



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105193** (13) **C2**
(51) МПК
C12N 15/863 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2011 07752</p> <p>(22) Дата подання заявки: 20.11.2009</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.04.2014</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/116,672</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 21.11.2008</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 25.07.2011, Бюл.№ 14</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.04.2014, Бюл.№ 8</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/EP2009/008275, 20.11.2009</p>	<p>(72) Винахідник(и): Штайгервальд Робін (DE)</p> <p>(73) Власник(и): БАВАРІАН НОРДІК А/С, Hejreskovvej 10A, DK-3490 Kvistgaard, Denmark (DK)</p> <p>(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 03097846 A, 27.11.2003. WO 9012880 A, 01.11.1990. FULLER M ET AL: "Helper plasmids for production of HIV-1-derived vectors" HUMAN GENE THERAPY, MARY ANN LIEBERT, NEW YORK ,NY, US, vol. 12, no. 17, 20 November 2001 (2001-11-20), pages 2081-2093. HRUBY D E ET AL: "Assembly and analysis of a functional vaccinia virus "amplicon" containing the C-repeat region from the M protein of Streptococcus pyogenes." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 15 APR 1991, vol. 88, no. 8, 15 April 1991 (1991-04-15) , pages 3190-3194. ZHAO SHENG ET AL: "Analysis of synonymous codon usage in 11 Human Bocavirus isolates" BIOSYSTEMS, vol. 92, no. 3, June 2008 (2008-06), pages 207-214. ANTONIS ET AL: "Vaccination with recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing bovine respiratory syncytial virus (bRSV) proteins protects calves against RSV challenge" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 25, no. 25, 30 May 2007 (2007-05-30), pages 4818-4827.</p>
---	---

(54) ВЕКТОР, ЩО МІСТИТЬ ДВІ ГОМОЛОГІЧНІ НУКЛЕОТИДНІ ПОСЛІДОВНОСТІ

(57) Реферат:

Винахід належить до векторів, що містять дві гомологічні нуклеотидні послідовності, і способів їх одержання шляхом заміщення основ у гомологічних нуклеотидних послідовностях на відмінні основи, таким чином, щоб не змінювати кодовану амінокислотну послідовність. При цьому

UA 105193 C2

знижується внутрішньомолекулярна рекомбінація між гомологічними нуклеотидними послідовностями, особливо в клітинах ссавців.

Рівень техніки винаходу

Феномен гомологічної рекомбінації нуклеїнових кислот передбачає фізичний розрив і возз'єднання різнорідних ланцюгів нуклеїнових кислот у межах гомологічних послідовностей. Рекомбінація і генна конверсія в клітинах ссавців досліджувалися багатьма групами, що спостерігали відновлення селективних генів після інфікування відповідним способом сконструйованими вірусними або плазмідними субстратами. (Chakrabarti et al., Mol. Cell. Biol. 6:2520-2526, 1986). Результати цих експериментів показують, що клітини ефективно підтримують як внутрішньо-, так і міжмолекулярну рекомбінацію і генну конверсію. (Id.) Міжмолекулярна рекомбінація стосується рекомбінації між гомологічними послідовностями, представленими в двох різних молекулах нуклеїнової кислоти, тоді як внутрішньомолекулярна рекомбінація стосується рекомбінації між гомологічними послідовностями, представленими в одній і тій же молекулі нуклеїнової кислоти.

Міжмолекулярна рекомбінація може відбуватися між генами в плазміді або вірусі і гомологічними послідовностями усередині клітини. (Miller et al., Mol. Cell. Biol. 6:2895-2902, 1986.) Цей тип рекомбінації може бути причиною утворення інфекційного вірусу з ослабленого вірусу. Fuller et al. кодон-оптимізували виділені послідовності генів HIV-1 gag і HIV-1 pol для збільшення їх експресії в клітинах ссавців. Ці оптимізації також знизили ідентичність нуклеотидів в області, що перекривається, довжиною приблизно 200 нуклеотидних пар, представленої в HIV гені gag-pol, що також привело до знижених рівнів внутрішньомолекулярної рекомбінації між відкритими рамками читування gag і pol, розташованими в двох незалежних плазмідах, і зрізаним геном gag, що міститься в рекомбінантному ретровірусному векторі. (Fuller et al., Hum. Gene Ther. 12:2081-2093, 2001.)

