白酶切割位点序列;或者所述抗体的所述重链和轻链序列由柔性接头如连续甘氨酸残基连接。

[1258] 64. 如项目60所述的载体,其中所述免疫调节因子是细胞因子。

[1259] 65. 如项目64所述的载体,其中所述细胞因子是IL-2、IL-7、IL-12、IL-15或IL-21或其各自变体中的至少一者。

[1260] 66. 如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者通过执行以下步骤选择:

[1261] (a) 从肿瘤细胞、受感染细胞或感染性疾病生物体获得外显子组、转录组或全基因组核苷酸测序数据中的至少一者,其中所述核苷酸测序数据用于获得代表抗原集合中的每一者的肽序列的数据;

[1262] (b) 将每个抗原的肽序列输入到呈递模型中,以产生所述抗原中的每一者由所述MHC等位基因中的一者或多者呈递在细胞表面、任选地肿瘤细胞表面或受感染细胞表面上的数值可能性集合,所述数值可能性集合已至少基于所接收的质谱数据进行鉴定;以及

[1263] (c) 基于所述数值可能性集合选择所述抗原集合的子集以产生经选择抗原集合,所述经选择抗原集合用于产生所述至少一个有效负载核酸序列。

[1264] 67. 如前述项目中任一项所述的载体,其中所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者通过执行以下步骤选择:

[1265] (a) 从肿瘤细胞、受感染细胞或感染性疾病生物体获得外显子组、转录组或全基因组核苷酸测序数据中的至少一者,其中所述核苷酸测序数据用于获得代表抗原集合中的每一者的肽序列的数据;

[1266] (b) 将每个抗原的肽序列输入到呈递模型中,以产生所述抗原中的每一者由所述MHC等位基因中的一者或多者呈递在细胞表面、任选地肿瘤细胞表面或受感染细胞表面上的数值可能性集合,所述数值可能性集合已至少基于所接收的质谱数据进行鉴定;以及

[1267] (c) 基于所述数值可能性集合选择所述抗原集合的子集以产生经选择抗原集合,所述经选择抗原集合用于产生所述至少一个有效负载核酸序列中的每一者。

[1268] 68. 如项目66或67所述的载体,其中所述经选择抗原集合的数目是2-20个。

[1269] 69. 如项目66或67所述的载体,其中所述呈递模型表示以下两者之间的依赖性:

[1270] (a) 所述MHC等位基因中的特定一者和在肽序列的特定位置处的特定氨基酸的一对的存在;和

[1271] (b) 由所述对的所述MHC等位基因中的所述特定一者在细胞表面、任选地肿瘤细胞表面或受感染细胞表面上呈递在所述特定位置处包含所述特定氨基酸的此类肽序列的可

能性。

[1272] 70. 如项目66或67所述的载体,其中选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原在所述细胞表面上呈递的可能性增加的抗原。

[1273] 71. 如项目66或67所述的载体,其中选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原能够诱发所述受试者中的细胞特异性免疫应答的可能性增加的抗原。

[1274] 72. 如项目66或67所述的载体,其中选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原能够由专职抗原呈递细胞 (APC) 呈递给初始T细胞的可能性增加的抗原,任选地其中所述APC是树突状细胞 (DC)。

[1275] 73. 如项目66或67所述的载体,其中选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原经由中心或外周耐受性受抑制的可能性降低的抗原。

[1276] 74. 如项目66或67所述的载体,其中选择所述经选择抗原集合包括基于所述呈递模型选择相对于未选择的抗原能够诱发对所述受试者中的正常组织的自身免疫应答的可能性降低的抗原。

[1277] 75. 如项目66或67所述的载体,其中外显子组或转录组核苷酸测序数据是通过肿瘤细胞或组织、受感染细胞或感染性疾病生物体进行测序而获得。

[1278] 76. 如项目66或67所述的载体,其中所述测序是下一代测序 (NGS) 或任何大规模平行测序方法。

[1279] 77. 如前述项目中任一项所述的载体,其中所述盒包含由所述盒中的邻近序列形成的连接表位序列。

[1280] 78. 如项目77所述的载体,其中至少一个或每个连接表位序列对MHC的亲合力大于500nM。

[1281] 79. 如项目77或78所述的载体,其中每个连接表位序列是非自身的。

[1282] 80. 如前述项目中任一项所述的载体,其中所述盒不编码非治疗性MHC I类或II类表位,其中预测所述非治疗性表位展示在受试者的MHC等位基因上。

[1283] 81. 如项目80所述的载体,其中所述经预测的非治疗性MHC I类或II类表位序列是由所述盒中的邻近序列形成的连接表位序列。

[1284] 82. 如项目77-81中任一项所述的载体,其中所述预测是基于通过将所述非治疗性表位的序列输入到呈递模型中而产生的呈递可能性。

[1285] 83. 如项目77-82中任一项所述的载体,其中所述盒中的所述至少一个有效负载核酸序列的顺序是通过一系列步骤确定,所述步骤包括:

[1286] i. 产生候选盒序列集合,其对应于所述至少一个有效负载核酸序列的不同顺序;

[1287] ii. 对于每个候选盒序列,基于所述候选盒序列中非治疗性表位的呈递来确定呈递评分;以及

[1288] iii. 选择与低于预定阈值的呈递评分相关的候选盒序列作为所述盒序列。

[1289] 84. 如前述项目中任一项所述的组合物,其中所述MHC I类和/或II类表位中的每一者经预测或验证为能够由存在于至少5%的人类群体中的至少一个HLA等位基因呈递。

[1290] 85. 如前述项目中任一项所述的组合物,其中所述MHC I类和/或II类表位中的每一者经预测或验证为能够由至少一个HLA等位基因呈递,其中每个抗原/HLA对在人类群体

中具有至少0.01%的抗原/HLA发生率。

[1291] 86.如前述项目中任一项所述的组合物,其中所述MHC I类和/或II类表位中的每一者经预测或验证为能够由至少一个HLA等位基因呈递,其中每个抗原/HLA对在人类群体中具有至少0.1%的抗原/HLA发生率。

[1292] 87.如前述项目中任一项所述的组合物,其中相对于直接从受试者组织或样品中提取的原生核酸序列,对编码所述多肽的所述至少一个有效负载核酸序列进行密码子优化。

[1293] 88.一种药物组合物,所述药物组合物包含前述项目中任一项所述的载体和药学上可接受的载剂。

[1294] 89.如项目88所述的药物组合物,其中所述组合物还包含佐剂。

[1295] 90.如项目88或89所述的药物组合物,其中所述组合物还包含免疫调节因子。

[1296] 91.如项目90所述的药物组合物,其中所述免疫调节因子是抗CTLA4抗体或其抗原结合片段、抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段、抗4-1BB抗体或其抗原结合片段、或抗OX-40抗体或其抗原结合片段。

[1297] 92.一种分离的核苷酸序列,所述分离的核苷酸序列包含前述载体项目中任一项所述的盒和序列SEQ ID NO:1的基因,任选地其中所述基因选自由以下组成的组:以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒ITR、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因,并且任选地其中所述核苷酸序列是cDNA。

[1298] 93.一种分离的细胞,所述分离的细胞包含项目92所述的核苷酸序列,任选地其中所述细胞是CHO、HEK293或其变体、911、HeLa、A549、LP-293、PER.C6或AE1-2a细胞。

[1299] 94.一种载体,所述载体包含项目92所述的核苷酸序列。

[1300] 95.一种试剂盒,所述试剂盒包含前述载体项目中任一项所述的载体和使用说明。

[1301] 96.一种在受试者中刺激免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用前述载体项目中任一项所述的载体或项目88-91中任一项所述的药物组合物。

[1302] 97.如项目96所述的方法,其中所述载体或组合物是经肌肉内(IM)、皮内(ID)或皮下(SC)施用。

[1303] 98.如项目96或97所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用免疫调节因子,任选地其中所述免疫调节因子是在施用所述载体或所述药物组合物之前、同时或之后施用。

[1304] 99.如项目98所述的方法,其中所述免疫调节因子是抗CTLA4抗体或其抗原结合片段、抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段、抗4-1BB抗体或其抗原结合片段、或抗OX-40抗体或其抗原结合片段。

[1305] 100.如项目98所述的方法,其中所述免疫调节因子是经静脉内(IV)、肌肉内(IM)、皮内(ID)或皮下(SC)施用。

[1306] 101.如项目100所述的方法,其中所述皮下施用靠近所述载体或所述组合物施用部位或非常接近于一个或多个载体或组合物引流淋巴结。

[1307] 102.如项目96-101中任一项所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用第二疫苗组合物。

[1308] 103.如项目102所述的方法,其中所述第二疫苗组合物是在施用项目88-91中任一

项所述的载体或药物组合物之前施用。

[1309] 104. 如项目102所述的方法, 其中所述第二疫苗组合物是在施用项目88-91中任一项所述的载体或药物组合物之后施用。

[1310] 105. 如项目103或104所述的方法, 其中所述第二疫苗组合物与项目88-91中任一项所述的载体或药物组合物相同。

[1311] 106. 如项目103或104所述的方法, 其中所述第二疫苗组合物与项目88-91中任一项所述的载体或药物组合物不同。

[1312] 107. 如项目106所述的方法, 其中所述第二疫苗组合物包含编码至少一个有效负载核酸序列的自扩增RNA (samRNA) 载体。

[1313] 108. 如项目107所述的方法, 其中由所述samRNA载体编码的所述至少一个有效负载核酸序列与前述载体项目中任一项所述的至少一个有效负载核酸序列中的至少一者相同。

[1314] 109. 一种制造前述载体项目中任一项所述的载体的方法, 所述方法包括:

[1315] 获得包含腺病毒载体或黑猩猩腺病毒载体的质粒序列;

[1316] 将所述质粒序列转染至一个或多个宿主细胞中; 以及

[1317] 从所述一个或多个宿主细胞分离所述载体。

[1318] 110. 如项目109所述的制造方法, 其中所述分离包括:

[1319] 溶解所述一种或多种宿主细胞以获得包含所述载体的细胞溶解产物; 以及

[1320] 从所述细胞溶解产物和任选地另外从用于培养所述一种或多种宿主细胞的培养基纯化所述载体。

[1321] 111. 如项目109或110所述的制造方法, 其中所述质粒序列是使用以下中的一者产生; 在细菌细胞中的DNA重组或细菌重组或全基因组DNA合成或具有合成DNA扩增的全基因组DNA合成。

[1322] 112. 如项目109-111中任一项所述的制造方法, 其中所述一种或多种宿主细胞是CHO、HEK293或其变体、911、HeLa、A549、LP-293、PER.C6和AE1-2a细胞中的至少一者。

[1323] 113. 如项目110-112中任一项所述的制造方法, 其中从所述细胞溶解产物纯化所述载体涉及色谱分离、离心、病毒沉淀和过滤中的一者或多者。

[1324] 114. 一种在受试者中刺激免疫应答的方法, 所述方法包括向所述受试者施用腺病毒载体, 所述腺病毒载体包含:

[1325] 腺病毒骨架, 其包含腺病毒基因组的一个或多个基因或调控序列, 并且

[1326] 其中所述腺病毒骨架包含关于所述腺病毒基因组的部分缺失的E4基因, 其中所述部分缺失的E4基因包含缺失或部分缺失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区, 和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区, 并且

[1327] 其中所述腺病毒载体还包含盒, 所述盒包含:

[1328] (1) 至少一个有效负载核酸序列, 任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽, 任选地其中所述多肽包含抗原, 任选地其中所述抗原包含:

[1329] -MHC I类表位,

[1330] -MHC II类表位,

[1331] -能够刺激B细胞反应的表位, 或

[1332] -其组合,并且

[1333] 任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,和任选地其中;

[1334] (2)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,

[1335] (3)任选地,至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列;

[1336] (4)任选地,至少一个编码GPGPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和

[1337] (5)任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列。

[1338] 115.一种用于治疗患有疾病的受试者的方法,任选地其中所述疾病是癌症或感染,所述方法包括向所述受试者施用腺病毒载体,所述腺病毒载体包含:

[1339] 腺病毒骨架,其包含腺病毒基因组的一个或多个基因或调控序列,并且

[1340] 其中所述腺病毒骨架包含关于所述腺病毒基因组的部分缺失的E4基因,其中所述部分缺失的E4基因包含缺失或部分缺失的E4orf2区和缺失或部分缺失的E4orf3区,和任选地缺失或部分缺失的E4orf4区,并且

[1341] 其中所述腺病毒载体还包含盒,所述盒包含:

[1342] (1)至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:

[1343] -MHC I类表位,

[1344] -MHC II类表位,

[1345] -能够刺激B细胞反应的表位,或

[1346] -其组合,并且

[1347] 任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,并且任选地其中;

[1348] (2)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,

[1349] (3)任选地,至少一个通用的编码MHC II类抗原的核酸序列;

[1350] (4)任选地,至少一个编码GPGPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和

[1351] (5)任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列。

[1352] 116.一种在受试者中刺激免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含经修饰的ChAdV68序列的腺病毒载体,其中所述经修饰的ChAdV68序列包含:

[1353] (a)以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;和

[1354] (b)以SEQ ID NO:1所示的所述ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因中的至少一者;并且

[1355] 其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[1356] 117.一种用于治疗患有疾病的受试者的方法,任选地其中所述疾病是癌症或感染,所述方法包括向所述受试者施用包含经修饰的ChAdV68序列的腺病毒载体,其中所述经

修饰的ChAdV68序列包含：

[1357] (a) 以SEQ ID NO:1所示的E4基因序列的部分缺失的E4基因,并且其至少缺少以SEQ ID NO:1所示的序列的核苷酸34,916至35,642;和

[1358] (b) 以SEQ ID NO:1所示的所述ChAdV68序列的一个或多个基因或调控序列,任选地其中所述一个或多个基因或调控序列包含以SEQ ID NO:1所示的序列的黑猩猩腺病毒反向末端重复序列(ITR)、E1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4和L5基因中的至少一者;并且

[1359] 其中所述黑猩猩腺病毒载体还包含盒,其中所述盒包含至少一个有效负载核酸序列,并且其中所述盒包含可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列。

[1360] 118.一种产生病毒的方法,其中所述病毒是使用如前述载体项目中任一项产生。

[1361] 119.如项目118所述的方法,其中相对于使用不具有所述部分缺失的E4基因的载体产生的病毒的产生,使用包含所述部分缺失的E4基因的所述载体使所述病毒的产生增加。

[1362] 120.如项目118或119所述的方法,其中相对于使用不具有所述部分缺失的E4基因的载体产生的病毒的感染单位滴度,使用包含所述部分缺失的E4基因的所述载体使所述病毒的感染单位滴度增加。

[1363] 121.如项目120所述的方法,其中所述产生增加是相对于使用不具有所述部分缺失的E4基因的载体的产生增加至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍或至少9倍。

[1364] 122.如项目121所述的方法,其中所述产生增加是相对于使用不具有所述部分缺失的E4基因的载体的产生增加至少10倍、至少18倍、至少20倍、至少25倍或至少27倍。

[1365] 123.一种产生病毒的方法,其中所述方法包括以下步骤:

[1366] a.提供包含盒的病毒载体,所述盒包含:

[1367] (i) 至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:

[1368] -MHC I类表位,

[1369] -MHC II类表位,

[1370] -能够刺激B细胞反应的表位,或

[1371] -其组合,并且

[1372] 任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,并且任选地其中;

[1373] (ii) 可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,其中所述至少一个启动子是四环素(TET)阻遏蛋白(TET<sub>r</sub>)控制的启动子,

[1374] (iii) 任选地,至少一个编码MHC II类抗原的核酸序列;

[1375] (iv) 任选地,至少一个编码GPGPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和

[1376] (v) 任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列;

[1377] b.提供被工程化以表达所述TET<sub>r</sub>蛋白的细胞;以及

[1378] c.在足以产生所述病毒的条件使所述病毒载体与所述细胞接触。

[1379] 124.如项目123所述的方法,其中所述病毒载体包括黑猩猩腺病毒载体,任选地其中所述黑猩猩腺病毒载体是ChAdV68载体。

[1380] 125.如项目123或124所述的方法,其中相对于使用不具有所述TETr控制的启动子的载体产生的病毒的产生,使用包含所述TETr控制的启动子的载体使所述病毒的产生增加。

[1381] 126.如项目125所述的方法,其中所述产生增加是相对于使用不具有所述TETr控制的启动子的载体的产生增加至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。

[1382] 127.如项目125所述的方法,其中所述产生增加是相对于使用不具有所述TETr控制的启动子的载体的产生增加至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少35倍、至少40倍、至少50倍、至少60倍、至少70倍、至少80倍、至少90倍或至少100倍。

[1383] 128.如项目123-127中任一项所述的方法,其中相对于使用未被工程化以表达所述TETr蛋白的细胞产生的病毒的产生,使用包含所述TETr控制的启动子的载体使所述病毒的产生增加。

[1384] 129.如项目128所述的方法,其中所述产生增加是相对于使用未被工程化以表达所述TETr蛋白的细胞的产生增加至少1.5倍、至少2倍、至少2.5倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍。

[1385] 130.一种病毒载体,所述病毒载体包含盒,所述盒包含:

[1386] (i)至少一个有效负载核酸序列,任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列编码多肽,任选地其中所述多肽包含抗原,任选地其中所述抗原包含:

[1387] -MHC I类表位,

[1388] -MHC II类表位,

[1389] -能够刺激B细胞反应的表位,或

[1390] -其组合,并且

[1391] 任选地其中所述至少一个有效负载核酸序列还包含5'接头序列和/或3'接头序列,并且任选地其中;

[1392] (ii)可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的至少一个启动子序列,其中所述至少一个启动子是四环素(TET)阻遏蛋白(TETr)控制的启动子,

[1393] (iii)任选地,至少一个编码MHC II类抗原的核酸序列;

[1394] (iv)任选地,至少一个编码GPGPG的接头序列(SEQ ID NO:56);和

[1395] (v)任选地,至少一个多聚腺苷酸化序列。

[1396] 131.如项目123-130中任一项所述的方法或载体,其中所述TETr控制的启动子包含一个或多个TET操纵子(TETo)核酸序列,任选地其中所述一个或多个TETo核酸序列包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列。

[1397] 132.如项目131所述的载体,其中所述一个或多个TETo核酸序列包括2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个TETo核酸序列,任选地其中TETo核酸序列各自包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列。

[1398] 133.如项目132所述的载体,其中所述2个或更多个TETo核酸序列连接在一起。

[1399] 134.如项目133所述的载体,其中所述2个或更多个TETo核酸序列直接连接在一

起。

[1400] 135. 如项目133所述的载体,其中所述2个或更多个TET<sub>o</sub>核酸序列是利用接头序列连接在一起,其中所述接头包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个核苷酸,并且任选地其中所述接头序列包含以SEQ ID NO:70所示的接头核苷酸序列。

[1401] 136. 如项目131-135中任一项所述的载体,其中所述一个或多个TET<sub>o</sub>核酸序列是所述启动子序列的RNA聚合酶结合序列的5'。

[1402] 137. 如项目131-135中任一项所述的载体,其中所述一个或多个TET<sub>o</sub>核酸序列是所述启动子序列的RNA聚合酶结合序列的3'。

[1403] 138. 如项目130-137中任一项所述的载体,其中所述至少一个启动子序列包括CMV、SV40、EF-1、RSV、PGK、HSA、MCK或EBV启动子序列。

[1404] 139. 如项目130-137中任一项所述的载体,其中所述至少一个启动子序列是CMV衍生的启动子序列,任选地其中所述CMV衍生的启动子序列包含以SEQ ID NO:64所示的CMV启动子核苷酸序列。

[1405] 140. 如项目139所述的载体,其中所述CMV衍生的启动子序列是最小CMV启动子序列,任选地其中所述最小CMV启动子序列包含以SEQ ID NO:61所示的最小CMV启动子核苷酸序列。

[1406] 141. 如项目130-140中任一项所述的载体,其中可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的所述TET<sub>r</sub>控制的启动子包含以下式描述的有序序列,从5'至3'包含:

[1407]  $(T-L_Y)_X-P-N$

[1408] 其中,

[1409] N包含所述至少一个有效负载核酸序列之一,任选地其中每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,任选地存在至少一个改变,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,

[1410] P,可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的所述启动子序列的RNA聚合酶结合序列,

[1411] T包含TET<sub>o</sub>核酸序列,其包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列,

[1412] L包含接头序列,其中对于每个X,Y=0或1,并且

[1413] 其中X=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。

[1414] 142. 如项目130-140中任一项所述的载体,其中可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列的所述TET<sub>r</sub>控制的启动子包含以下式描述的有序序列,从5'至3'包含:

[1415]  $P-(T-L_Y)_X-N$

[1416] 其中,

[1417] N包含所述至少一个有效负载核酸序列之一,任选地其中每个N编码MHC I类表位、MHC II类表位、能够刺激B细胞反应的表位或其组合,任选地存在至少一个改变,所述改变使得所编码的表位序列不同于由野生型核酸序列编码的相应肽序列,

[1418] P,可操作地连接到所述至少一个有效负载核酸序列中的至少一者的所述启动子序列的RNA聚合酶结合序列,

[1419] T包含TET<sub>o</sub>核酸序列,其包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列,

- [1420] L包含接头序列,其中对于每个X,Y=0或1,并且
- [1421] 其中X=1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。
- [1422] 143.如项目130所述的载体,其中所述TETr控制的启动子包含:
- [1423] (1)最小CMV启动子序列;
- [1424] (2)7个TETo核酸序列,其中TETo核酸序列各自包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列,并且
- [1425] 其中所述TETo核酸序列各自利用接头序列连接在一起,所述7个TETo核酸序列是所述最小CMV启动子序列的5',并且任选地其中所述TETr控制的启动子包含以SEQ ID NO:61所示的核苷酸序列。
- [1426] 144.如项目130所述的载体,其中所述TETr控制的启动子包含:
- [1427] (1)CMV启动子序列;
- [1428] (2)2个TETo核酸序列,其中所述TETo核酸序列各自包含以SEQ ID NO:60所示的核苷酸序列,并且
- [1429] 其中所述TETo核酸序列各自直接连接在一起,所述2个TETo核酸序列是所述CMV启动子序列的3',并且任选地其中所述TETr控制的启动子包含以SEQ ID NO:64所示的核苷酸序列。
- [1430] 145.如项目130-144中任一项所述的载体,其中所述病毒载体包含载体骨架,其中所述载体骨架包含黑猩猩腺病毒载体,任选地其中所述黑猩猩腺病毒载体是ChAdV68载体。

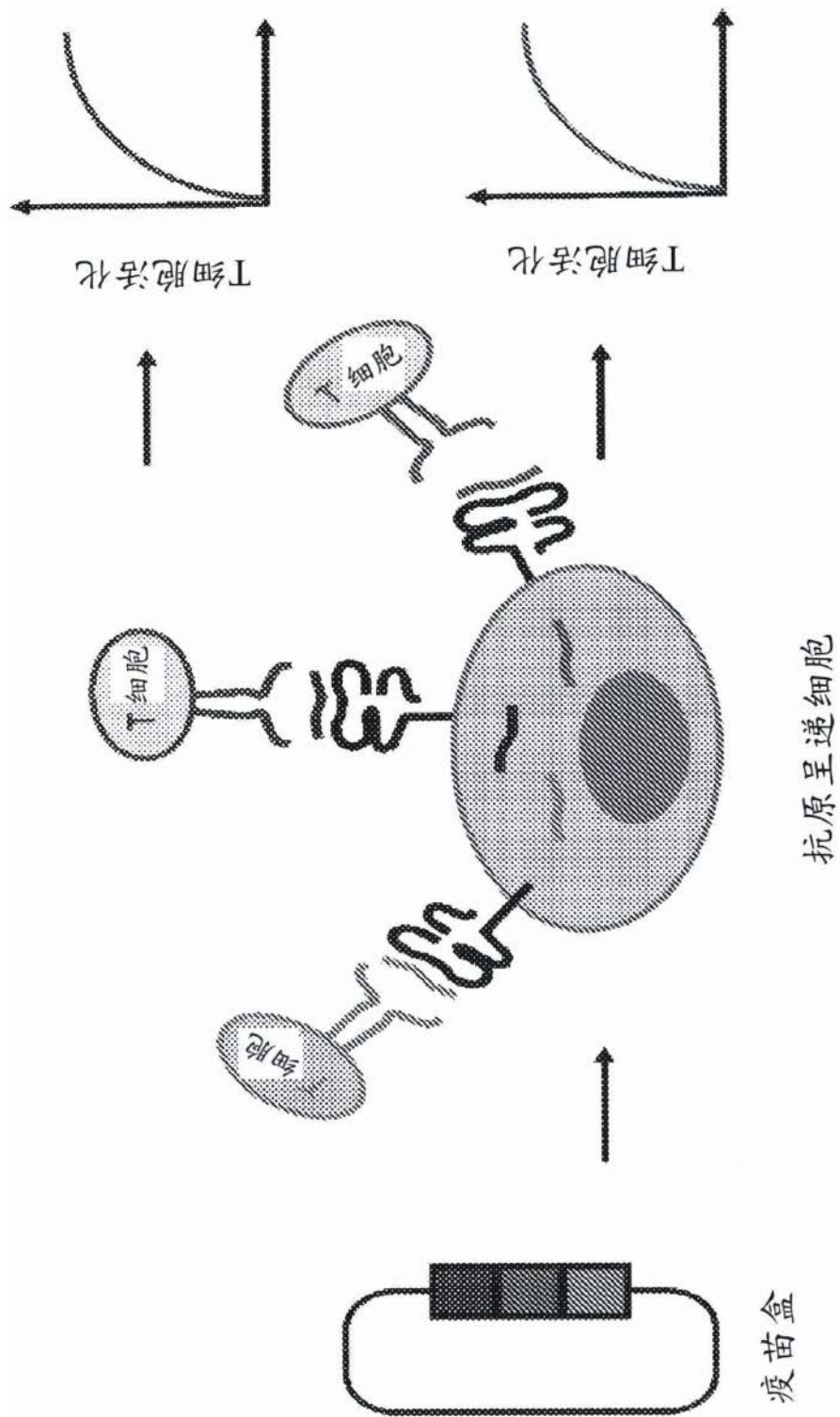


图1

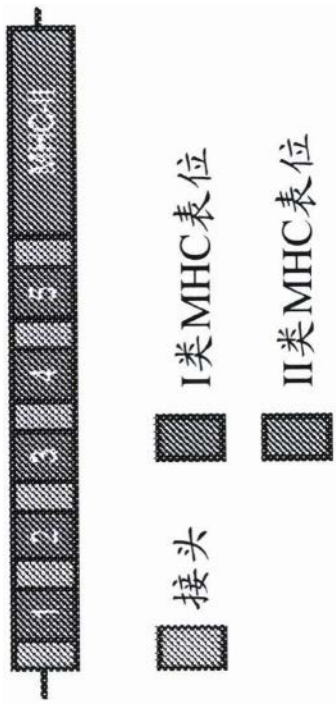


图2A

| # | HLA    | 序列             | 来源                  |
|---|--------|----------------|---------------------|
| 1 | A*0201 | NLVPMVATV      | HCMV pp65 (495-503) |
| 2 | A*0201 | CLGCLTMV       | EBV LMP2A(426-434)  |
| 3 | A*0201 | GLCTLVAML      | EBV BMLF1 (280-288) |
| 4 | A*0201 | LLFGYFVYV      | HTLV-1 Tax (11-19)  |
| 5 | A*0201 | GILGFVFTL      | 流感病毒A基质1(58-66)     |
|   | MHC-II | AKFVAAWTLKAAA  | PADRE(人工序列)         |
|   | MHC-II | QYIKANSKFIGITE | 破伤风类毒素(830-844)     |