Внутрішньомолекулярна рекомбінація може відбуватися між векторами, у яких дупліковані області гена або генного фрагмента представлені як прямі повтори, розділені вставними послідовностями. Цей тип рекомбінації звичайно приводить до делеції вставних послідовностей і однієї копії повторюваних послідовностей. Частота внутрішньомолекулярної рекомбінації звичайно набагато вища, ніж частота міжмолекулярної рекомбінації.

Рівень внутрішньомолекулярної рекомбінації в плазмідних векторах був підрахований для клітин тварин. (Rubnitz and Subrami, Mol. Cell. Biol. 4:2253-2258, 1984.) У залежності від розміру гомологічних областей, частота міжмолекулярної рекомбінації в трансфорованій плазмідній ДНК змінюється між 0,306% і 0,002%. (Id.) Низька ефективність рекомбінації спостерігалася для гомології усього лише 14 нуклеотидних пар. (Id.)

Внутрішньомолекулярна рекомбінація між гомологічними послідовностями також підтверджена документально для багатьох тваринних вірусів, включаючи пікорнавіруси, вірус грипу, аденовіруси і поксвіруси. (Gritz et al., J. Virol. 64:5948-5957, 1990). Для вірусів вакцини було показано, що тандемно дупліковані послідовності є генетично нестабільними. (Id.) Для вірусів рівень, що спостерігається, внутрішньомолекулярної рекомбінації був набагато вищим, ніж для плазмідних векторів.

Наприклад, для ретровірусу частота рекомбінації між двома ідентичними послідовностями в одній і тій же РНК молекулі була знайдена такою, що дорівнює приблизно 62%. (Zhang et al., J. Virol. 75:6348-6358, 2001). 99% цих рекомбінацій були внутрішньомолекулярними (між двома послідовностями однієї молекули РНК), на противагу міжмолекулярної (між двома молекулами РНК). (Id.) Для аденоасоційованого вірусу внутрішньомолекулярна рекомбінація також була знайдена набагато більш ефективною в порівнянні з міжмолекулярною рекомбінацією. (Choi et al., J. Virol. 79:6801-6807, 2005). Було показано, що Herpes simplex вірус тип I також демонструє високі рівні рекомбінації. (Dutch et al., J. Virol. 66:277-285.). Для поксвірусів спостерігали високу частоту гомологічної рекомбінації. Експериментальну систему використовували для визначення рекомбінації для вірусів вакцини шляхом розташування гена тимідинкінази (tk) між двома прямими повторами 1,5 тпо ДНК (Ball, J. Virol. 61: 1788-1795, 1987.). Протягом кожного з перших восьми пасажів при неселективних умовах 40% tk+ вірусів вакцини утратили свій tk+ фенотип. (Id.) При неселективних умовах відносна кількість tk-вірусів збільшилася до 99,73% загальної популяції вірусу. (Id.) Навіть при селективних умовах рекомбінація відбувалася з такою високою частотою, що більшість інфекційних вірусних частинок, що було можливо виділити з одиничних бляшок, містили ДНК, що вже піддалася рекомбінації, з наступною втратою гена tk. (Id.) Використовуючи рекомбінантний вірус вакцини, сконструйований для експресії трьох гетерологічних генів, усі експресовані з VV p7.5-промоторів, Howley et al., Gene 172:233-237, 1996, продемонстрували рекомбінацію між повторюваними послідовностями промоторів. Рекомбінант вірусу вакцини, сконструйований як такий, що містить область С-повтору (CRR) з М-білка Streptococcus pyogenes, містить складну суміш варіантів, що містять від 1 до більше ніж 20 копій CRR. (Hruby et al., P.N.A.S. 88:3190-3194, 1991.)