图2B

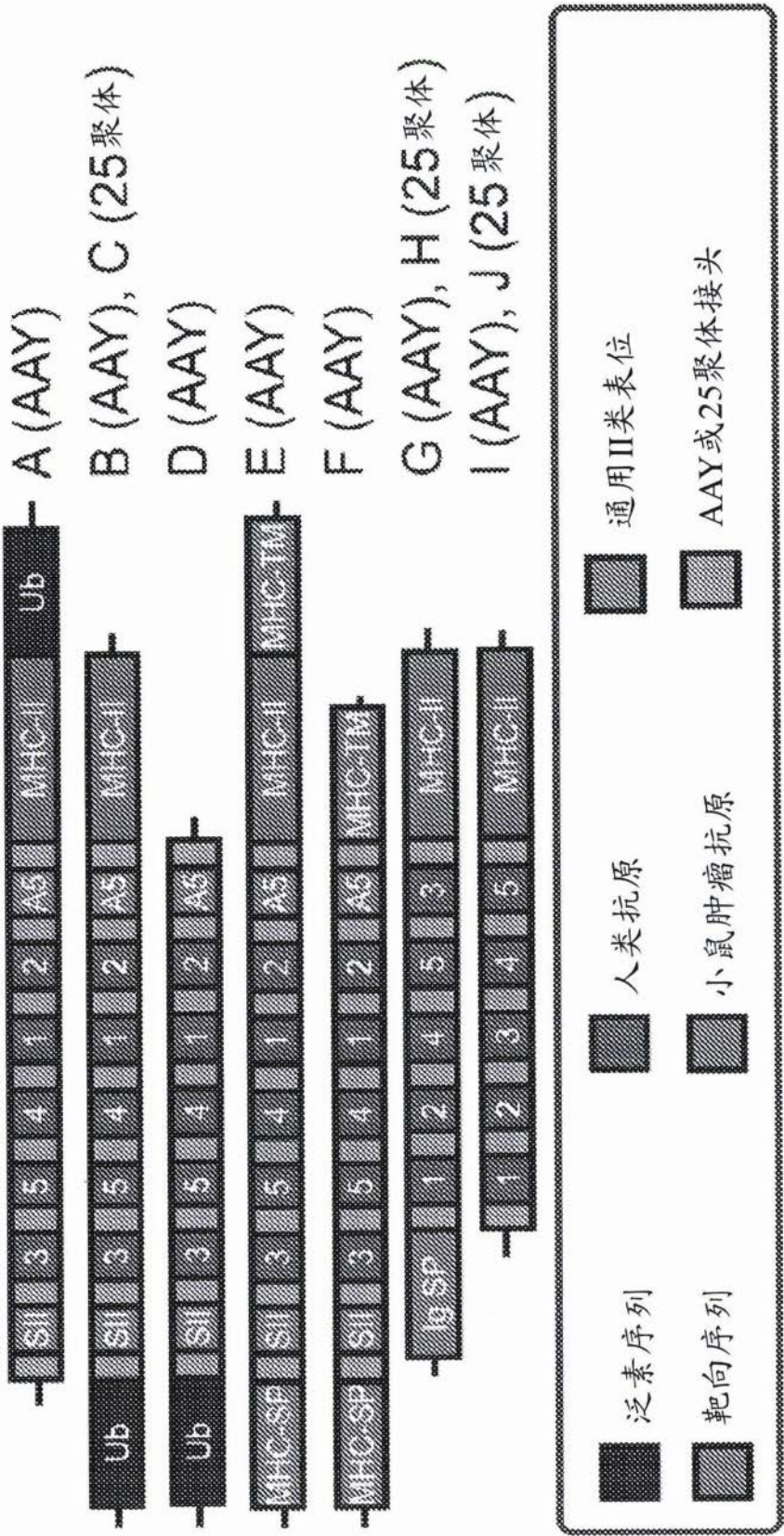


图3

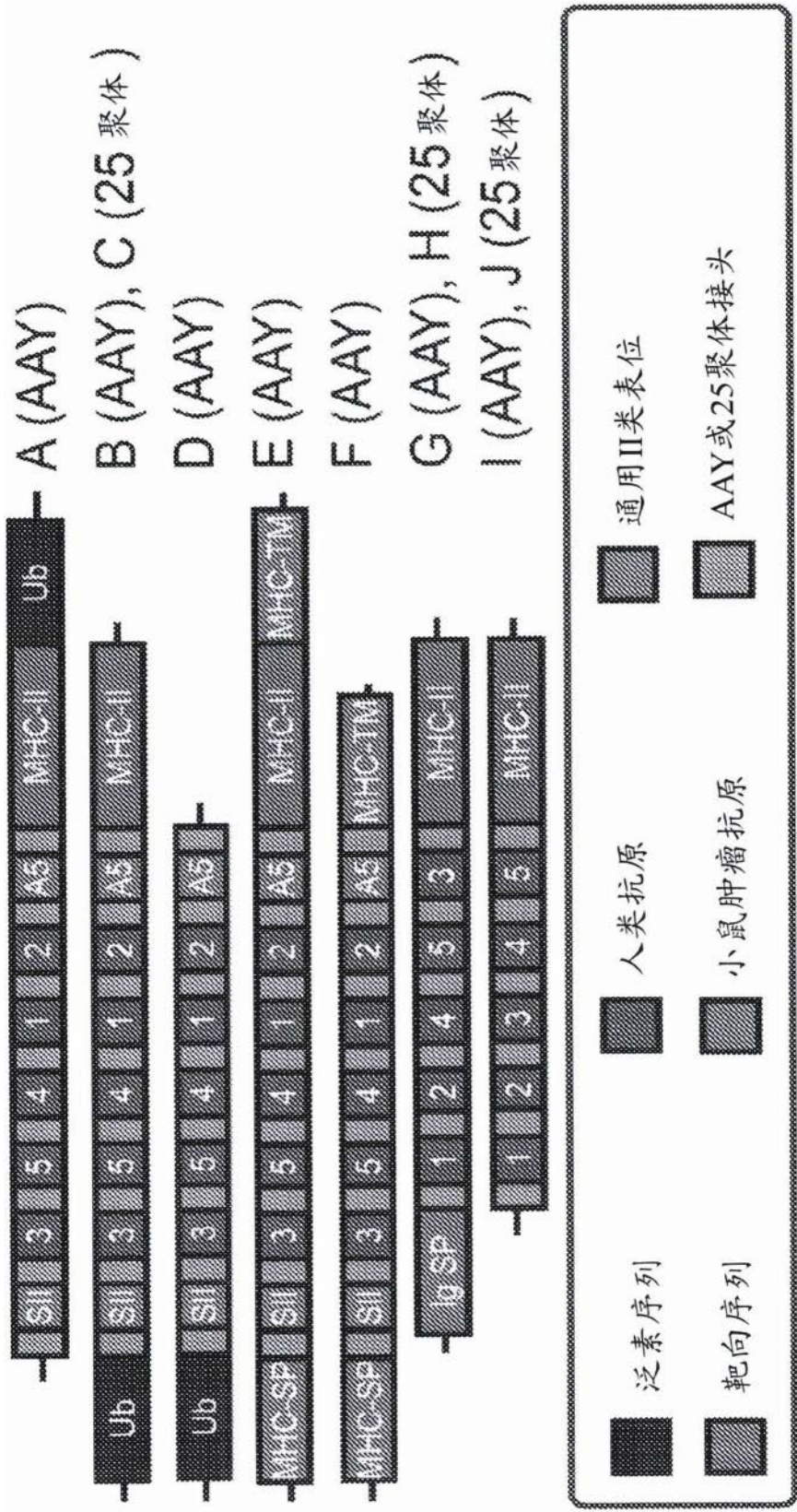


图4

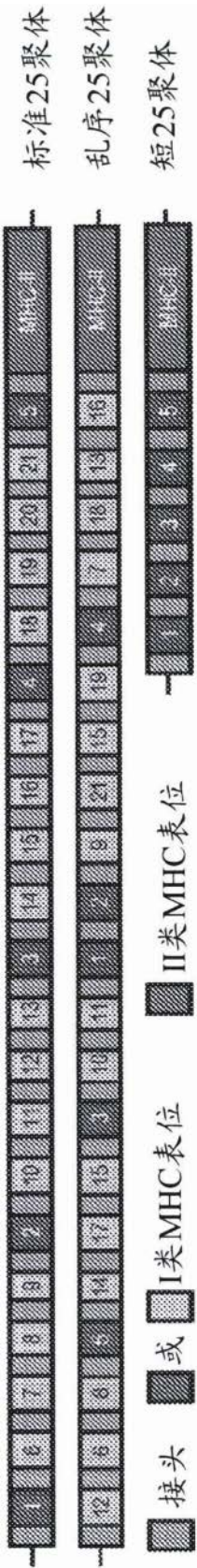


图5A

| #  | HLA     | 序列         | 来源                     |
|----|---------|------------|------------------------|
| 1  | A*02:01 | NLVPMVATV  | HCMV pp65 495-504      |
| 2  | A*02:01 | CLGGLTMV   | EBV LMP-2 426-434      |
| 3  | A*02:01 | GLCTLVAML  | EBV BMLF-1 259-267     |
| 4  | A*02:01 | LLFGYPVYV  | HTLV1 Tax 11-19        |
| 5  | A*02:01 | GILGFVFTL  | 流感病毒A MP 58-66         |
| 6  | A*02:01 | DLMGYIPAV  | HCV核心 132-140          |
| 7  | A*02:01 | FLPSDFFPSV | HBV 核心抗原18-27          |
| 8  | A*02:01 | FLLTRILT   | HBV包膜183-191           |
| 9  | A*02:01 | WLSLLVPFV  | HBV表面抗原172-181         |
| 10 | A*02:01 | FLLSLGIHL  | HBV聚合酶 573-581         |
| 11 | A*02:01 | ILKEPVHGV  | HIV-1 RT 476-484       |
| 12 | A*02:01 | YMLDLQPETT | HPV 16 E7 11-20        |
| 13 | A*02:01 | CINGVCWTV  | HCV NS3 1073-1081      |
| 14 | A*02:01 | YLLPRRGPR  | HCV核心 35-44            |
| 15 | A*02:01 | FLYALALL   | EBV LMP-2 356-364      |
| 16 | A*02:01 | AAGIGILTV  | MELAN-A/MART-1 (27-35) |
| 17 | A*02:01 | SLLMWITQV  | NY-ESO-1(157-165) C9V  |
| 18 | A*03:01 | KLGGALQAK  | CVM-IE1                |
| 19 | A*03:01 | RLRAEAQVK  | EBV-EBNA-3a            |
| 20 | B*44:05 | EENLLDFVRF | EBV EBNA3C (281-290)   |
| 21 | B*44:05 | EEYLQAFTY  | 自我ABCD3蛋白              |

图5B

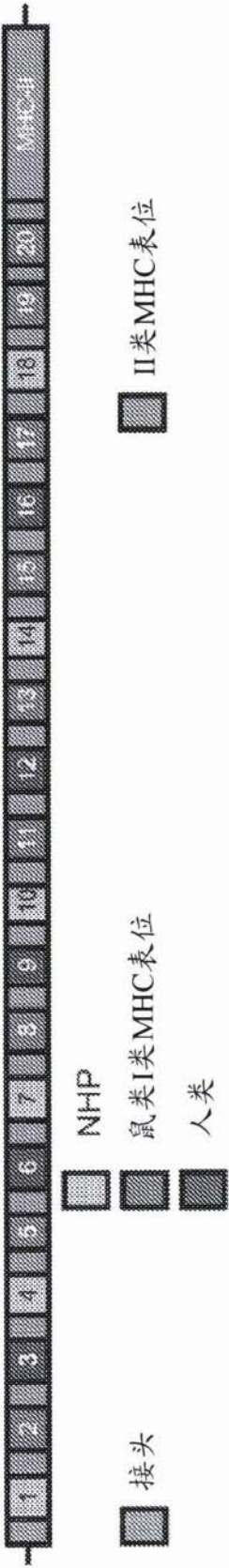


图6A

鼠类MHC-I表位

|    | MHC   | 序列        |
|----|-------|-----------|
| 2  | H-2Kb | SIINFEKL  |
| 5  | H-2Ld | SPSYAYHQF |
| 8  | H-2Db | EGPRNQDWL |
| 11 | H-2Kb | DWENVSPKL |
| 13 | H-2Kb | SIIVFNLL  |
| 15 | H-2Db | ASMTNMELM |
| 17 | H-2Db | AQLANDVVL |
| 19 | H-2Kb | SVYDFFVWL |
| 20 | H-2Ld | MNKYAYHML |

通用MHC-II表位

|   | HLA    | 序列            |
|---|--------|---------------|
| 1 | MHC-II | AKFVAAWTLKAAA |
| 2 | MHC-II | QYIKANSKFITEL |

NHP表位

|    | MHC     | 序列        |
|----|---------|-----------|
| 1  | Mamu*01 | CTPYDINQM |
| 4  | Mamu*01 | TTPESANL  |
| 7  | Mamu*01 | CAPPGYALL |
| 10 | Mamu*01 | SGPKTNIIV |
| 14 | Mamu*01 | LSPRTLNAW |
| 18 | Mamu*01 | TVPWPNASL |

人类表位

|    | HLA     | 序列        |
|----|---------|-----------|
| 3  | A*02:01 | GILGFVFTL |
| 6  | A*02:01 | LLFGYPVYV |
| 9  | A*02:01 | GLCTLVAML |
| 12 | A*02:01 | NLVPMVATV |
| 16 | A*02:01 | CLGGLTMV  |