Хоча і було показано, що множинні гени з гомологією приблизно 60-75%, вставлені в різні сайти інтеграції MVA, приводять до стабільного множинного рекомбінантного вірусу (WO 03/097846), в області техніки існує, однак, необхідність у композиціях і способах, що знижують рівень внутрішньомолекулярної рекомбінації у векторах, таких як, наприклад, вірусні вектори, для забезпечення одержання стабільних векторів, що містять множинні гомологічні нуклеотидні послідовності, що містять більш довгі ідентичні ділянки.

Винахід

Даний винахід стосується рекомбінантних векторів і способів їх виготовлення і застосування.

Особливо, даний винахід охоплює вектор, що містить дві нуклеотидні послідовності розміром 300 нуклеотидів, кожна з яких кодує 100 амінокислот, де 100 амінокислот, кодовані кожною з двох нуклеотидних послідовностей, мають щонайменше 75% ідентичних амінокислот, і де одна з двох нуклеотидних послідовностей має щонайменше 75 відмінних від іншої нуклеотидної послідовності нуклеотидів, де відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні амінокислоти, кодовані названими двома нуклеотидними послідовностями.

Разюче, як було показано відповідно до даного винаходу, ризик міжмолекулярної рекомбінації може бути не тільки значно знижений, але і навіть його можна уникнути шляхом систематичного заміщення однозначних кодонів у щонайменше двох схожих або ідентичних нуклеотидних послідовностях усередині однієї молекули нуклеїнової кислоти, такої, наприклад, як вектор, таким чином, приводячи до створення стабільних векторів, що містять щонайменше дві або більше схожих або ідентичних нуклеотидних послідовностей. Проте, стратегія, використовувана в даному винаході, є також застосовною для векторів, що містять три або більше схожих нуклеотидних послідовностей.

Результати, одержані в даному винаході, показують, що є можливим замінити велику кількість нуклеотидів у нуклеотидній послідовності для зниження внутрішньомолекулярної рекомбінації у векторі, тоді як, зненацька, експресія кодованого білка в той же час усе ще зберігається. При уведенні великої кількості нуклеотидних варіантів у довгі ділянки нуклеотидних послідовностей, як було зроблено за даним винаходом, кваліфікований фахівець може очікувати, що експресія зазначеної послідовності або гена більше не буде правильно працювати, тобто не очікувалося, що змінена нуклеотидна послідовність буде залишатися придатною для ефективної експресії. Використовувана тут стратегія придатна не тільки для коротких ділянок нуклеотидних послідовностей довжиною 300 нуклеотидів, але також і для набагато більш довгих ділянок, наприклад, повнорозмірних генів, що, звичайно, містять ділянки довжиною 300 нуклеотидів як заявлено. Результати є застосовними для множини різних генів, векторів і вірусів і є вкрай корисними для розробки вакцин, як, наприклад, розробка мультівалентних вакцин, але також можуть бути корисними для інших технологій, як, наприклад, експресія білків або для одержання рекомбінантних клітинних ліній.

В інших варіантах здійснення винахід також охоплює способи одержання вірусів і векторів, і способи для зниження внутрішньомолекулярної рекомбінації.

Винахід охоплює спосіб одержання вектора, як описано вище, і названий спосіб включає стадії а) одержання першої нуклеотидної послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодує 100 амінокислот, і б) одержання другої нуклеотидної послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодує 100 амінокислот, де 100 амінокислот, кодовані кожною з двох нуклеотидних послідовностей, мають щонайменше 75% амінокислотної ідентичності і де одна з двох нуклеотидних послідовностей має щонайменше 75 нуклеотидів, що відрізняються від іншої нуклеотидної послідовності, де відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні амінокислоти, кодовані названими двома нуклеотидними послідовностями; і в) інтеграції двох відмінних нуклеотидних послідовностей у вектор.

В особливо переважному варіанті здійснення, винахід охоплює спосіб для зниження внутрішньомолекулярної рекомбінації у векторі, що містить дві нуклеотидні послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодує кожна 100 амінокислот, де 100 амінокислот, кодовані кожною з двох нуклеотидних послідовностей мають щонайменше 75% амінокислотної ідентичності, названий спосіб, що включає заміну нуклеотидів в одній або обох нуклеотидній(-их) послідовності(-ях) для одержання двох відмінних послідовностей, що мають відмінність щонайменше у 75 нуклеотидів, де відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні амінокислоти, кодовані названими двома нуклеотидними послідовностями.

При використанні вірусних векторів, спосіб знижує рівень внутрішньомолекулярної рекомбінації протягом кожного покоління вірусного поширення. Переважно, гомологічні нуклеотидні послідовності рекомбінують менше ніж у 20, 15, 10, 5, 3, 2, 1, 0,5, 0,1, 0,05 або 0,01% вірусного потомства на покоління.

В іншому переважному варіанті здійснення, винахід охоплює спосіб одержання вірусу, переважно, поксвірусу, що містить дві гомологічні нуклеотидні послідовності, де зазначений спосіб включає стадії а) одержання вірусу, що містить нуклеотидну послідовність довжиною 300 нуклеотидів, що кодує 100 амінокислот, і б) інтеграції другої нуклеотидної послідовності

довжиною 300 нуклеотидів, що кодує 100 амінокислот, у вірус; де 100 амінокислот, кодовані кожною з двох нуклеотидних послідовностей, мають щонайменше 75% амінокислотної ідентичності, і де одна з двох нуклеотидних послідовностей має щонайменше 75 нуклеотидів, що відрізняються від іншої нуклеотидної послідовності, де відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні амінокислоти, кодовані названими двома нуклеотидними послідовностями.

Як використовується тут, «вектор» може бути будь-яким засобом, здатним доставляти і експресувати молекули нуклеїнової кислоти в хазяїна або об'єкт. Так, вектор може бути ПЛР-продуктом або будь-яким фрагментом нуклеїнової кислоти, введеним у клітину і/або інтегрованим у клітинний геном; або репліконом, таким як плазміда, фаг або косміда, у який може бути вставлений інший фрагмент ДНК, таким чином, щоб здійснювати реплікацію уставленого фрагмента. У загальному випадку, вектор може реплікуватися, коли він асоційований із придатними контрольними елементами. Придатні векторні основи для використання за даним винаходом включають, наприклад, використовувані повсюдно в галузі техніки, такі як плазмиди, віруси, штучні хромосоми, ВАС, YAC або PAC, або навіть рекомбінантні клітини, такі як бактерії або еукаріотичні клітини. Термін «вектор» включає вектори для клонування й експресії, також як і вірусні вектори й інтегруючі вектори. «Експресійний вектор» є вектором, що містить регуляторну область. Придатні експресійні вектори для використання в даному винаході включають, без обмеження, плазмиди і вірусні вектори, одержані з, наприклад, рослинних вірусів, бактеріофагів, бакуловірусів, вірусу тютюнової мозаїки, ретровірусів і поксвірусів. Придатні невірусні вектори включають плазмиди, такі як pREP4, pCEP4 (Invitrogen), pCI (Promega), pCDM8 (Seed, 1987, Nature 329, 840), pVAX і pgWiz (Gene Therapy System Inc; Himoudi et al, 2002, J. Virol. 76, 12735-12746). Численні вектори і експресійні системи є комерційно доступними в різних корпораціях, таких як Novagen (Madison, Wis.), Clontech (Palo Alto, Calif.), Stratagene (La Jolla, Calif.) і Invitrogen/Life Technologies (Carlsbad, Calif.).

При розробці вакцин рекомбінантний вірус може бути використаний як вектор-переносник або вектор вакцини для доставки генетичного матеріалу в клітину. Опинившись у клітині, генетична інформація транскрибується і транслюється в білки, включаючи інтегрований антиген, спрямований проти визначеного захворювання. Лікування є успішним, якщо антиген, доставлений вектором у клітину, індукує імунну відповідь організму проти антигену, що захищає від захворювання.

У переважному варіанті здійснення даного винаходу, вектор є плазмідною або вірусним вектором.