图6B

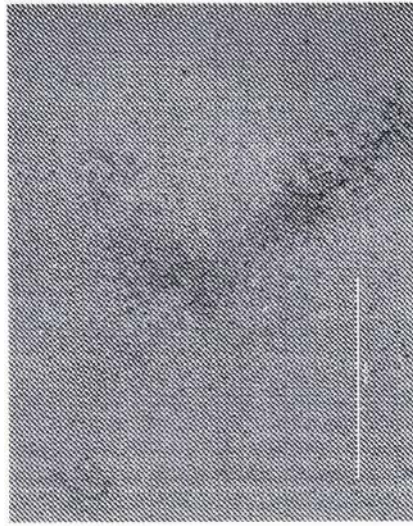


图7A

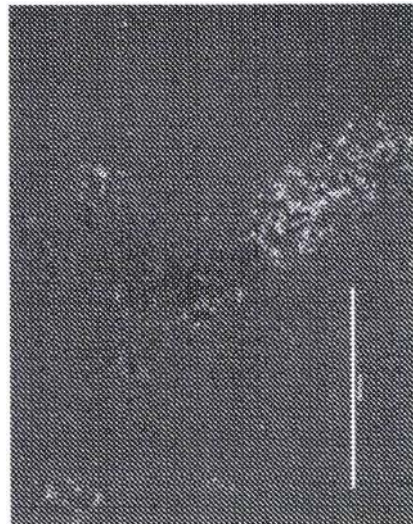


图7B

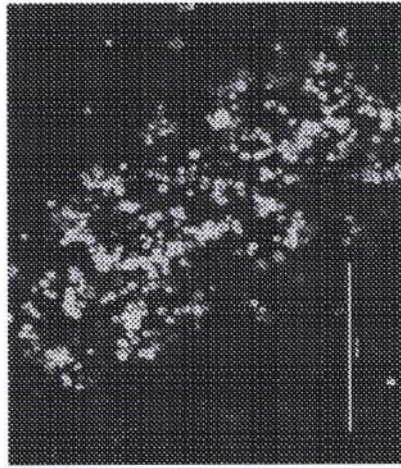


图7C



图8A



图8B



图8C

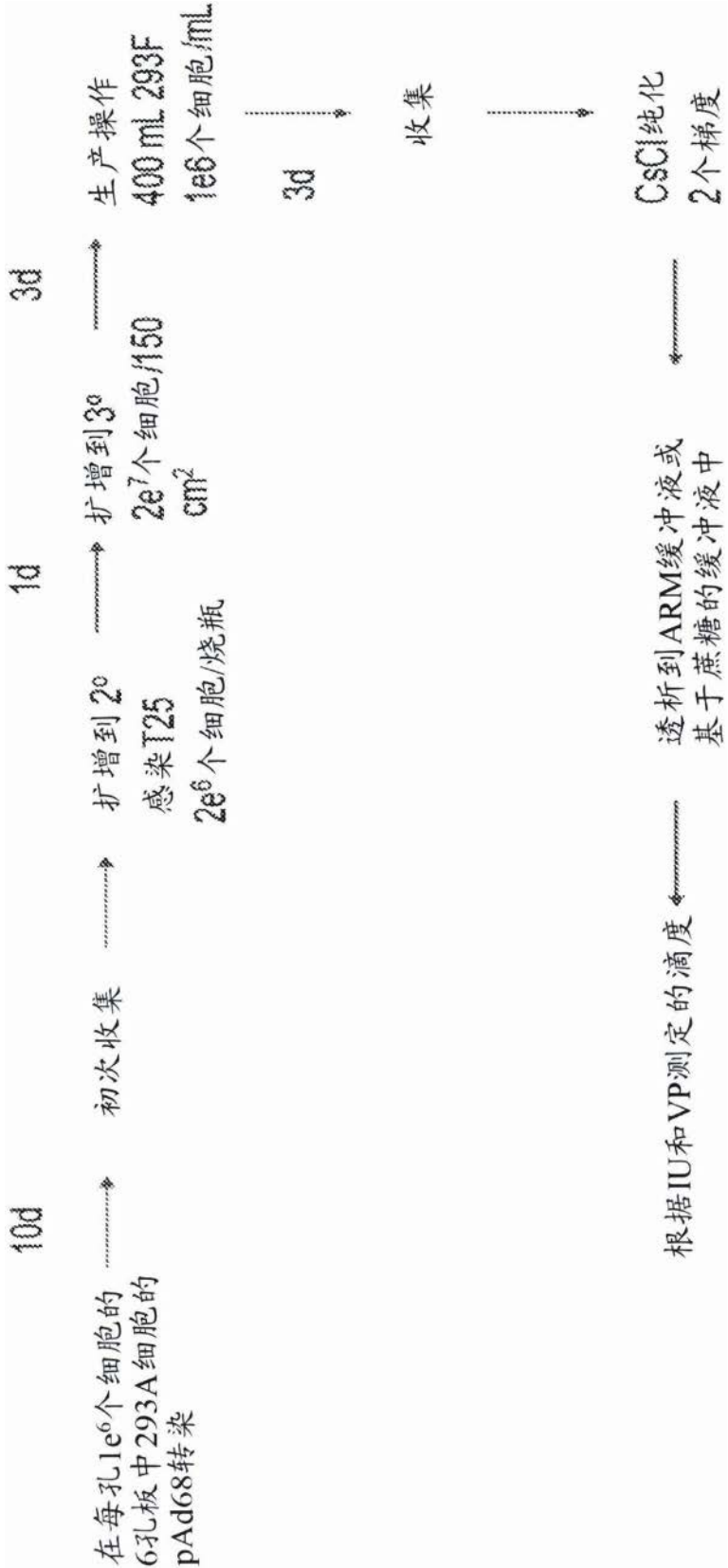


图9

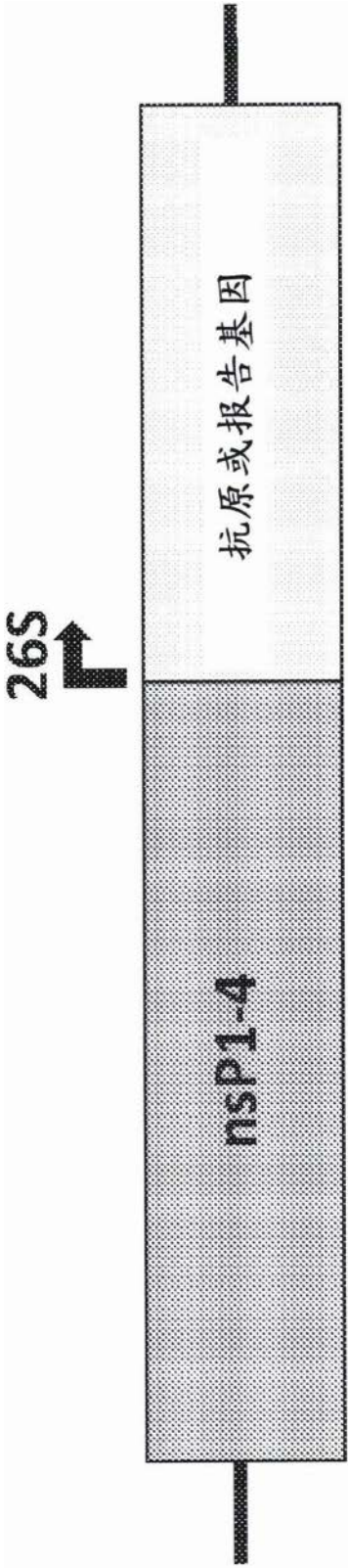


图10

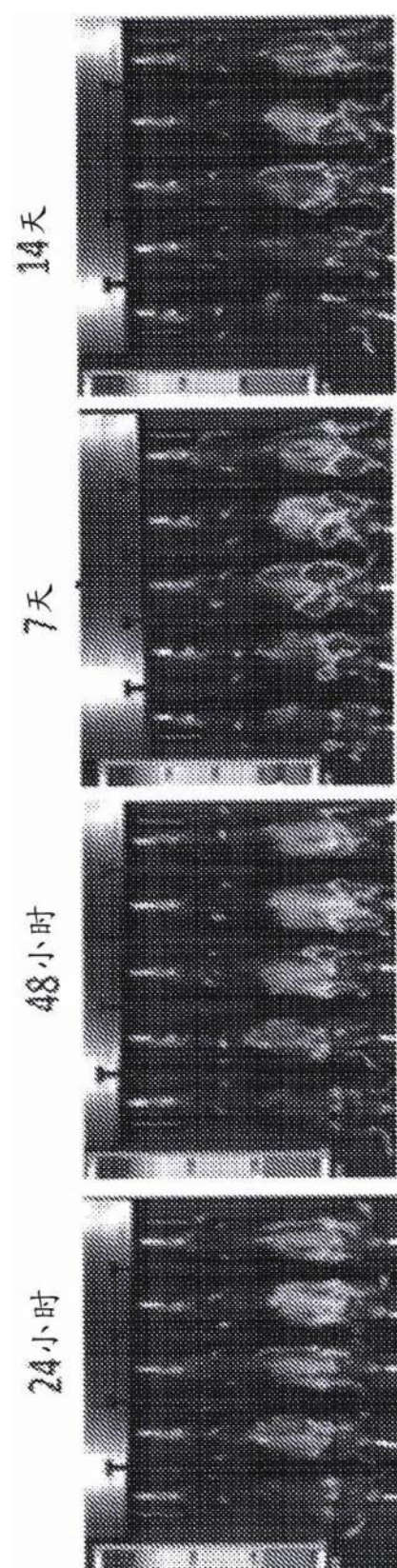


图11

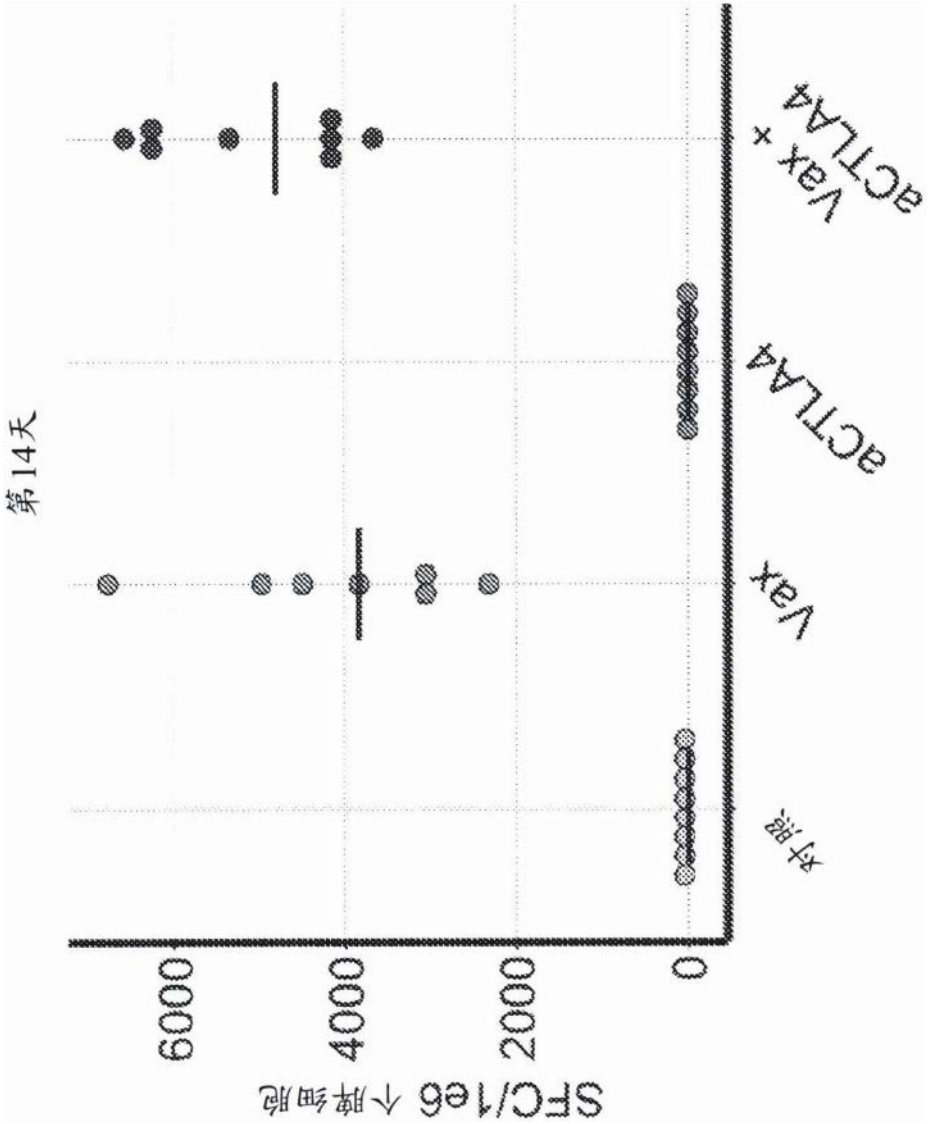


图12A

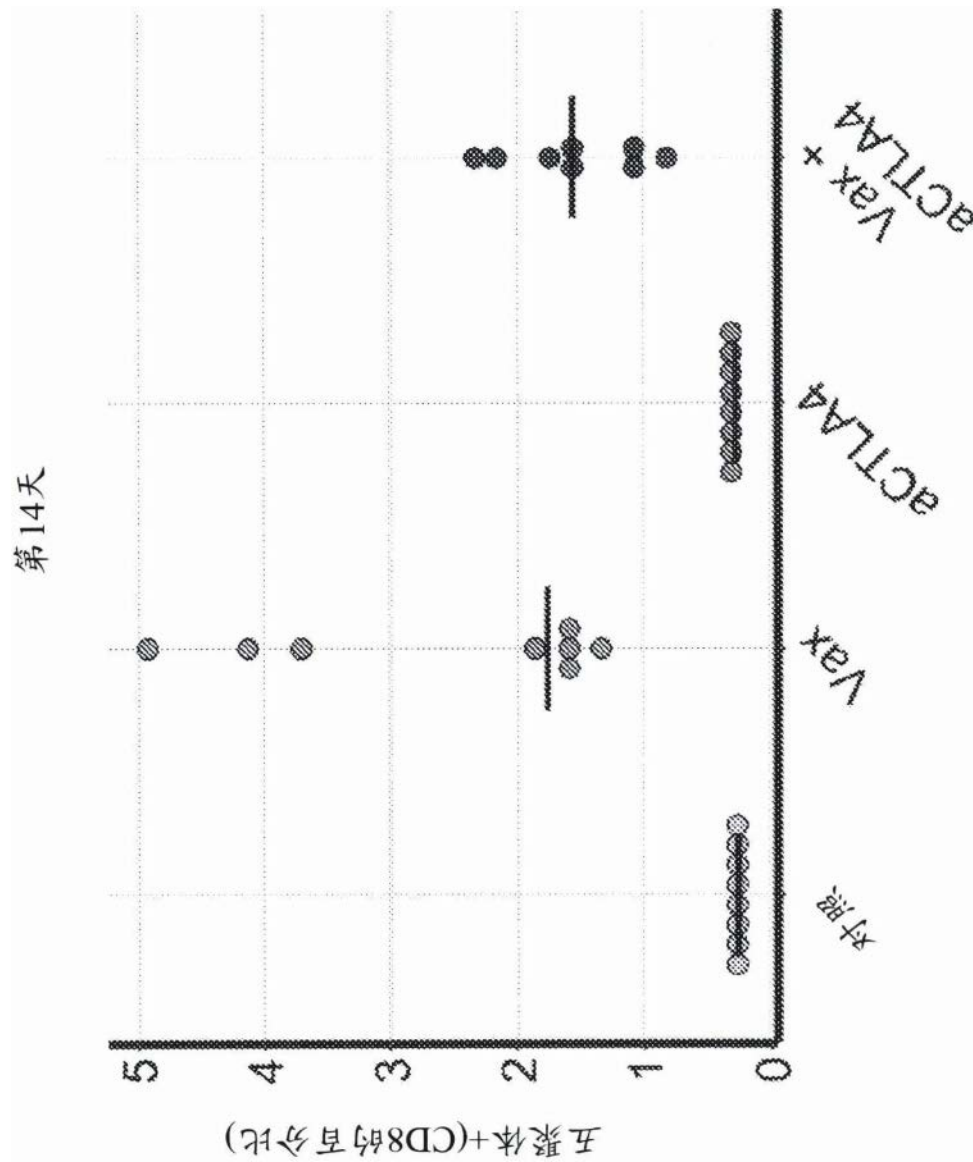


图12B



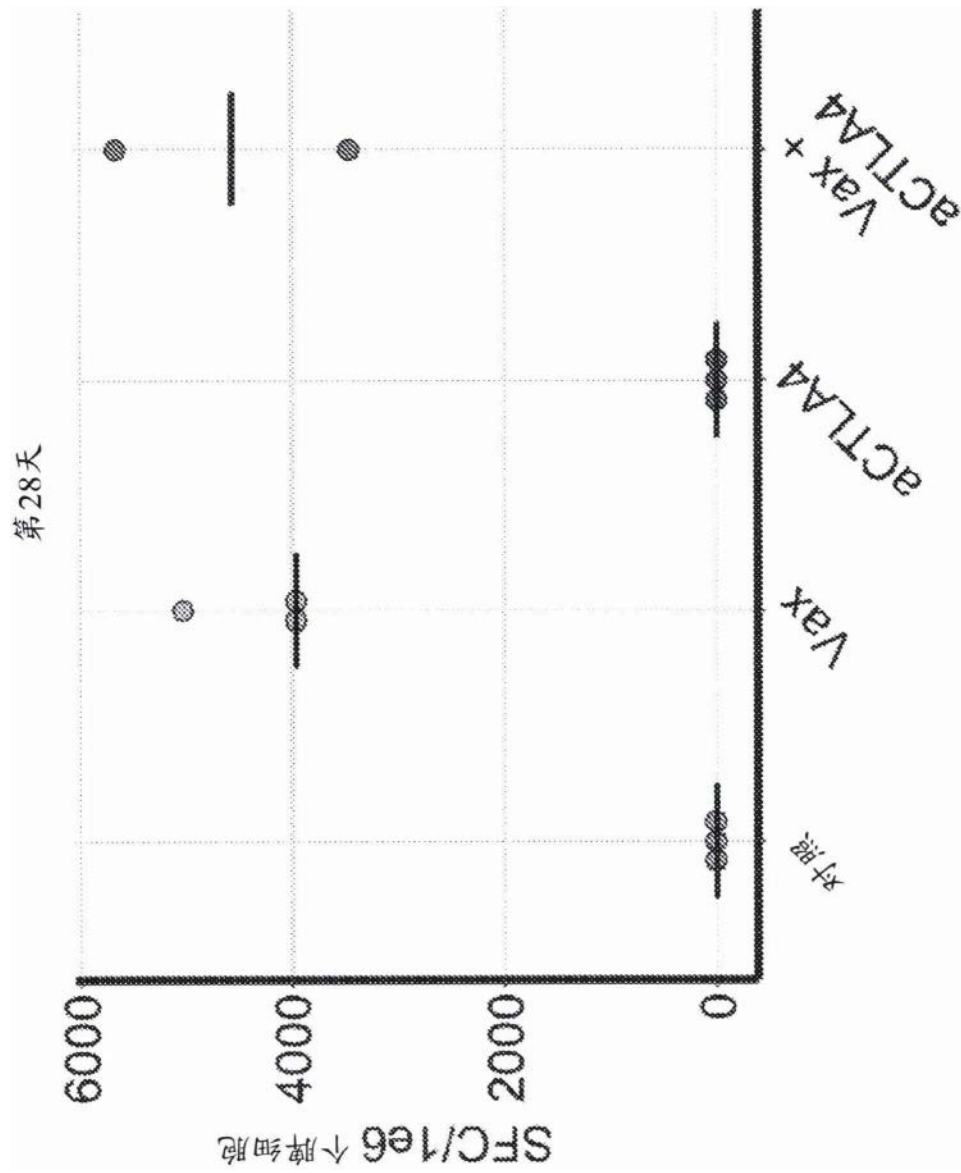


图13B

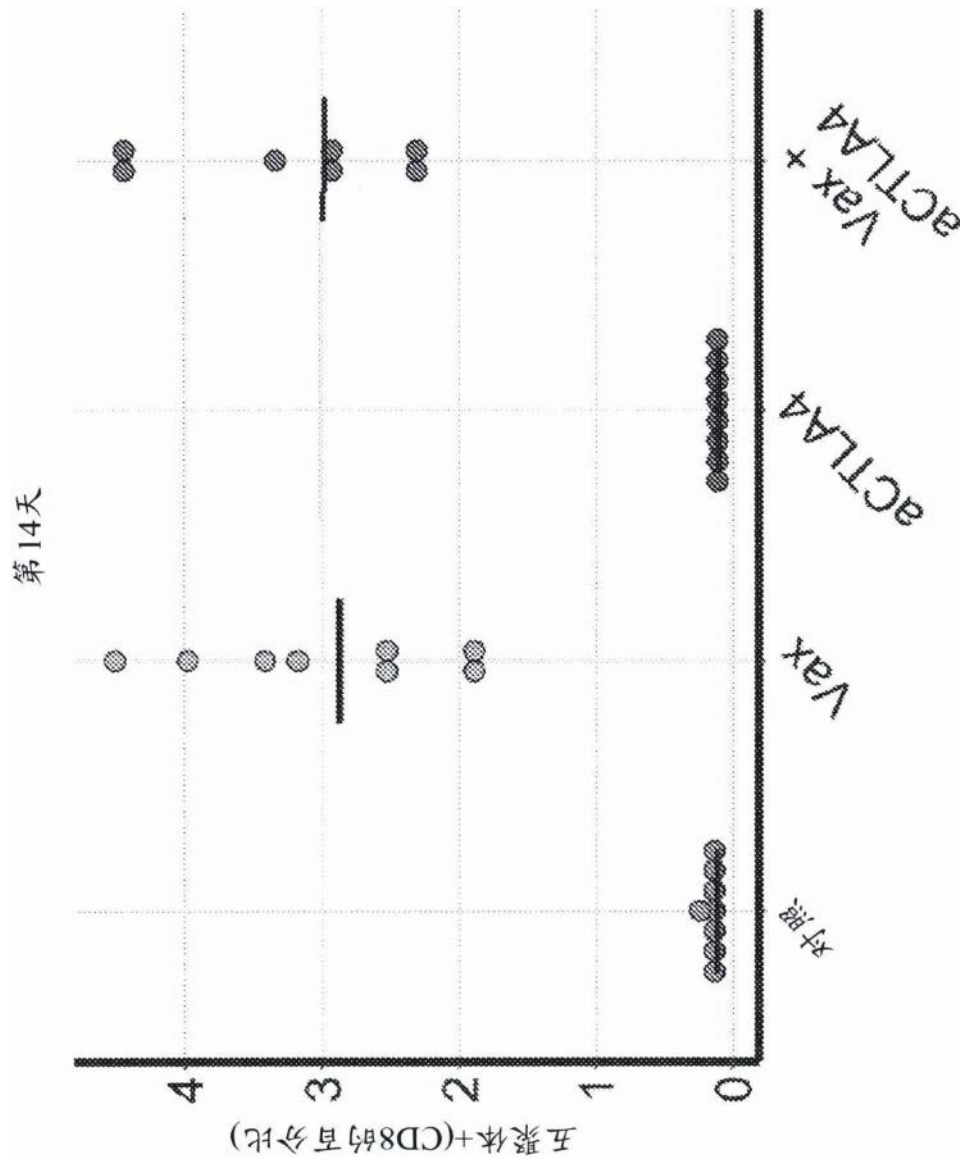


图13C

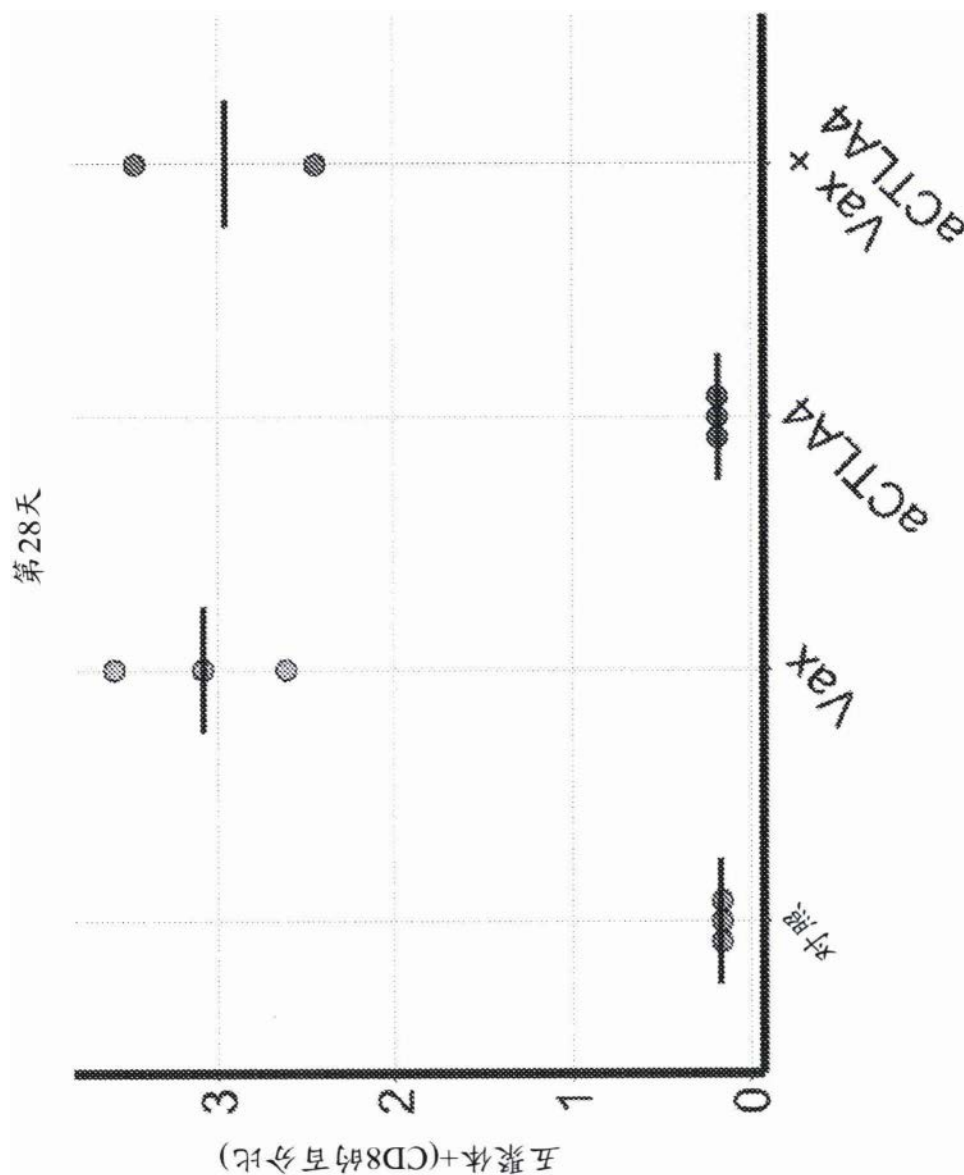


图13D

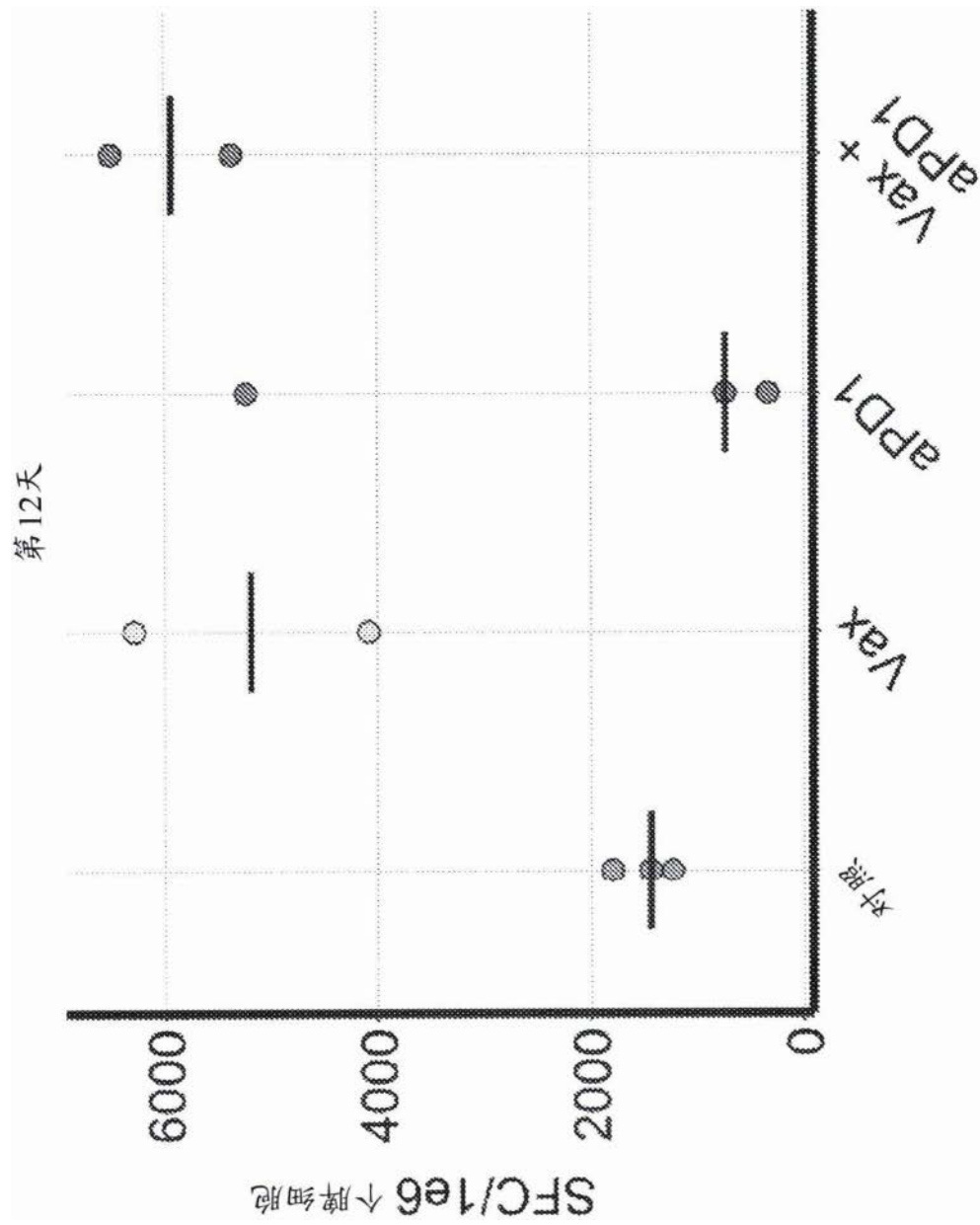


图14A

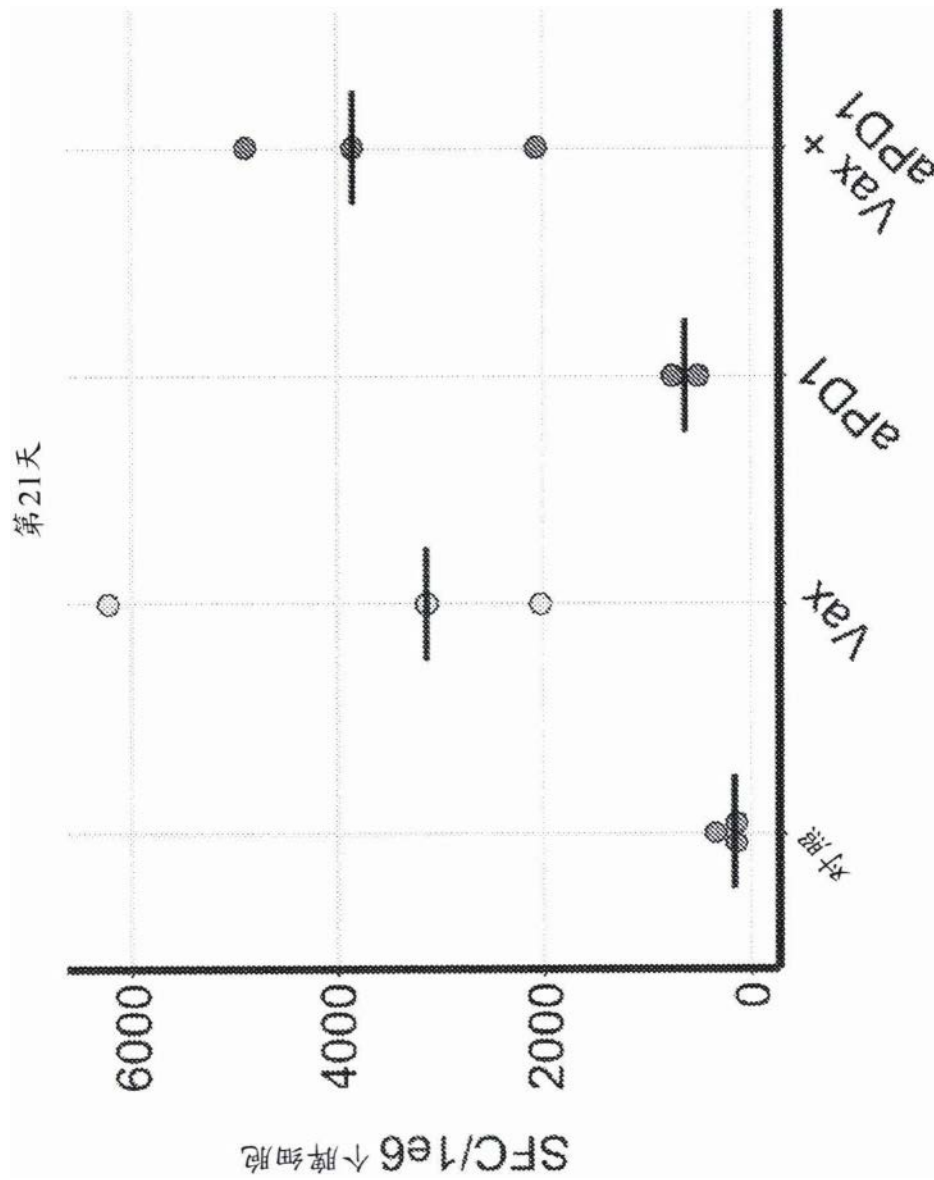


图14B

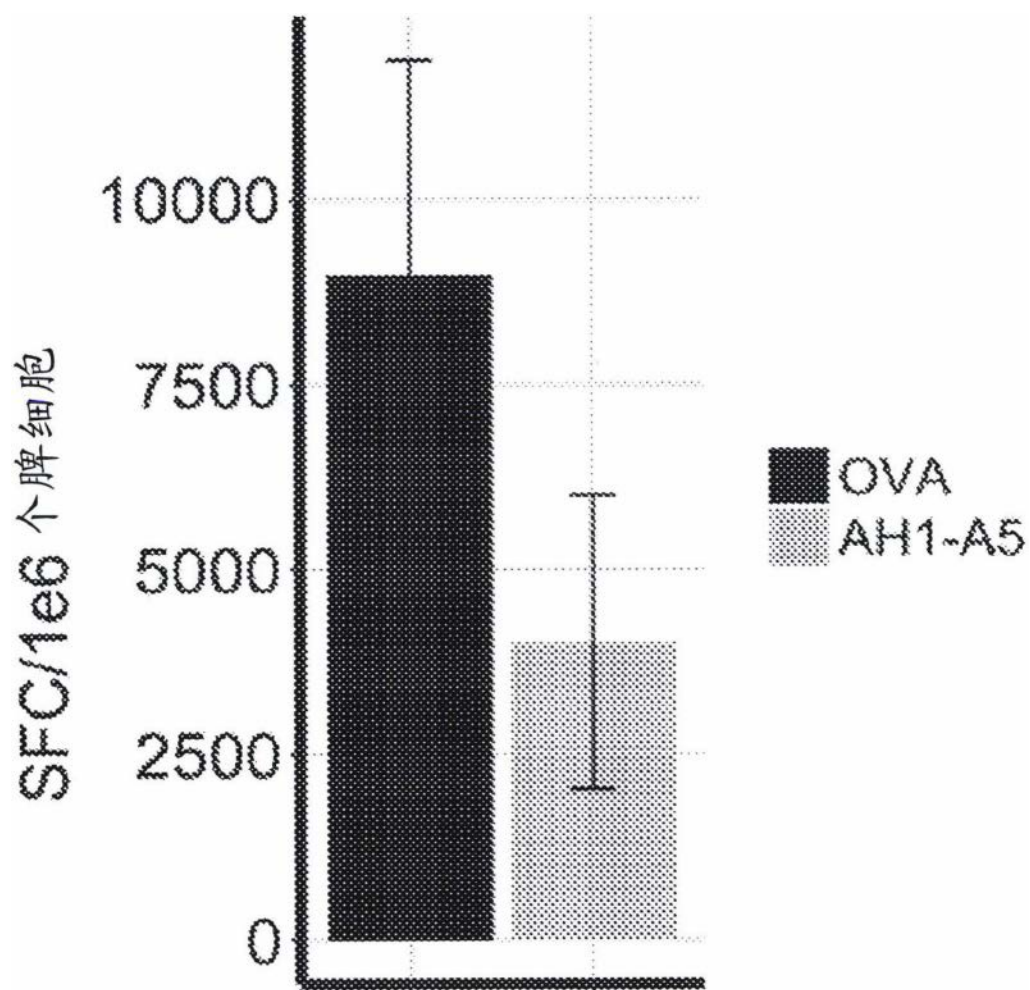


图15

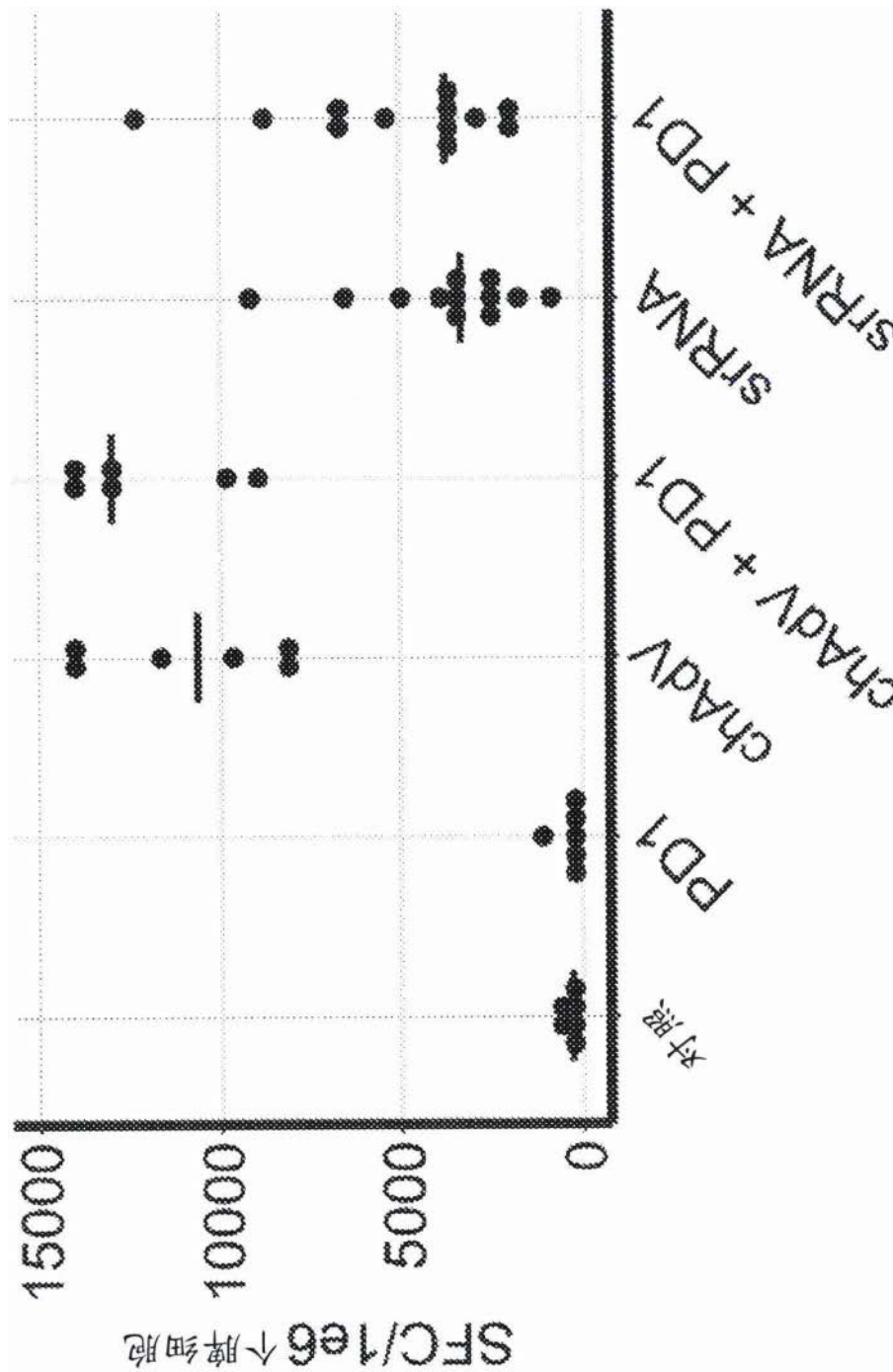


图16

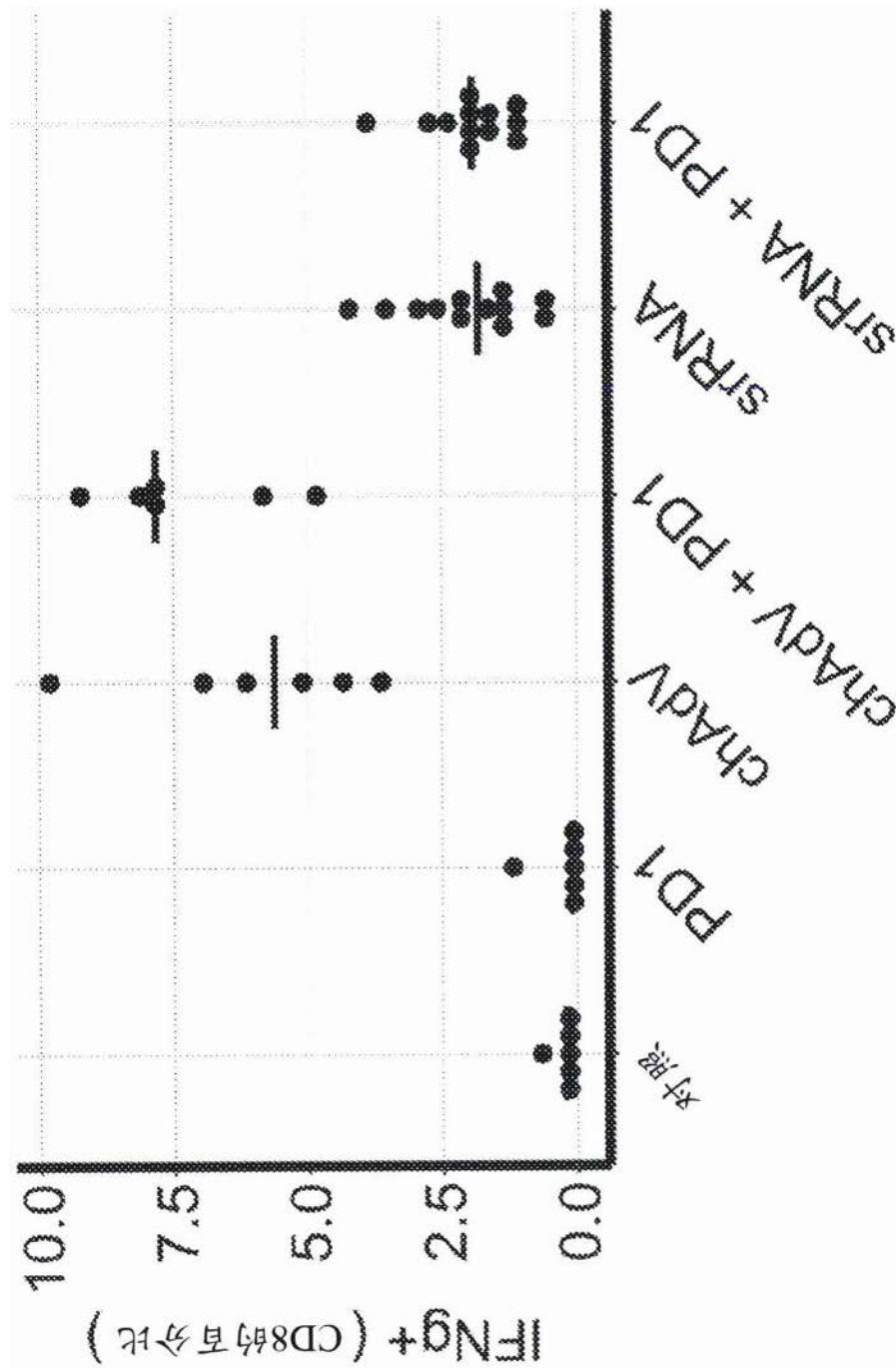


图17

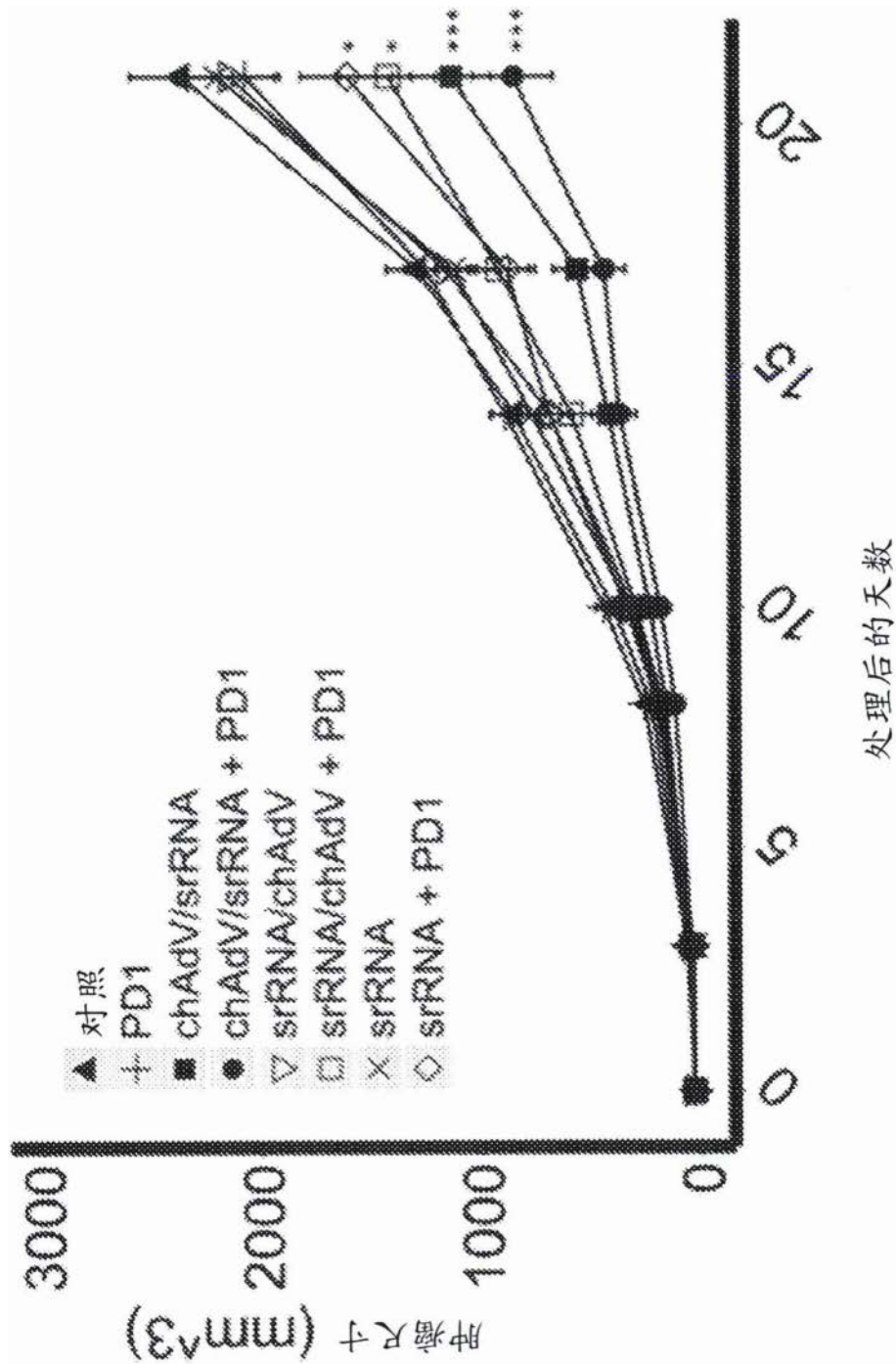


图18

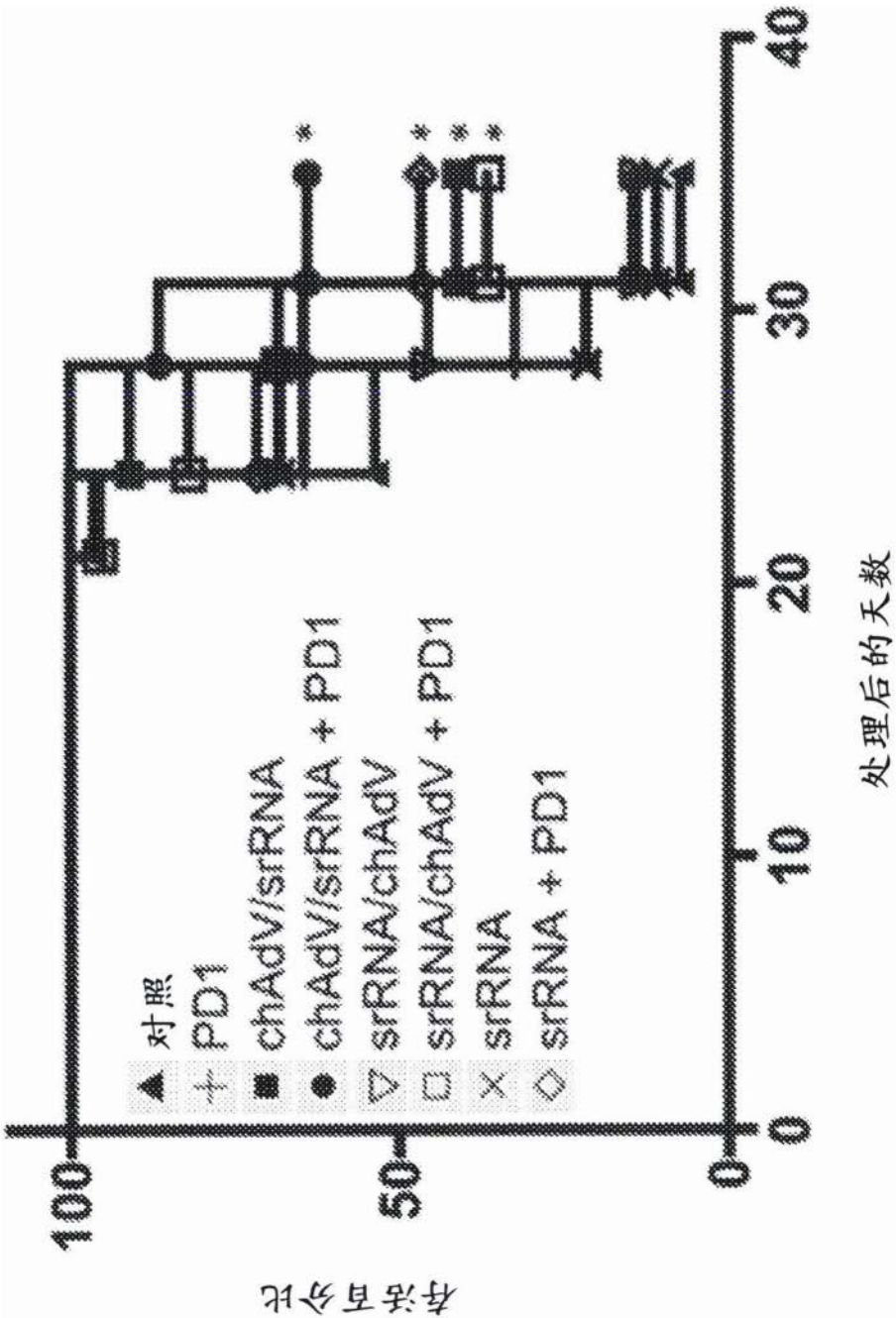