Вірусний вектор може бути оснований на ослабленому вірусі, що не може реплікуватися в клітині-хазяїні, але здатний індукувати і експресувати чужорідний ген в інфікованій клітині. Вірус або рекомбінантний вірус є, таким чином, здатним продукувати білок і презентувати його імунній системі хазяїна. Деякі основні характеристики вірусних векторів такі, що вони можуть викликати гуморальну (В-клітинну) і/або клітинно-опосередковану (Т-клітинну) імунну відповідь.

Вірусні вектори можуть бути одержані з множини різних вірусів. В одному варіанті здійснення, вірус є вірусом тварин. Вектор може бути одержаний спеціально з вірусу, вибраного з групи вірусів, що складається з ретровірусу, пікорнавірусу, вірусу грипу, аденовірусу, аденоасоційованого вірусу (AAV), поксвірусу, вірусу герпесу (наприклад, HSV-1), вірусу кору і губчатого вірусу.

Вірусні вектори часто використовуються дослідниками для розробки вакцин для запобігання і лікування інфекційних захворювань і раку. З цих, поксвіруси (включаючи чуму канарок, коров'ячу віспу і віспу птахів) належать до групи найбільш розповсюджених кандидатів для векторних вакцин. Поксвіруси є переважним вибором для перенесення генетичного матеріалу в нових хазяїнів через них щодо великої ємності для вставки послідовностей у вірусний геном і через їх здатність реплікувати їх геном і проводити транскрипцію в цитоплазмі інфікованої клітини замість ядра, у такий спосіб мінімізуючи ризик інсерційного мутагенезу шляхом інтегрування генетичного матеріалу в геном клітини-хазяїна, як відбувається для інших векторів, наприклад, ретровірусних векторів. Віріони поксвірусів є більш великими в порівнянні з більшістю інших вірусів тварин (більш детально див. Fields et al., eds., Virology, 3rd Edition, Volume 2, Chapter 83, pages 2637 ff).

У переважному варіанті здійснення винаходу, вірусний вектор одержаний з поксвірусу (див., наприклад, Cox et al. in "Viruses in Human Gene Therapy" Ed J. M. Hos, Carolina Academic Press).

Він може бути одержаний з будь-якого члена *poxviridae* і може бути, зокрема, авіпоксвірусом або ортопоксвірусом.

Приклади авіпоксвірусів, що придатні для використання в даному винаході, включають будь-який авіпоксвірус, такий як *Fowlpoxvirus*, *Canarypoxvirus*, *Uncorpoxvirus*, *Mynahpoxvirus*, *Pigeonpoxvirus*, *Psittacinepoxvirus*, *Quailpoxvirus*, *Peacockpoxvirus*, *Penguinpoxvirus*, *Sparrowpoxvirus*, *Starlingpoxvirus* і *Turkeypoxvirus*. Переважними авіпоксвірусами є *Canarypoxvirus* і *Fowlpoxvirus*.

Авіпоксвіруси є в природі обмеженими по хазяїну і продуктивно реплікуються тільки в пташиних видах і клітинах (Taylor et al., Biological and immunogenic properties of a canarypox-rabies recombinant, ALVAC-RG (vCP65) in non-avian species, Vaccine 13: 539-549, 1995). Якщо людські клітини інфіковані авіпоксвірусами, гетерологічні гени експресуються з вірусного геному. Однак авіпоксвірус не цілком реплікується в людських клітинах і, таким чином, немає ризику, що людській істоті буде нанесена шкода продуктивною вірусною реплікацією. Різні рекомбінантні авіпоксвіруси були сконструйовані таким чином, щоб експресувати так звані продукти лентивірусних генів (US 5766598), цитокини і/або рак-асоційовані антигени (US 5833975) або G-глікопротеїн сказу (Taylor et al., Biological and immunogenic properties of a canarypox-rabies recombinant, ALVAC-RG (vCP65) in non-avian species, Vaccine 13: 539-549, 1995). Рекомбінантний *canarypox* вірус, експресуючий чотири HIV гени *gag*, *pol*, *env* і *nef*, був уже використаний у клінічних дослідженнях (Peters, B. S., The basis for HIV immunotherapeutic vaccines, Vaccine 20: 688-705, 2001).