图19

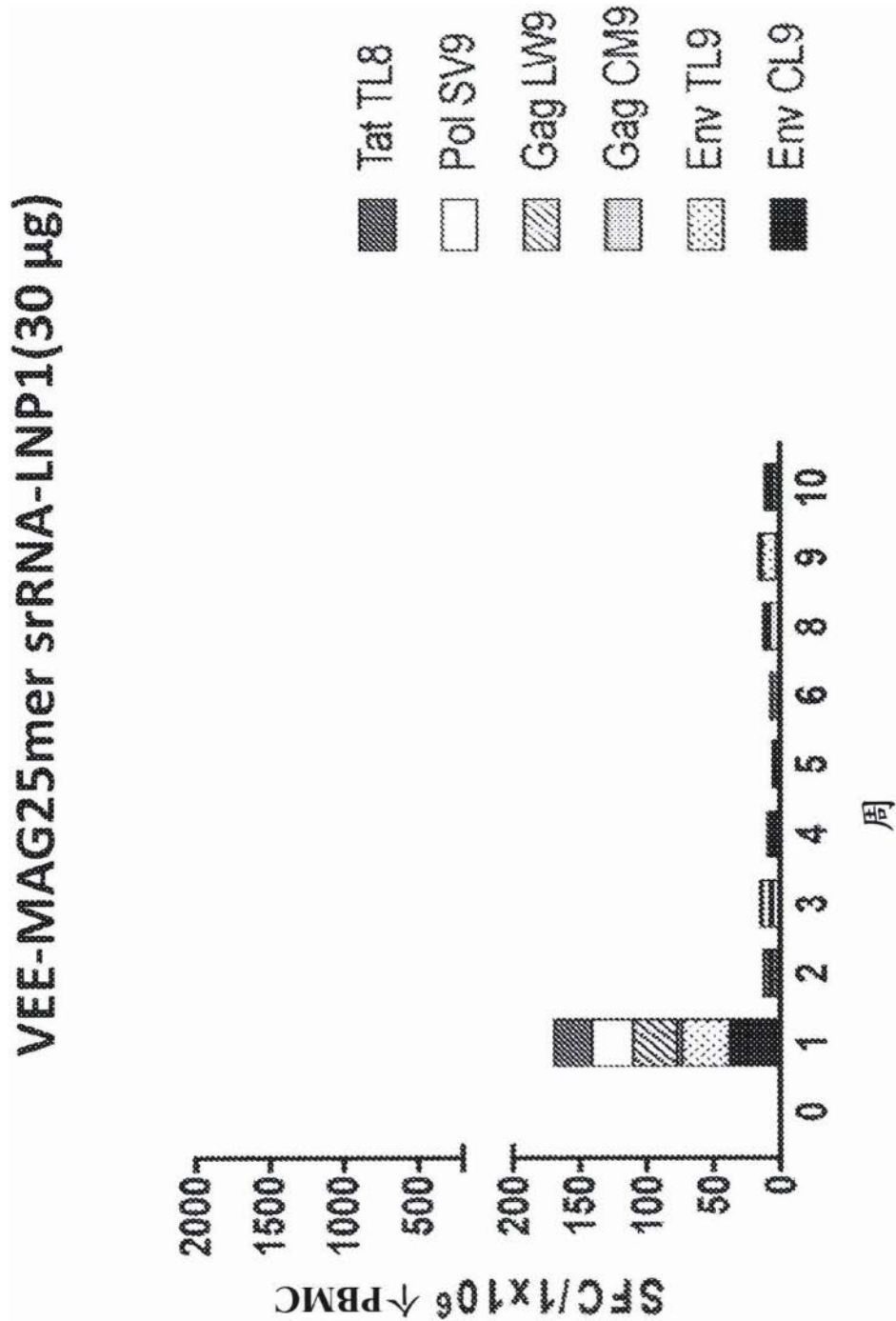


图20A

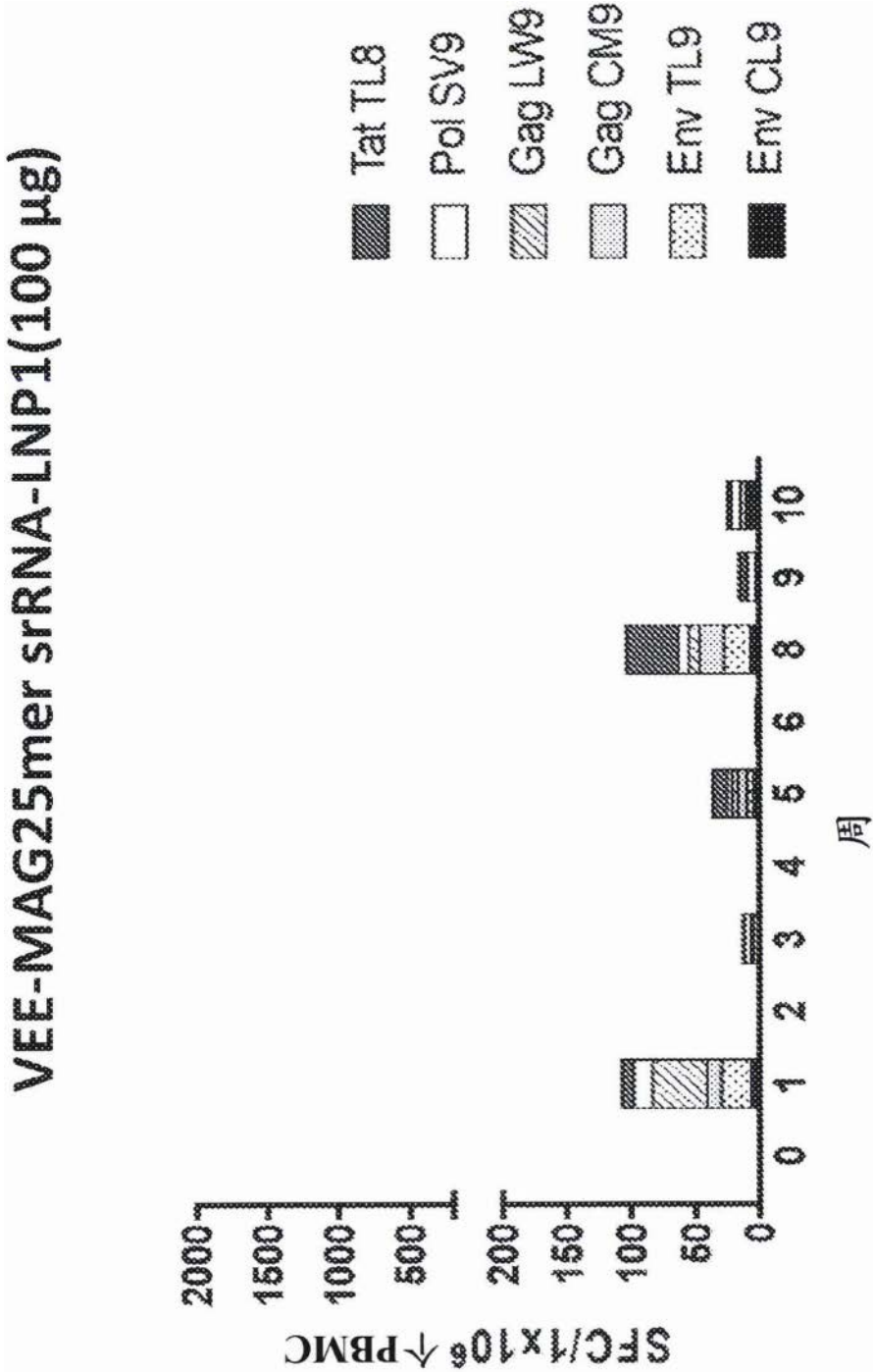


图20B

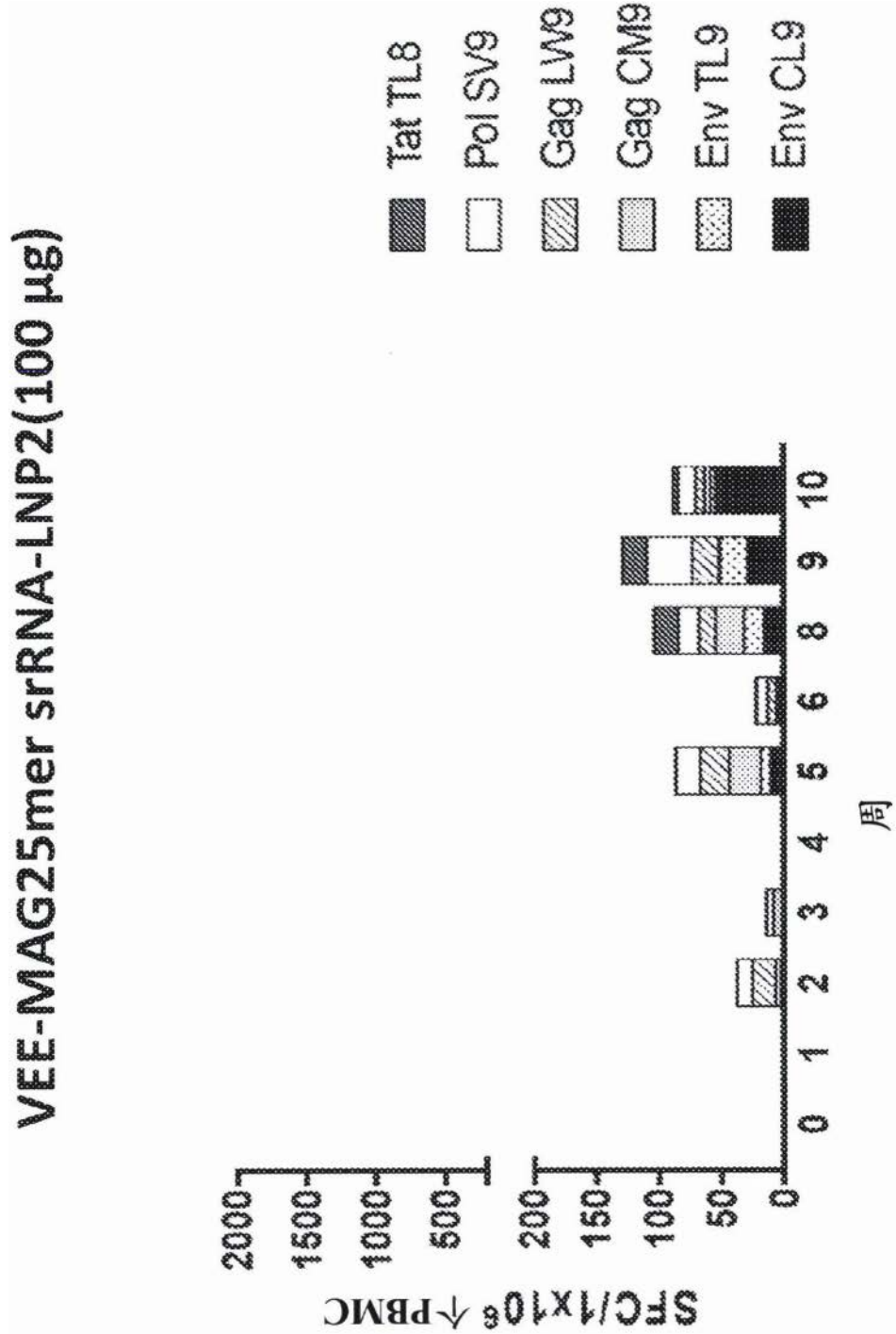


图20C

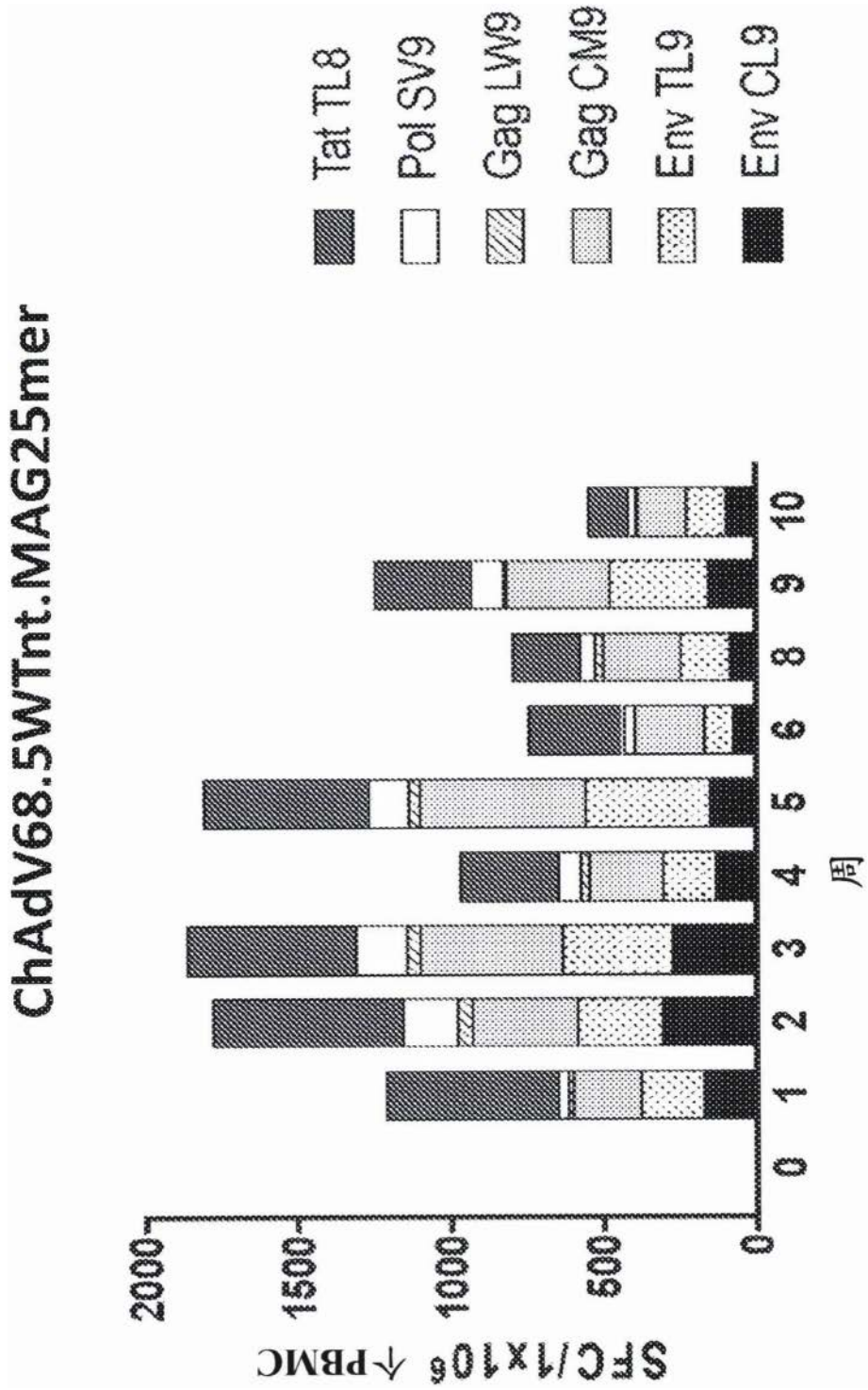


图20D

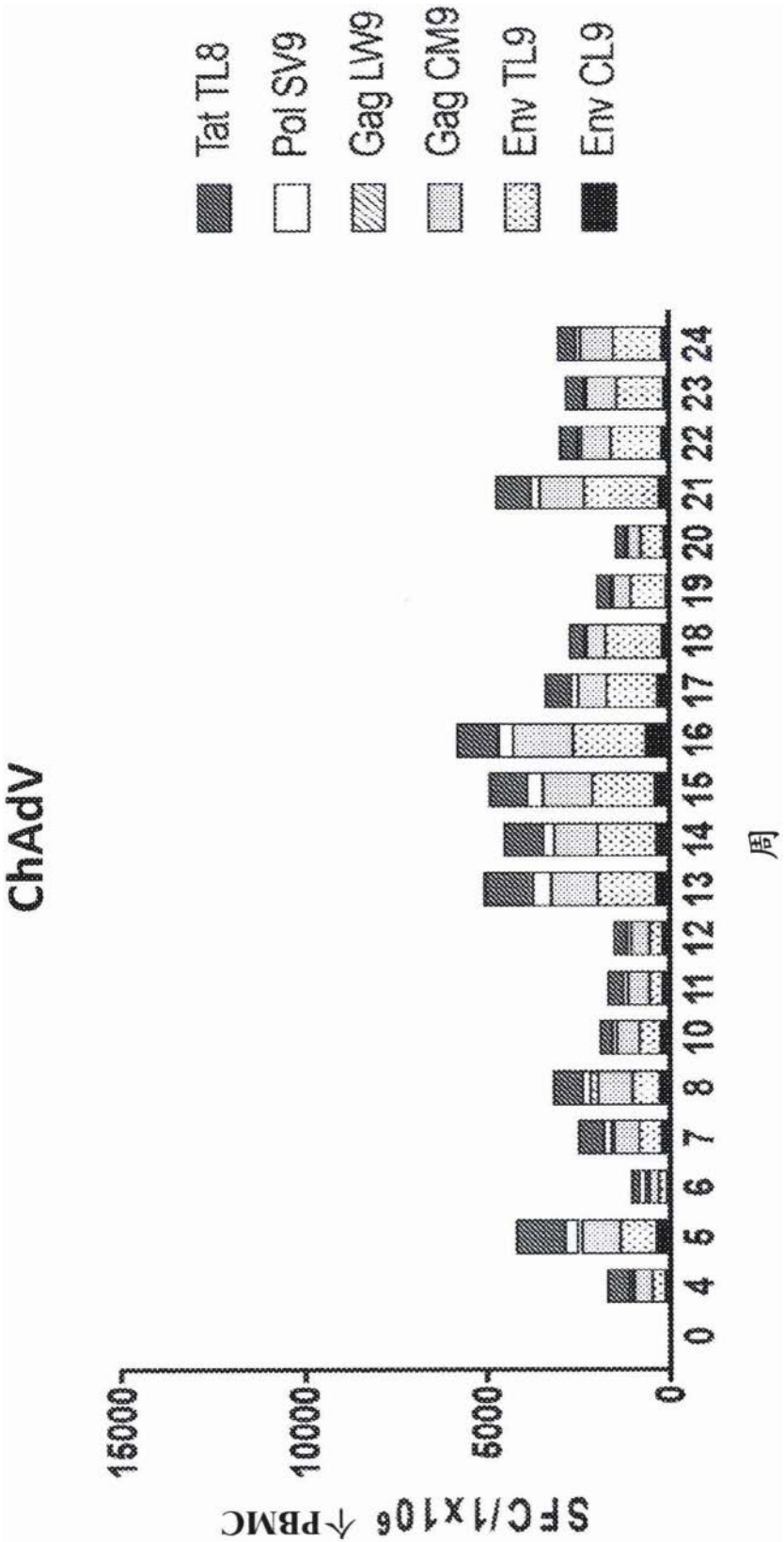


图21

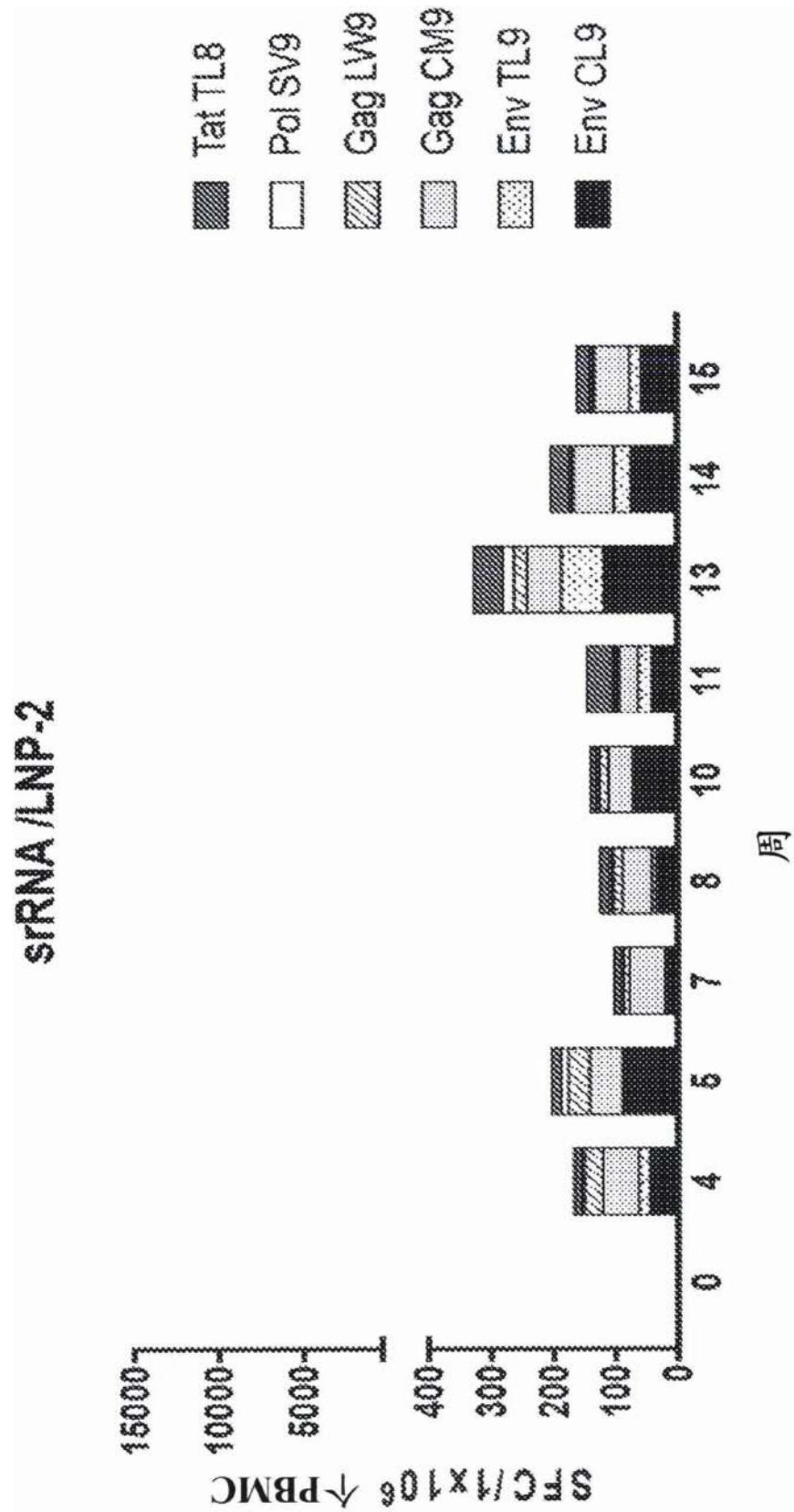


图22

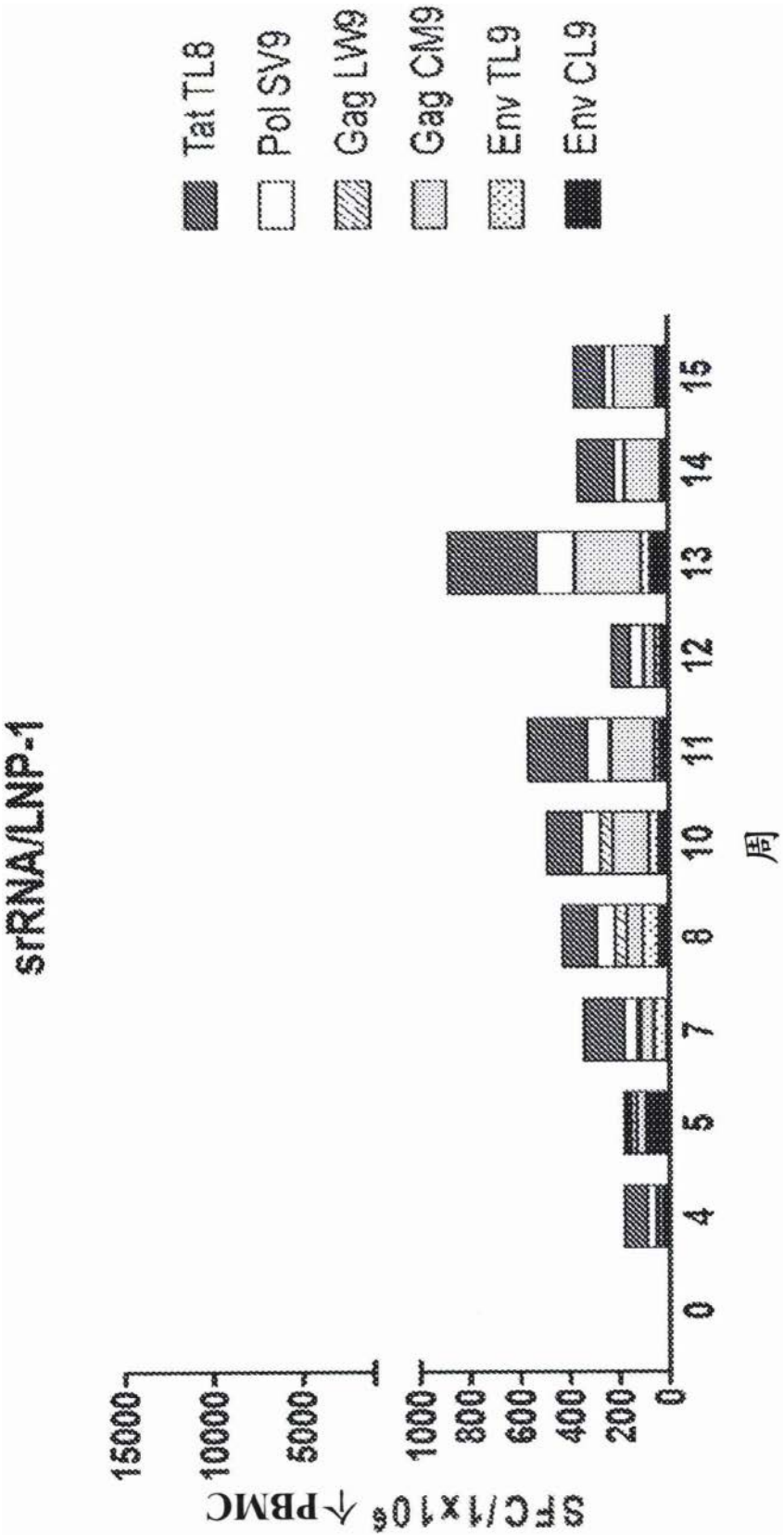


图23

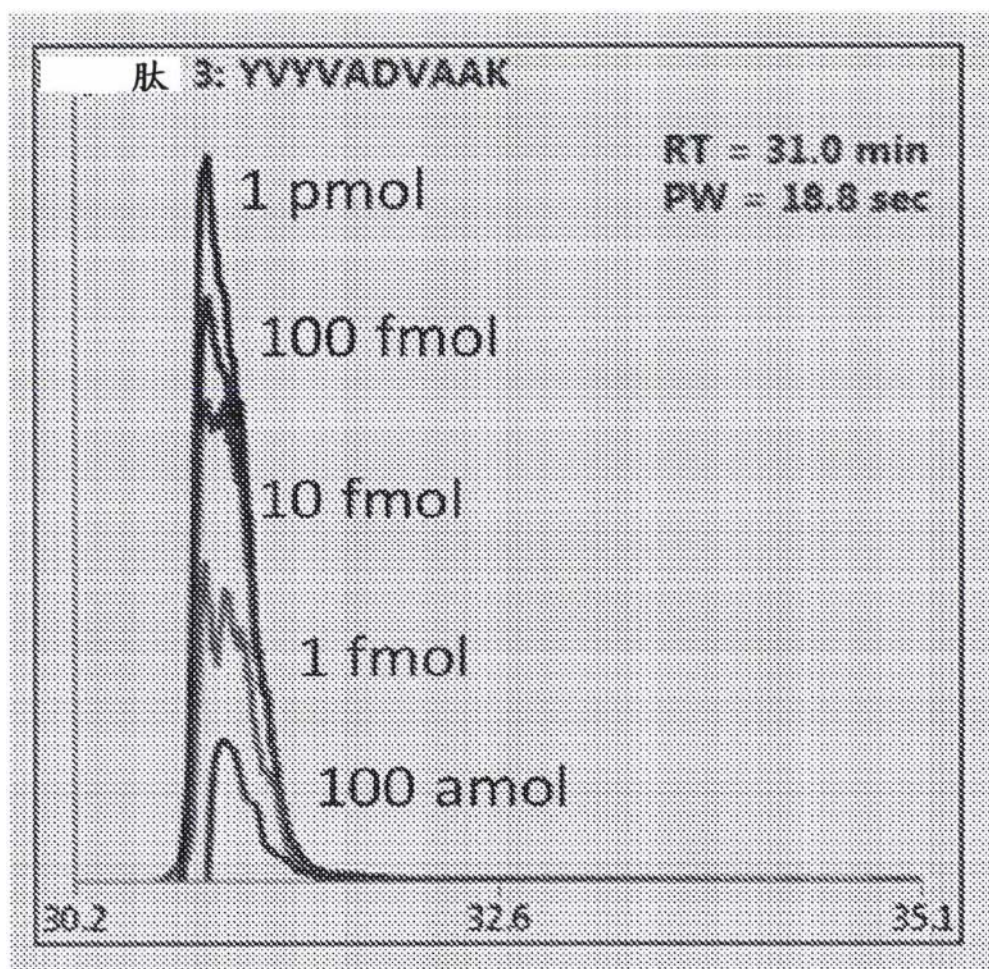


图24A

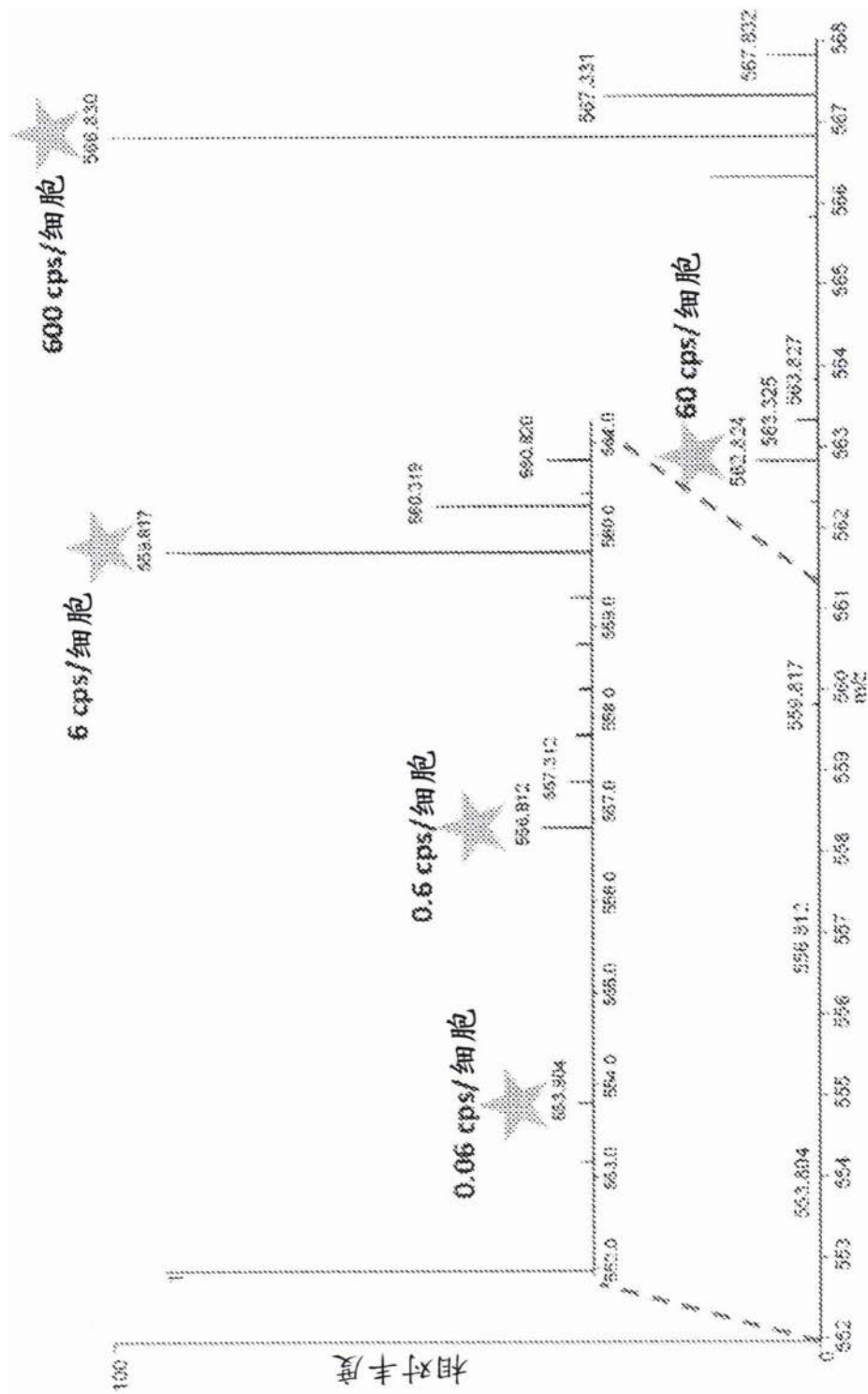


图24B

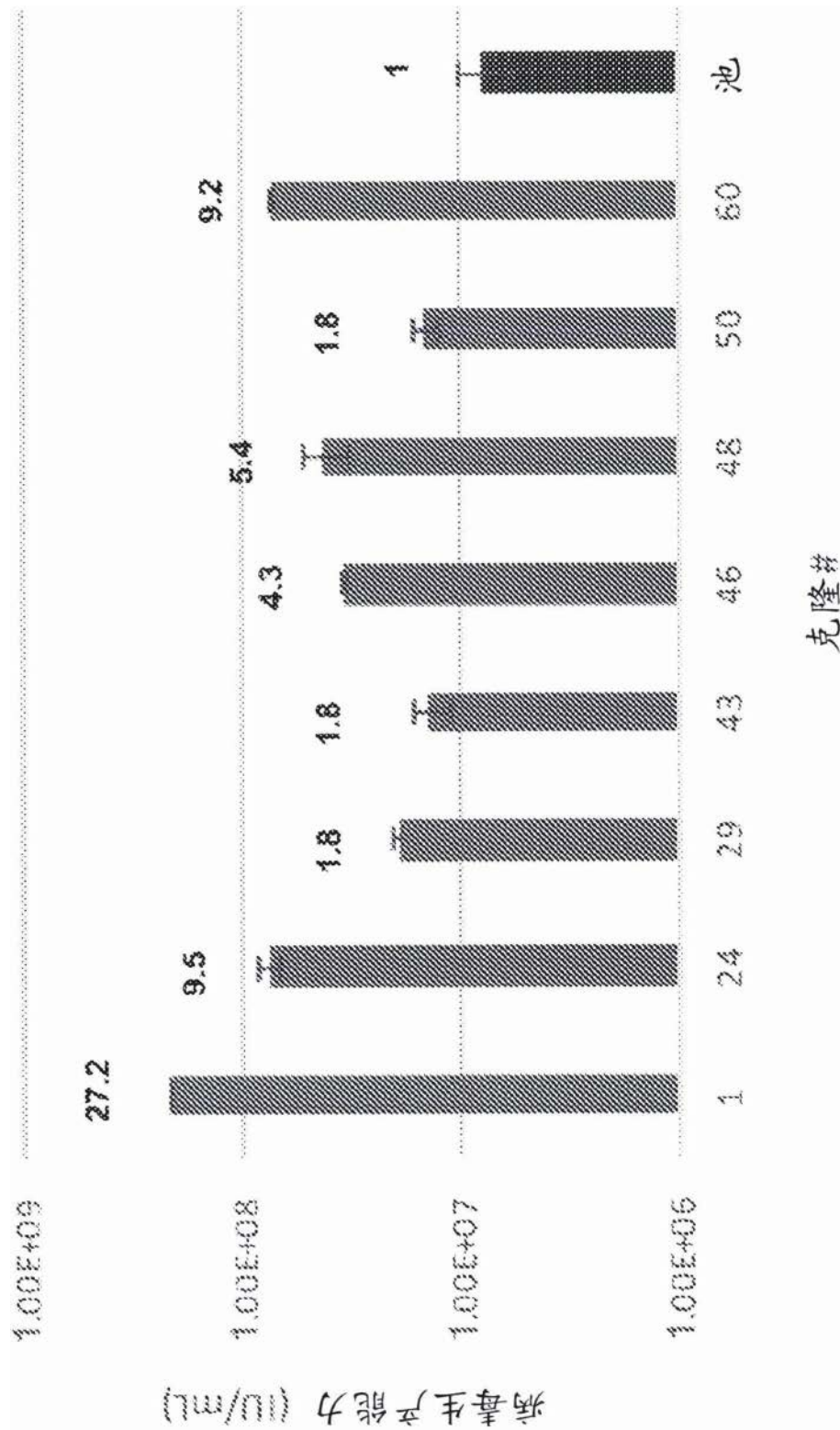


图25

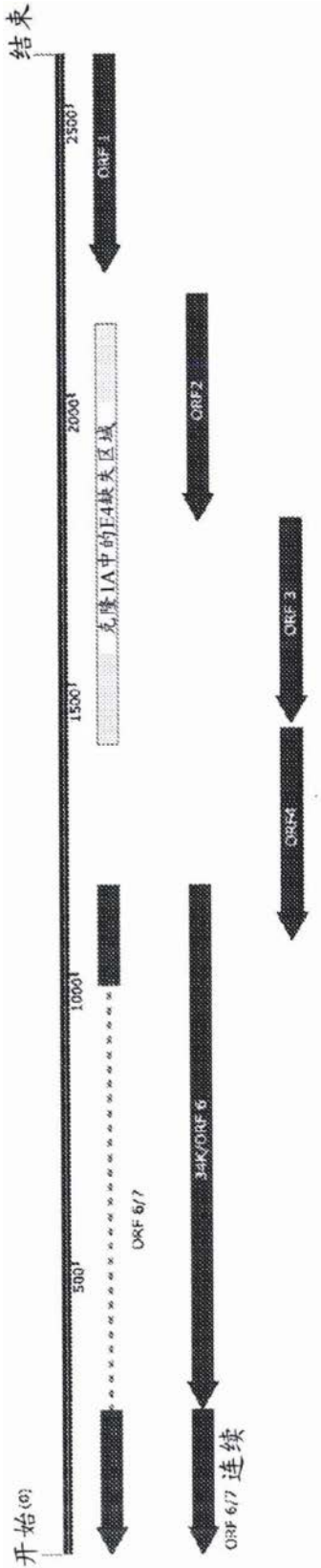


图26

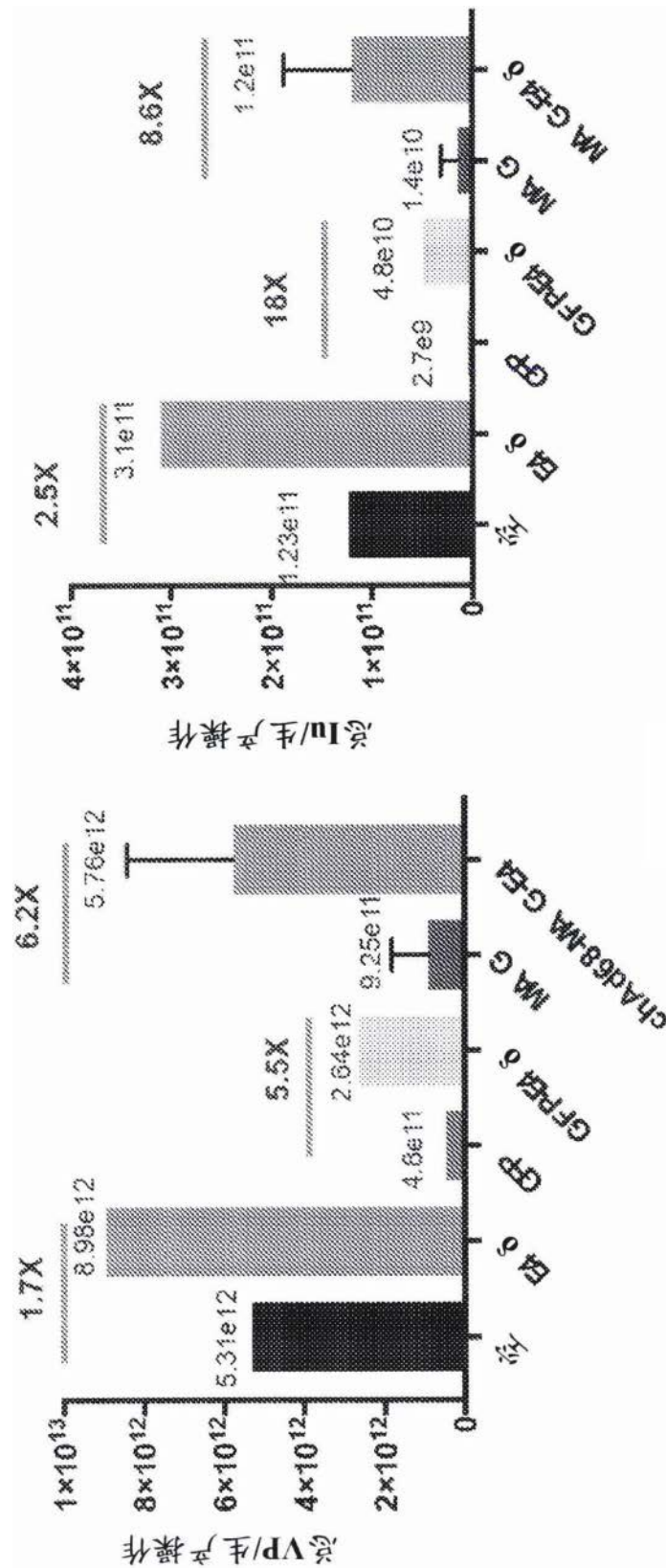


图27

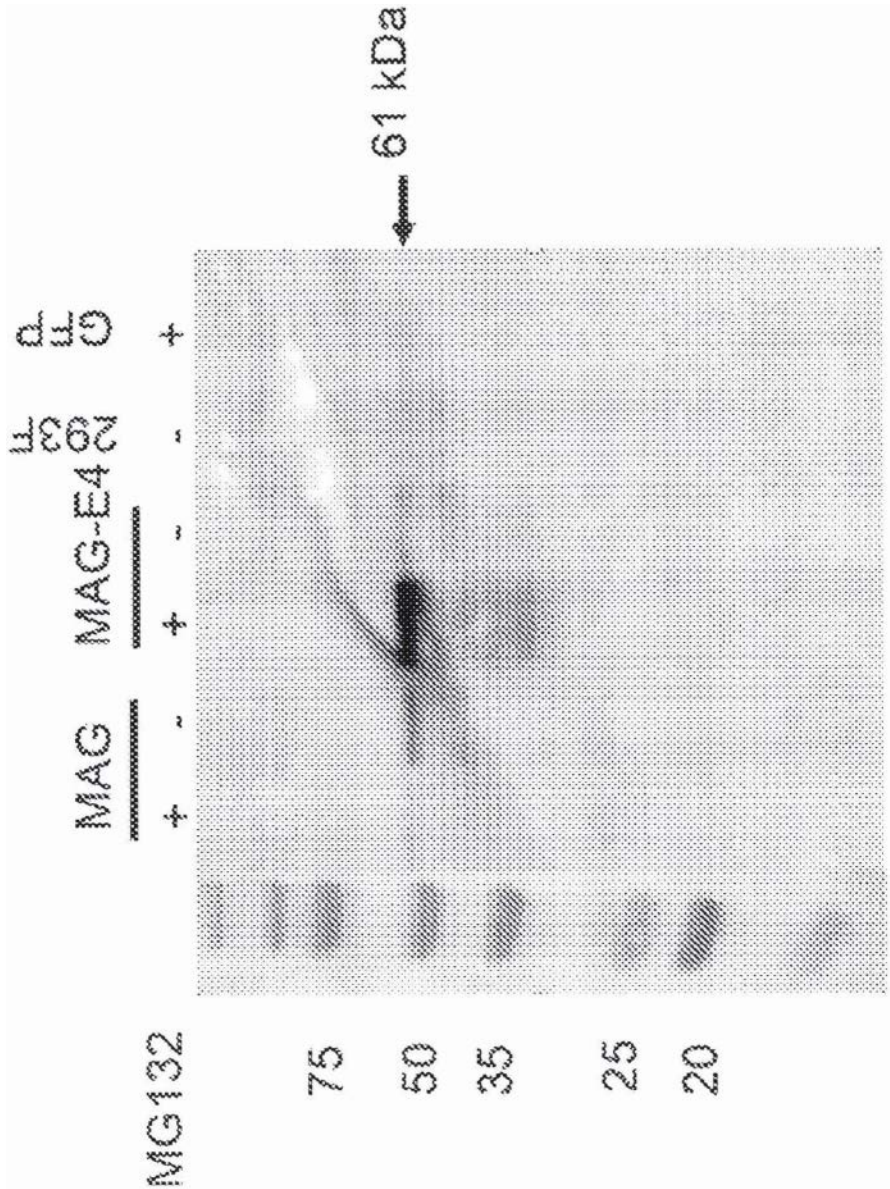


图28



图29

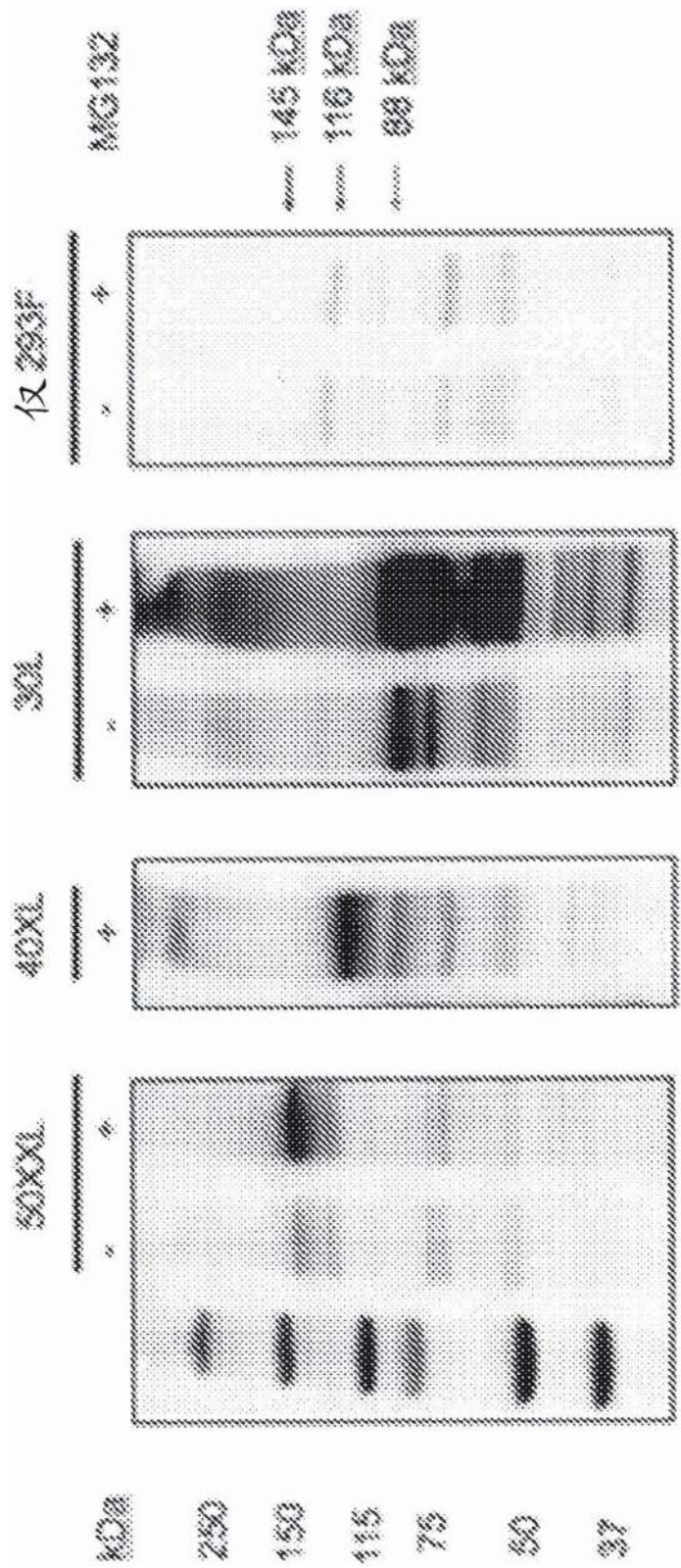


图30



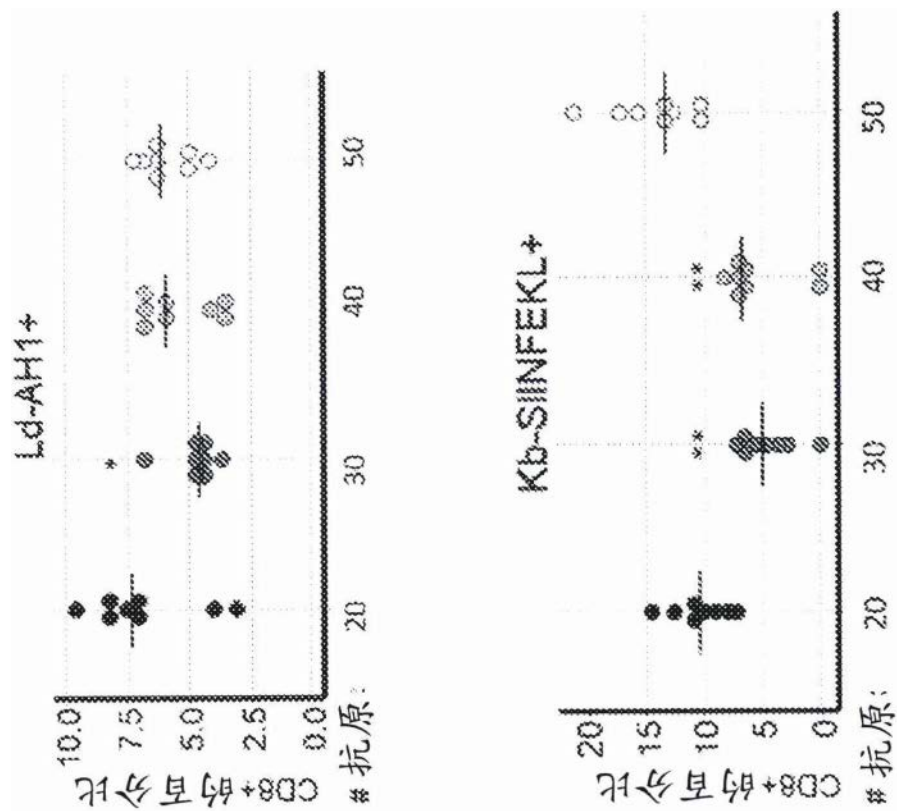


图32

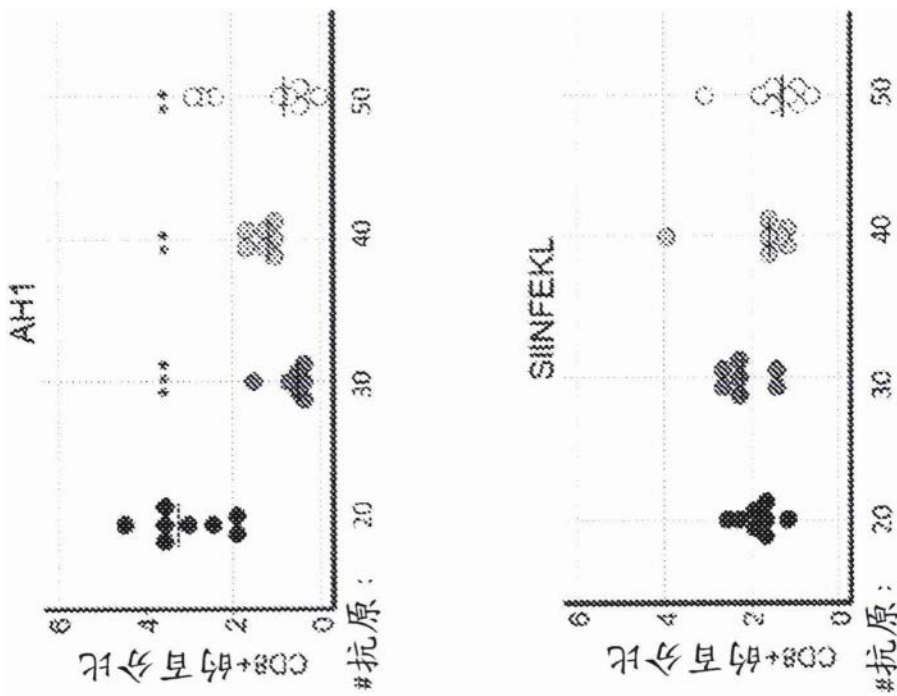


图33

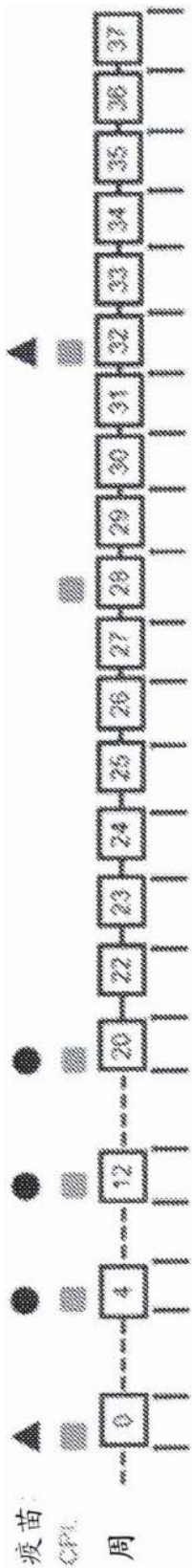


图34

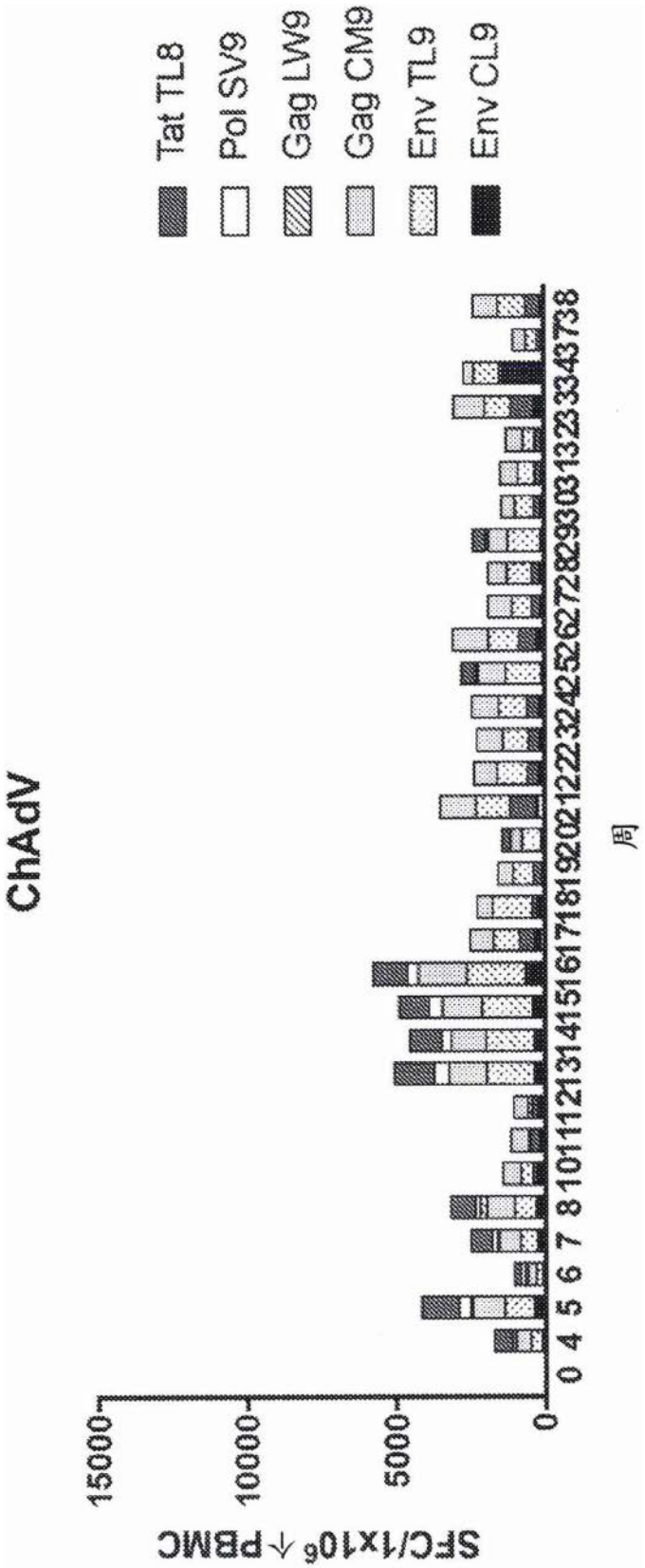