Оскільки авіпоксвіруси продуктивно реплікуються тільки в пташиних клітинах, ці клітини повинні бути використані для ампліфікації вірусу і для одержання рекомбінантних вірусів.

Прикладом *canarypox* вірусу є штам Rentschler. Очищений на бляшках *Canarypox* штам, названий ALVAC (US 5766598), був поміщений відповідно до умов Будапештського договору в American Type Culture Collection (ATCC), номер доступу VR-2547. Інший штам *Canarypox* є комерційним *canarypox* вакцинним штамом, позначеним LF2 CEP 524 24 10 75, що є в наявності в Institute Merieux, Inc.

Прикладами *Fowlpox* вірусу є штами FP-1, FP-5 і TROVAC (US 5766598). FP-1 є Duvette штамом, модифікованим для використання як вакцини для курчат віком один день. Штам є комерційним вакцинним штамом *fowlpox* вірусу, позначеним 0 DCEP 25/CEP67/2309 October 1980 і наявним у наявності в Institute Merieux, Inc. FP-5 є комерційним вакцинним штамом *fowlpox* вірусу, виділеним з ембріонів курчат, що є в наявності в American Scientific Laboratories (Division of Schering Corp.) Madison, Wisconsin, United States Veterinary License No. 165, serial No. 30321.

З поксвірусів виду *vaccinia* (коров'яча віспа) і *variola* (натуральна віспа) є найбільш відомими. Вірус *variola* є причиною натуральної віспи. На відміну від вірусу *variola*, вірус *vaccinia* звичайно не викликає системного захворювання в імунокомпетентних індивідуумів і, таким чином, використовувався як жива вакцина для імунізації проти натуральної віспи. Успішна по усьому світі вакцинація вірусом *vaccinia* привела в 1980х до ерадикації натуральної віспи як природного захворювання (The global eradication of smallpox. Final report of the global commission for the certification of smallpox eradication; History of Public Health, No. 4, Geneva: World Health Organization, 1980). З цього часу вакцинація була припинена на багато років, за винятком людей, що мають високий ризик поксвірусної інфекції (наприклад, працівників лабораторій). Однак, зростає побоювання, що, наприклад, *variola*, що викликає натуральну віспу, може бути використана як зброя біотероризму. Більше того, існує ризик, що інші поксвіруси, такі як коров'яча віспа, верблюжа віспа і мавп'яча віспа, можуть потенційно мутувати, за допомогою механізмів селекції, і набути подібні з *variola* фенотипи. Таким чином, деякі уряди накопичують запаси *vaccinia*-основаних вакцин для використання як перед впливом (перед зустріччю з вірусом *variola*), так і після впливу (після зустрічі з вірусом *variola*) передбачуваної або актуальної атаки натуральної віспи.

У детальному переважному варіанті здійснення винаходу вектор є вектором на основі *vaccinia* вірусу (вірусу коров'ячої віспи).

Вірус *vaccinia* (вірус коров'ячої віспи) є надзвичайно імуностимулюючим і викликає сильний В- (гуморальний) і Т-опосередкований (клітинний) імунітет як до його власних генних продуктів, так і до множині продуктів чужорідних генів, експресованих з генів, інтегрованих у *vaccinia* геном. Вірус *vaccinia* представляється, таким чином, ідеальним вектором для вакцин проти натуральної віспи й інших інфекційних захворювань і раку у формі рекомбінантних вакцин. Багато які з рекомбінантних вірусів коров'ячої віспи, описаних у літературі, основані на цілком компетентному в реплікації штамі *vaccinia* вірусу Western Reserve. Однак, відомо, що цей штам

має надзвичайну нейровірулентність і є, таким чином, погано придатний для застосування в людей і тварин (Morita et al. 1987, Vaccine 5, 65-70).