图35

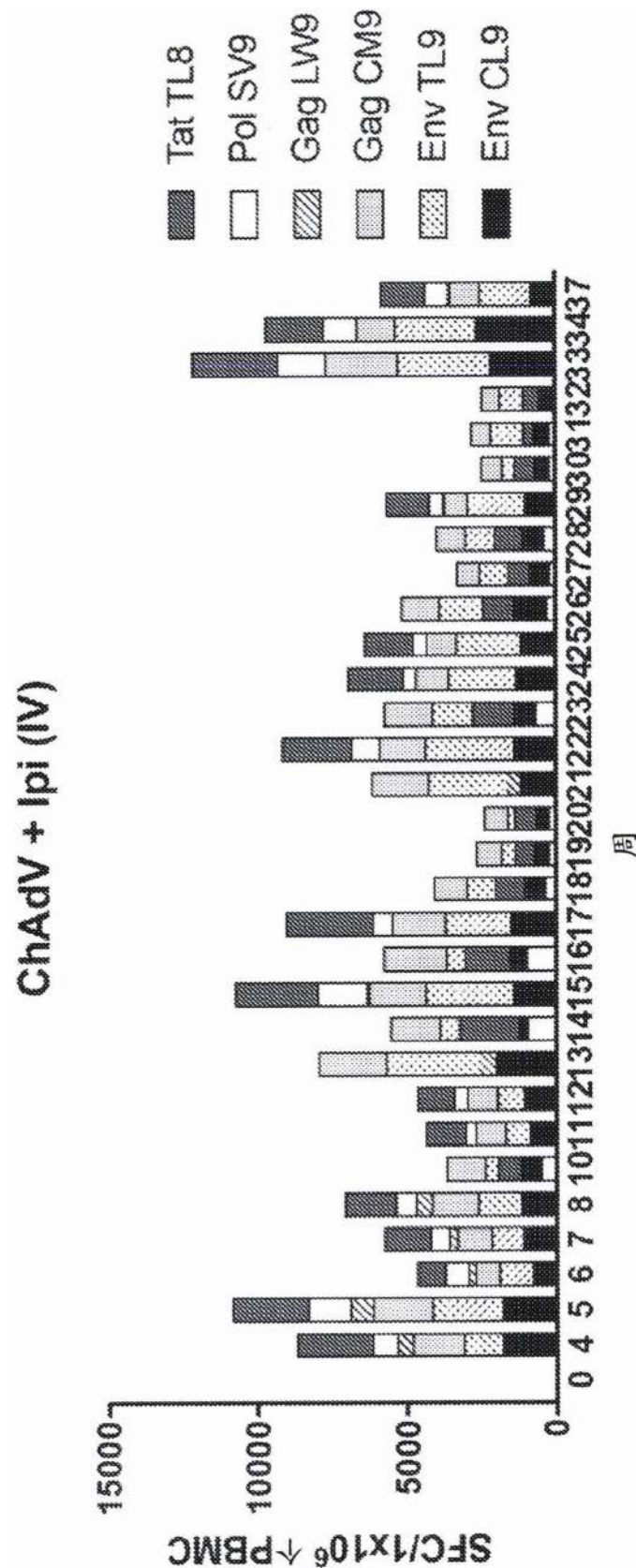


图36

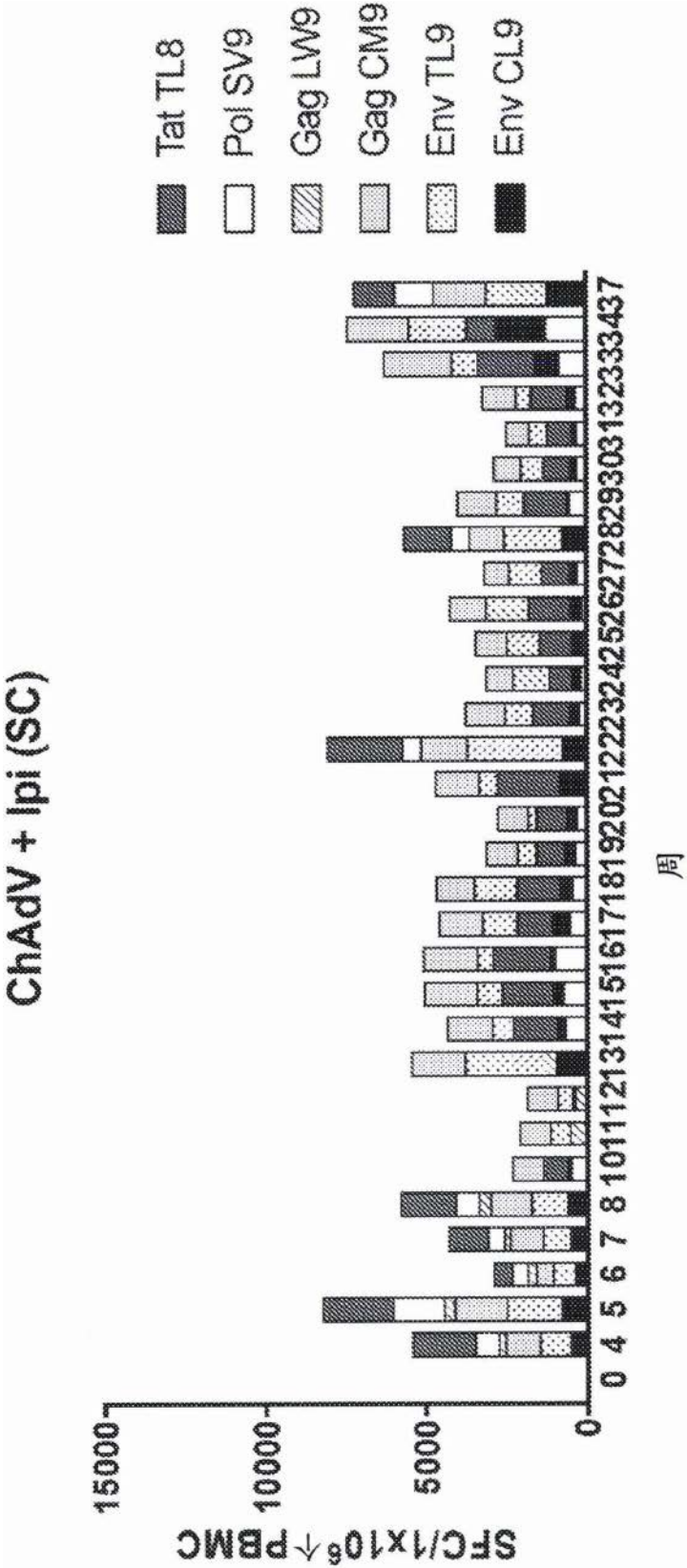


图37

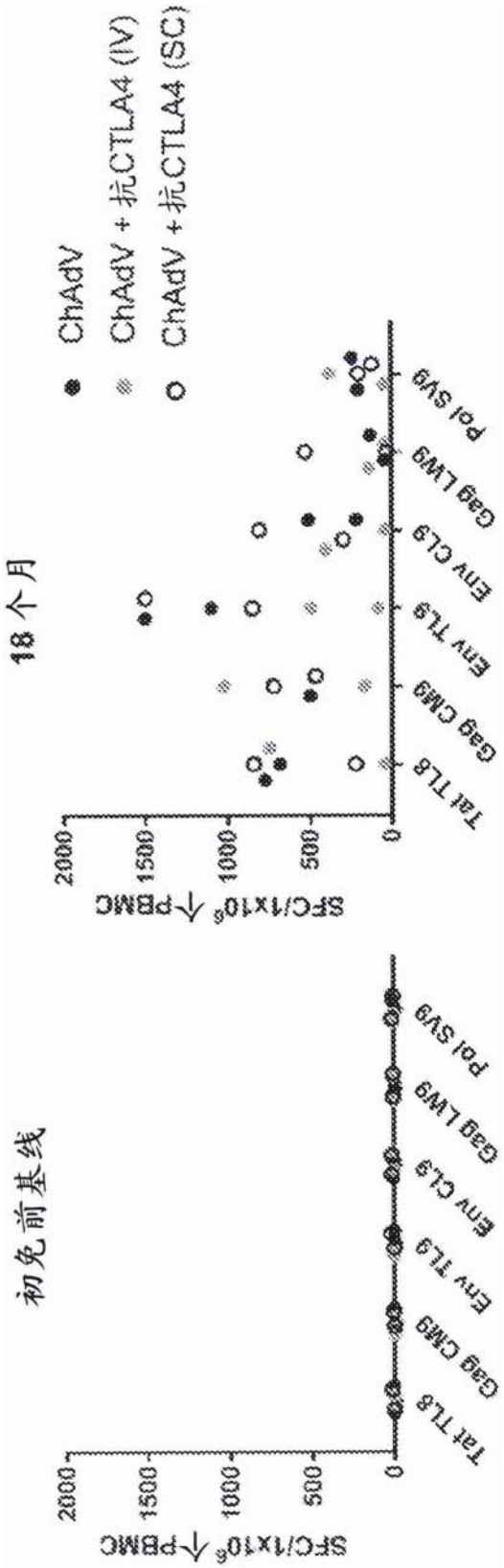


图38

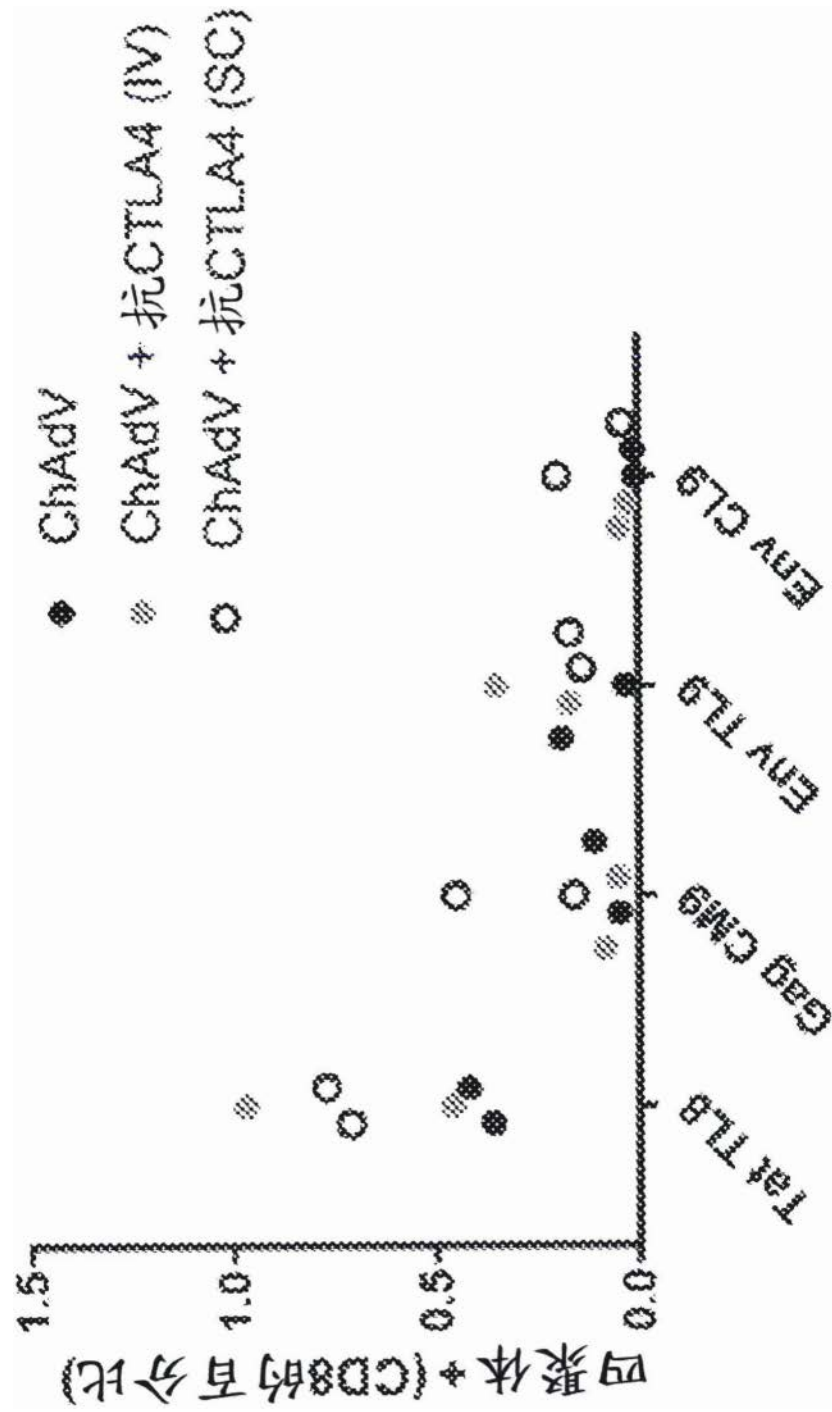


图39

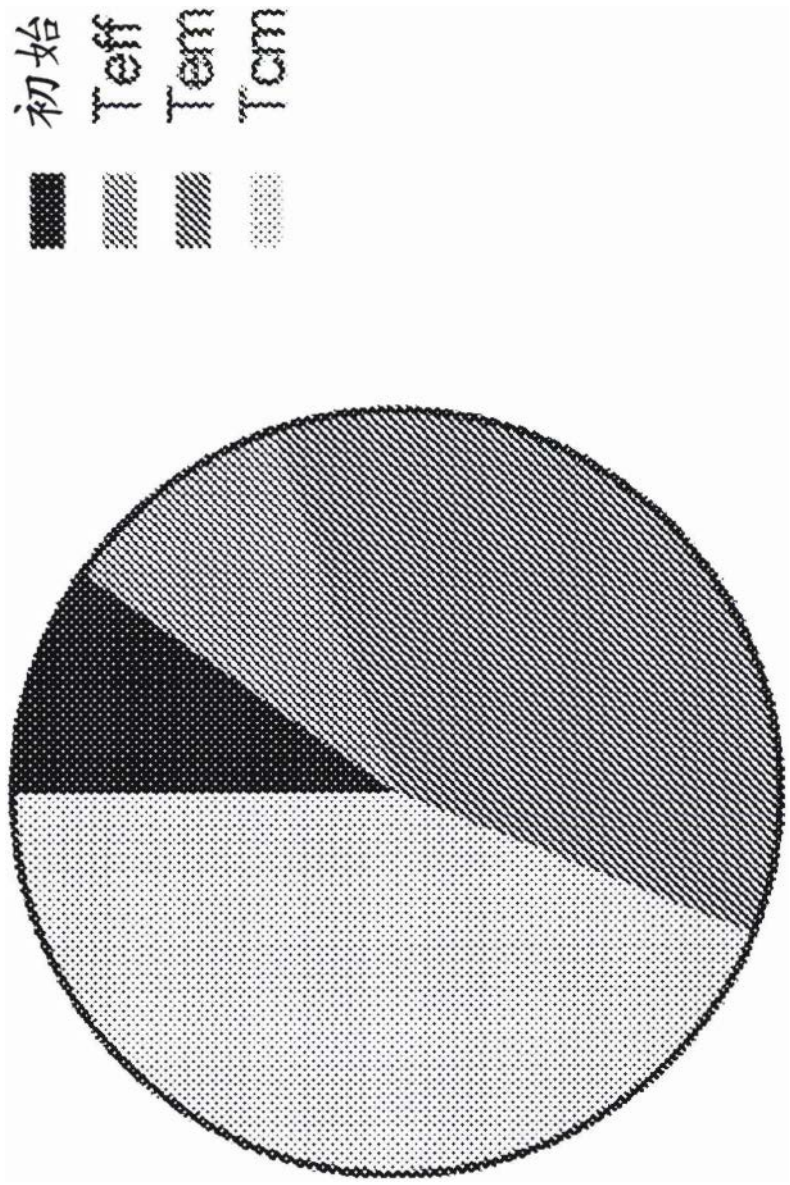


图40

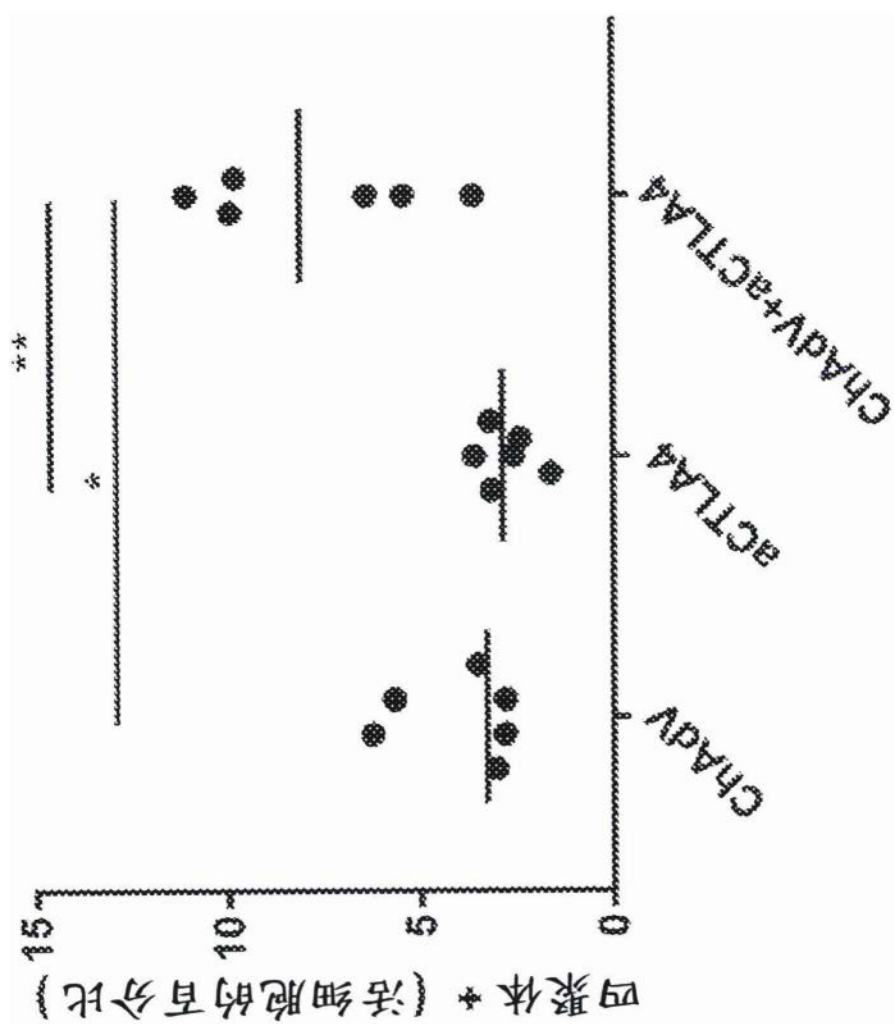


图41

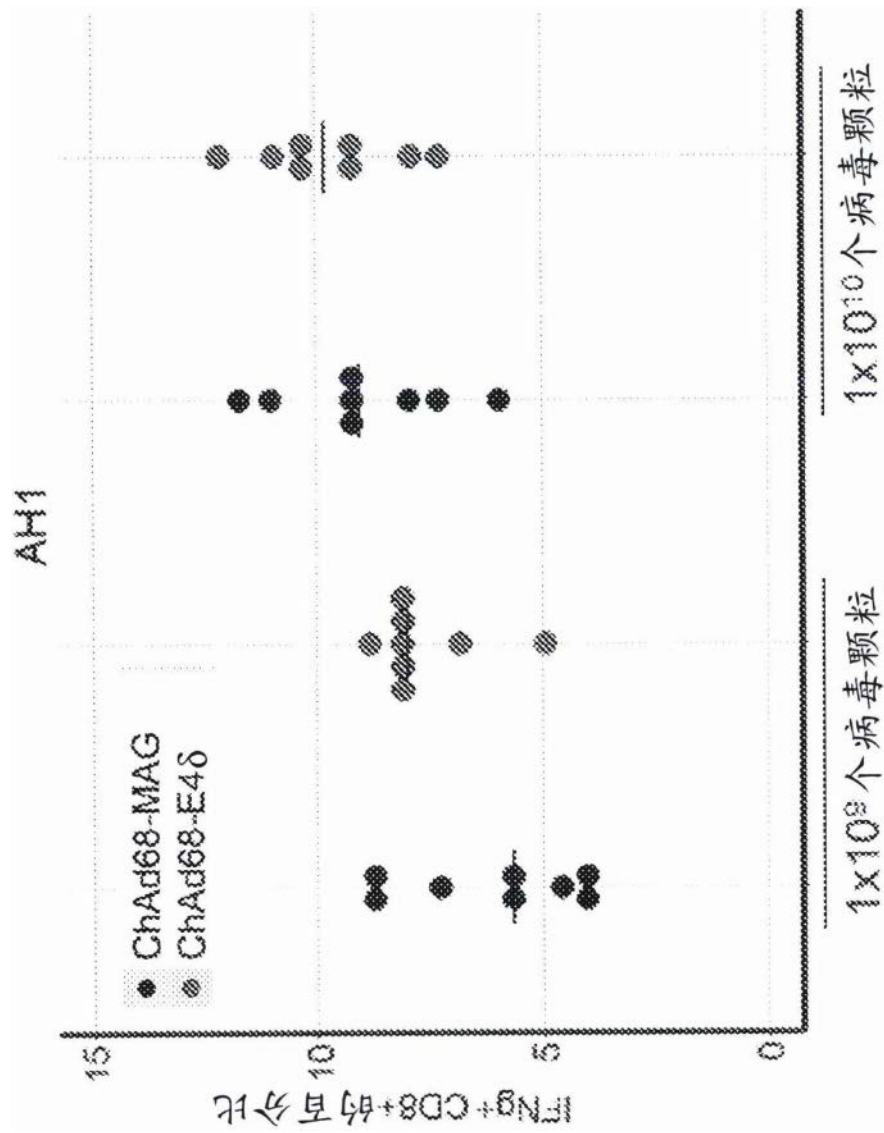


图42A

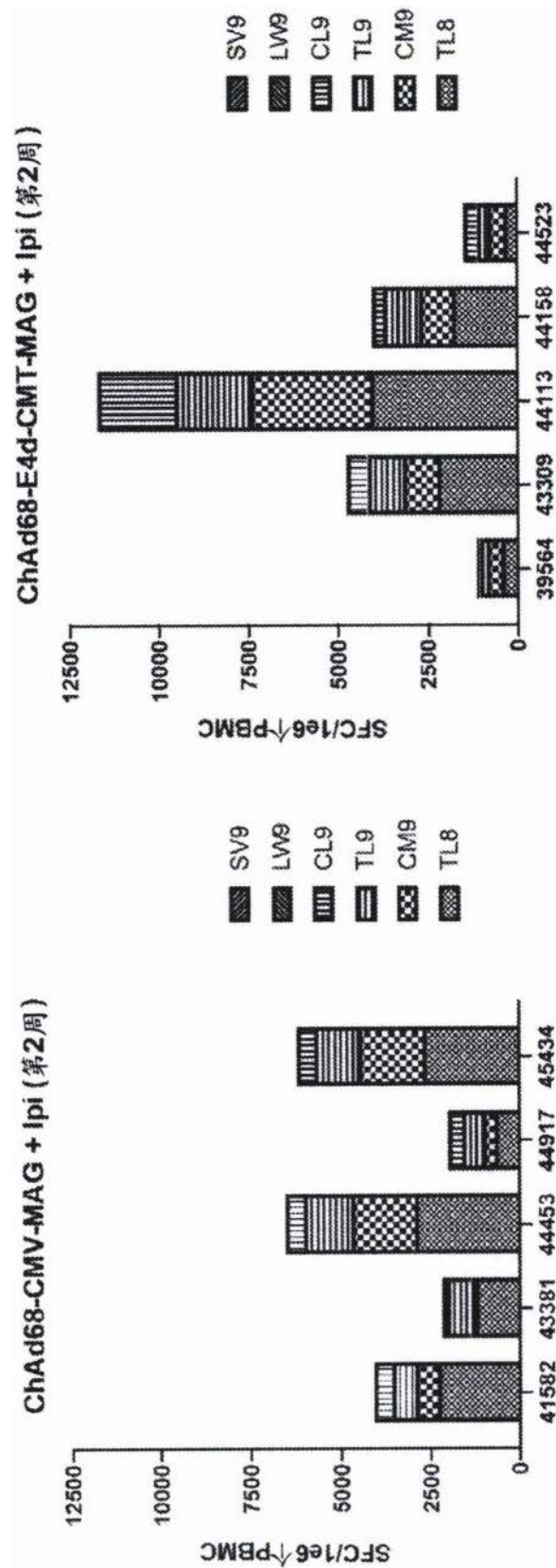


图42B

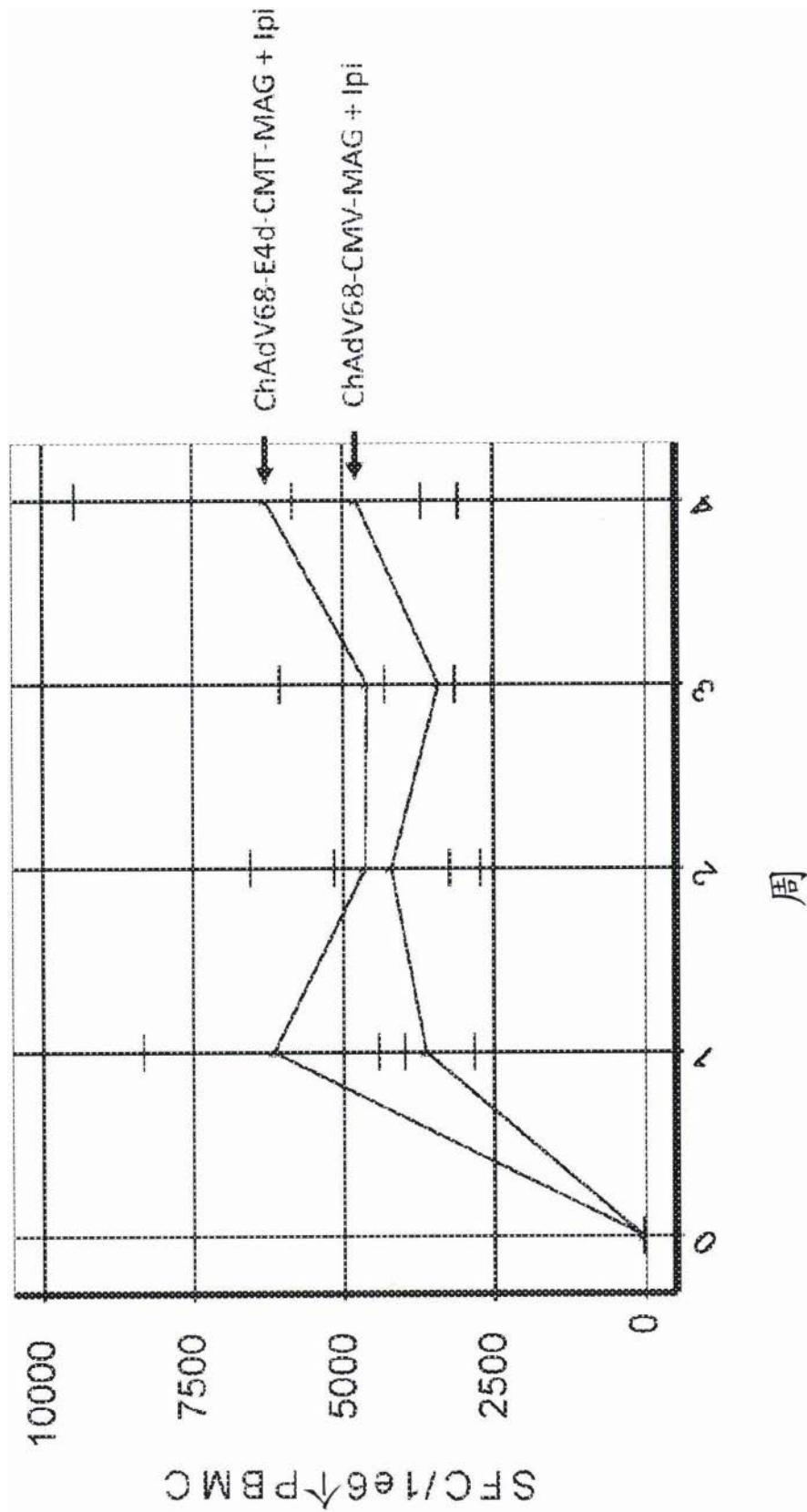


图42C

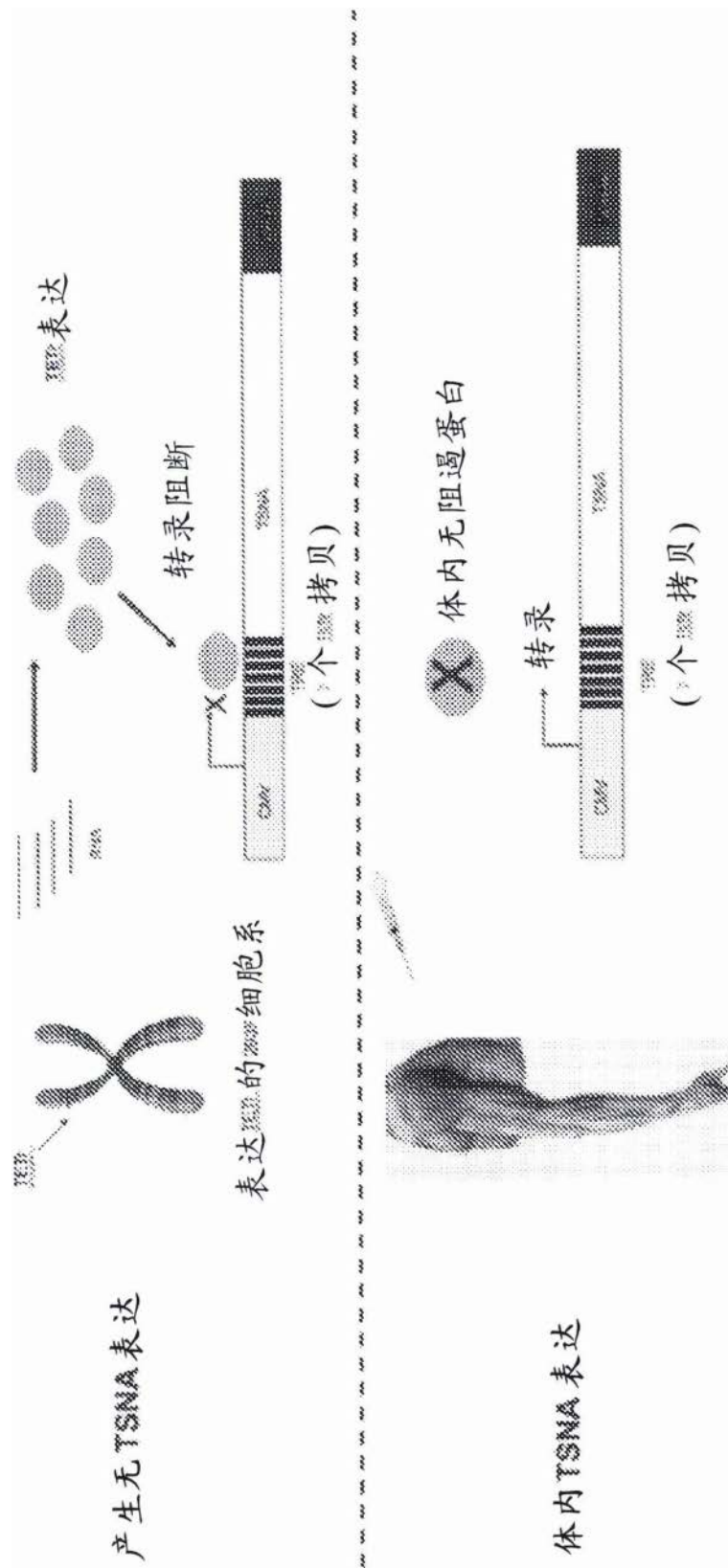


图43



图44A

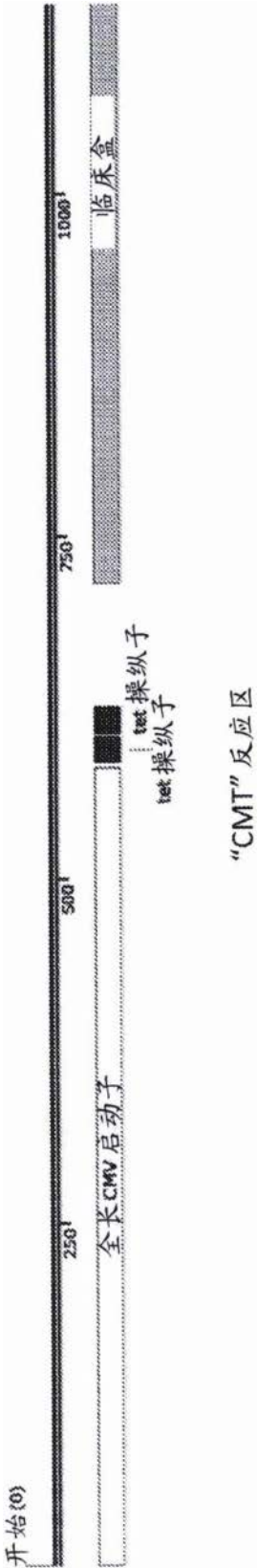


图44B

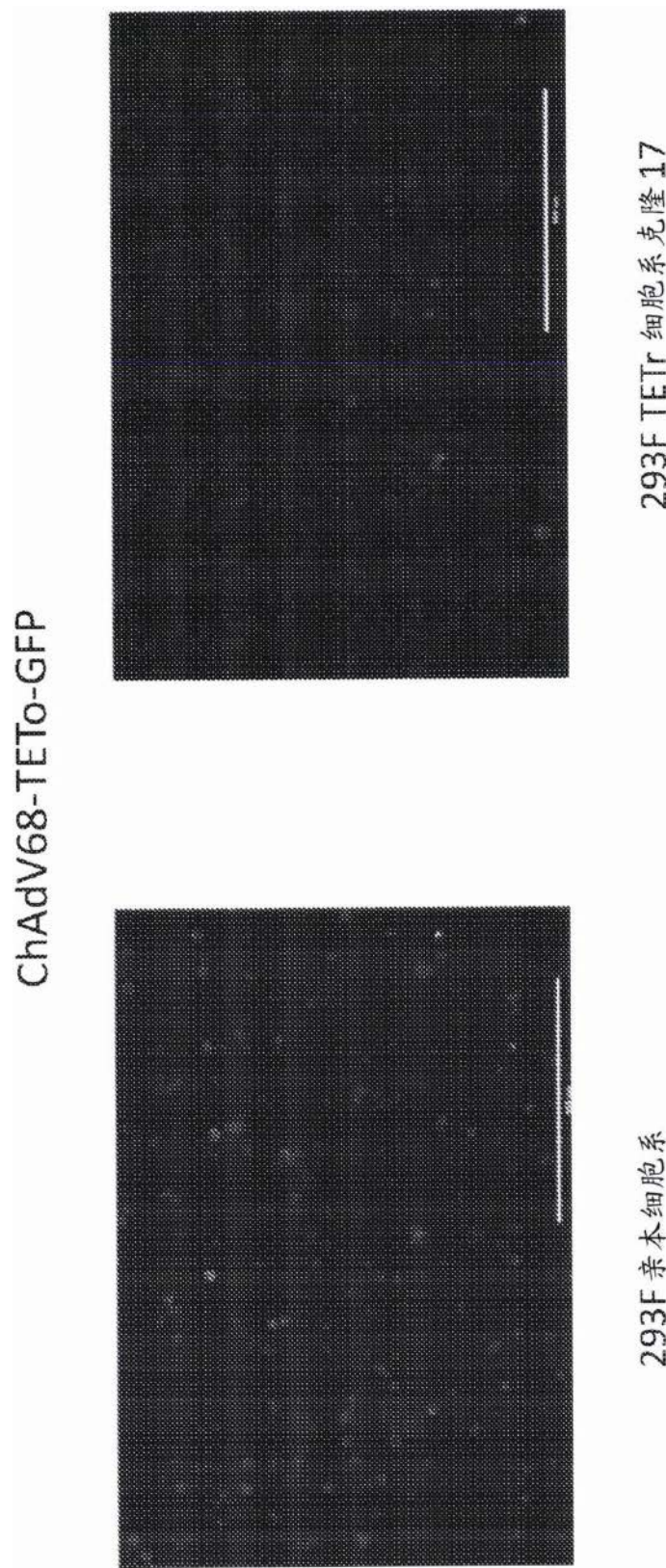


图45A

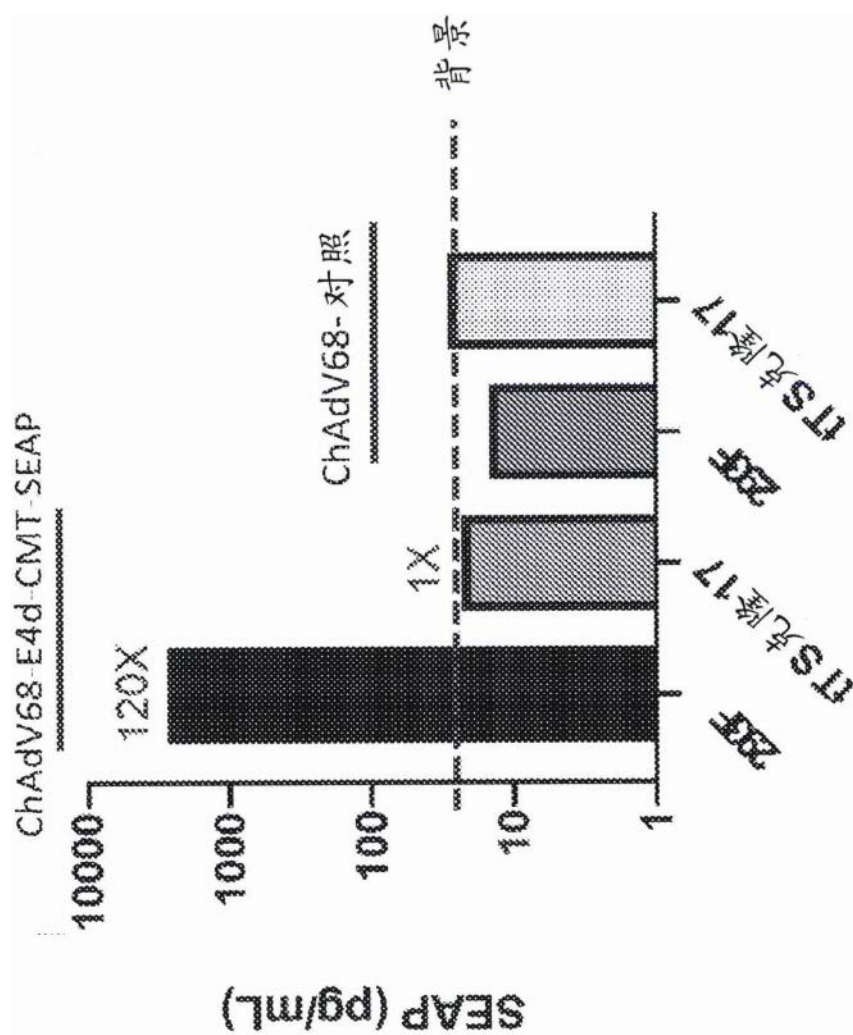


图45B

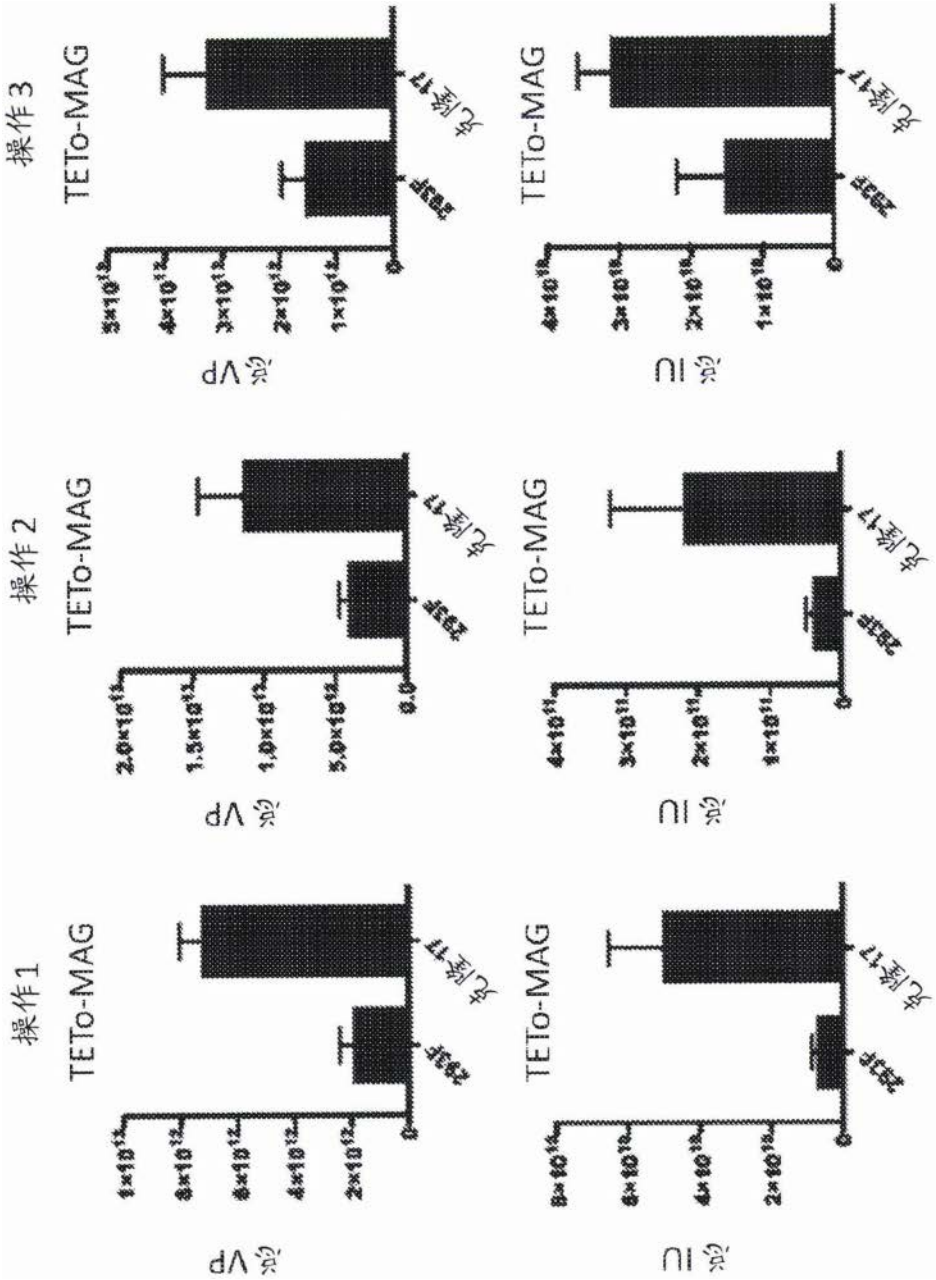


图46

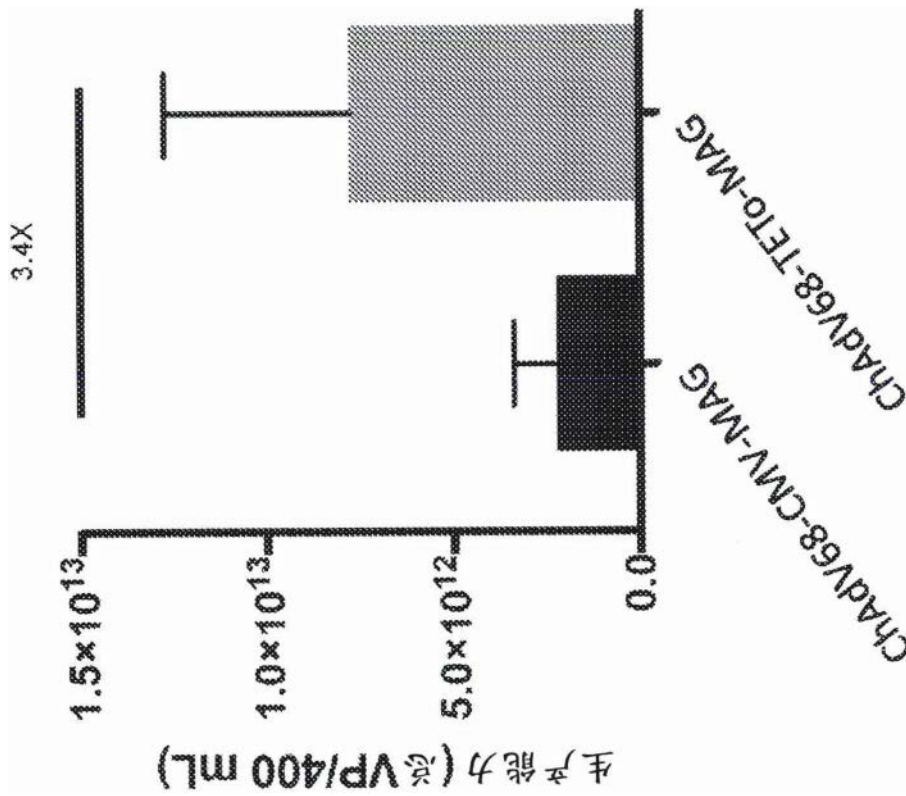


图47A

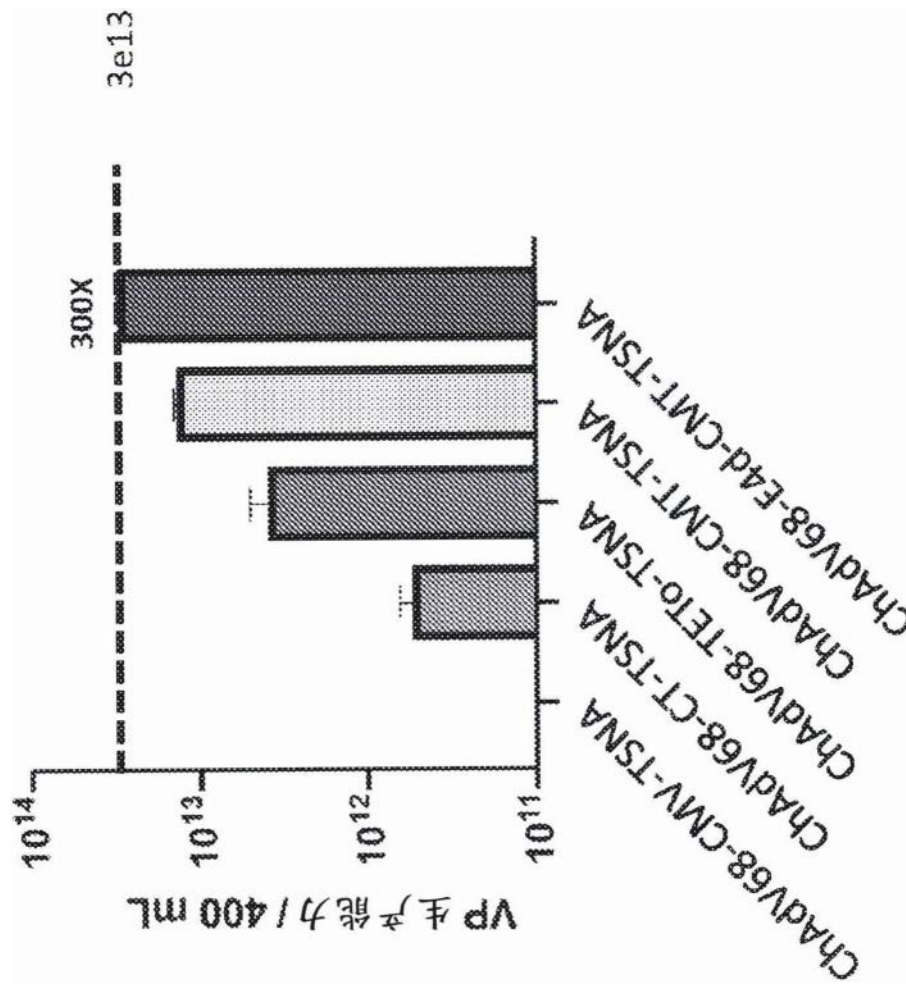


图47B

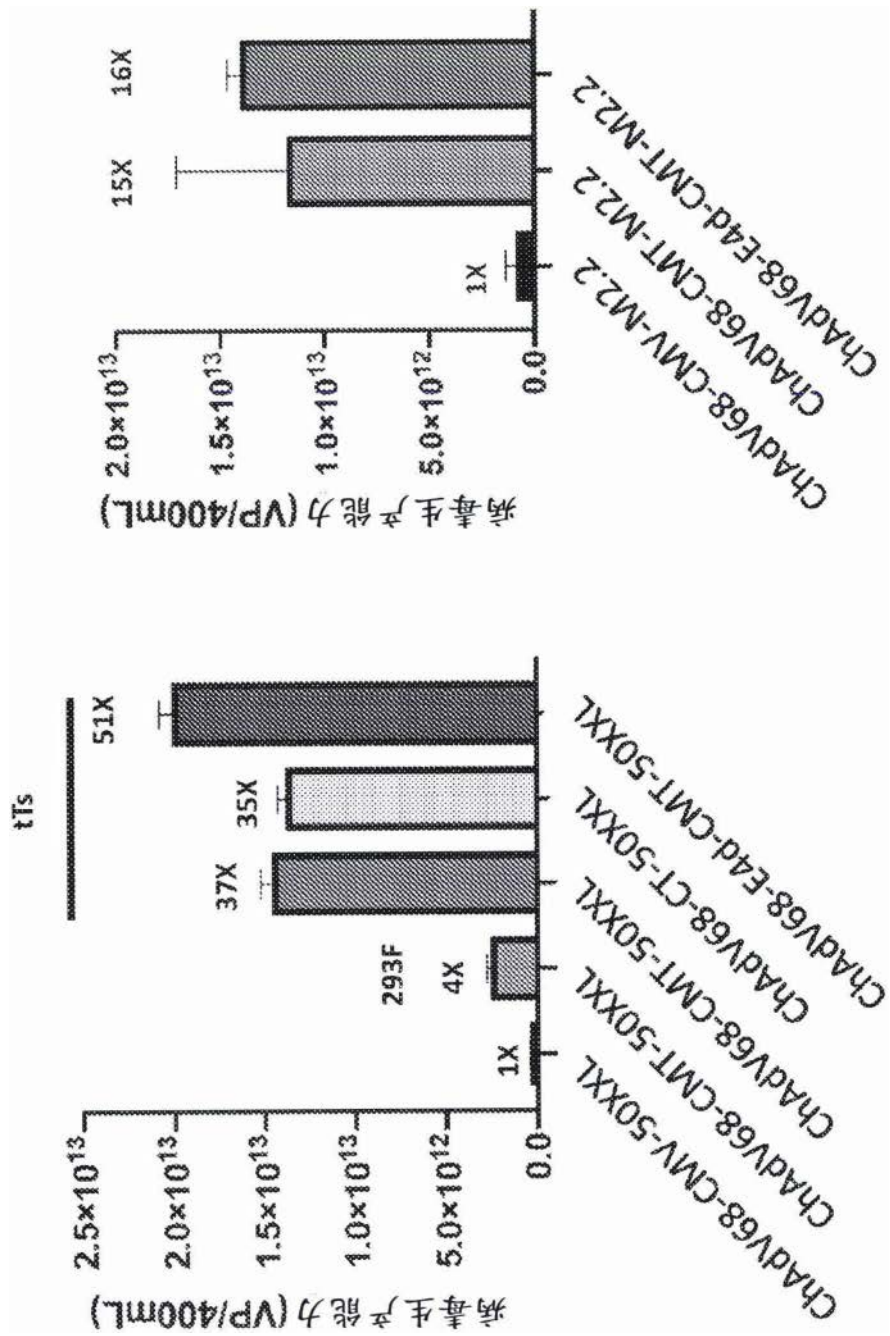


图47C

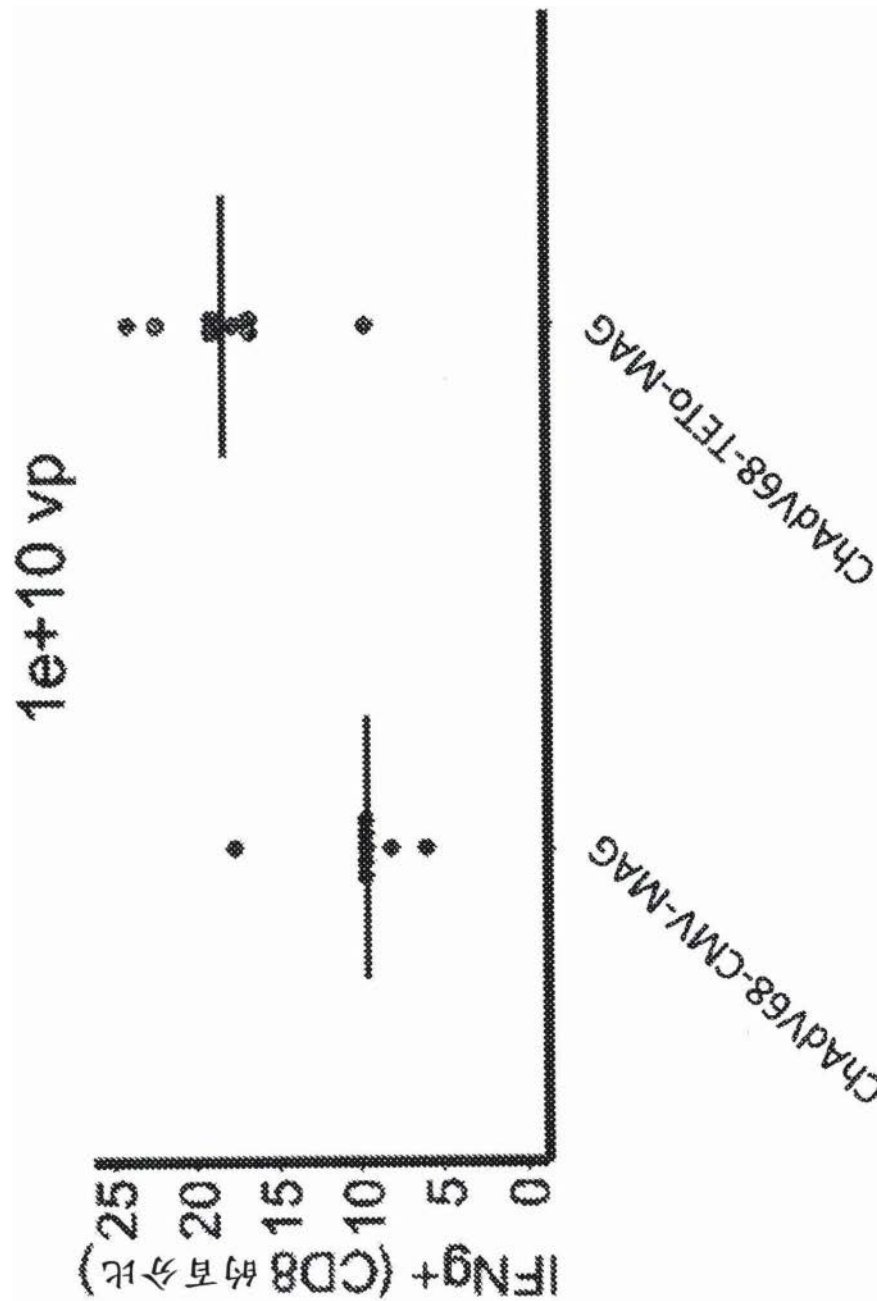


图48