Придатний вірус vaccinia (вірус коров'ячої віспи) може бути вибраний із групи, що складається зі штаму Copenhagen (Goebel et al., 1990, Virol. 179, 247-266 and 517-563; Johnson et al., 1993, Virol. 196, 381-401), штаму Wyeth, NYVAC (див. WO92/15672 і Tartaglia et al., 1992, Virology 188, 217-232) і сильно ослабленого модифікованого Ankara (MVA) штаму (Mayr et al., 1975, Infection 3, 6-16).

Переважаючим прикладом придатного вірусу vaccinia є сильно ослаблений штам вірусу vaccinia NYVAC, що одержаний із клонованого на бляшках ізоляту вакцинного штаму Copenhagen шляхом делеції 18 відкритих рамок зчитування (ORF) з вірусного геному (Tartaglia et al., NYVAC: A highly attenuated strain of vaccinia virus, Virology 188, 217-232, 1992). NYVAC характеризується істотно зниженою здатністю до реплікації в різних клітинах культури тканин людини, але здатністю, що залишається, до індукування сильних імунних відповідей на сторонні антигени.

Усі вищеописані віруси є однаково придатними для використання в даному винаході.

У найбільш переважному варіанті здійснення винаходу вірус є модифікованим вірусом коров'ячої віспи Ankara (MVA), що відомий як винятково безпечний при вакцинації.

Модифікований вірус коров'ячої віспи Ankara (MVA) належить до вірусу Vaccinia, члену роду Orthopoxvirus у сімействі Poxviridae. MVA був одержаний у 516 послідовних пасажах на фібробластах ембріона курчати дермального vaccinia штаму Ankara (Chorioallantois vaccinia virus Ankara, CVA) (для огляду див. Mayr, A., et al., Passage History: Abstammung, Eigenschaften und Verwendung des attenuierten Vaccinia-Stammes MVA, Infection 3, 6-14, 1975). Унаслідок цих довгострокових пасажів результуючий вірус MVA утратив приблизно 31 кілобаз своєї геномної послідовності і, таким чином, був описаний як сильно обмежений по хазяїну до пташиних клітин (Meyer, H. et al., Mapping of deletions in the genome of the highly attenuated vaccinia virus MVA and their influence on virulence, J. Gen. Virol. 72, 1031-1038, 1991; (Meisinger-Henschel et al., Genomic sequence of chorioallantois vaccinia virus Ankara, the ancestor of modified vaccinia virus Ankara, J. Gen. Virol. 88, 3249-3259, 2007). Було показано на множині тваринних моделей, що результуючий MVA є вірогідно авірулентним (Mayr, A. & Danner, K. Vaccination against pox diseases under immunosuppressive conditions, Dev. Biol. Stand. 41: 225-34, 1978). Додатково, цей штам MVA був протестований у клінічних дослідженнях як вакцина для імунізації проти натуральної віспи людини (Mayr et al., Zbl. Bakt. Hyg. I, Abt. Org. B 167, 375-390 [1987], Stickl et al., MVA vaccination against smallpox: clinical tests with an attenuated live vaccinia virus strain (MVA) (author's transl), Dtsch. med. Wschr. 99, 2386-2392, 1974). У цих дослідженнях брали участь більше 120000 чоловік, включаючи пацієнтів з високим ризиком, і було доведено, що в порівнянні з вакцинами на основі Vaccinia MVA має зменшену вірулентність або інфективність, тоді як зберігає гарну імуногенність.

Винахід охоплює рекомбінантні MVA віруси, одержані з будь-яким і всіма MVA вірусами. Прикладом MVA штаму є депозит VR-1508, розміщений у American Type Culture collection (ATCC), Manassas, VA 20108, USA. В іншому варіанті здійснення штам MVA-Vero або його похідний може бути використаний відповідно до даного винаходу. Штам MVA-Vero був поміщений у Європейську Колекцію Тваринних Клітинних Культур під номером доступу ECACC V99101431 і ECACC 01021411. Додатковими прикладами для MVA вірусних штамів, використовуваних у даному винаході, є штами MVA 572 і 575, поміщені в Європейську Колекцію Тваринних Клітинних Культур (ECACC) під номерами доступу ECACC V94012707 і ECACC V00120707, відповідно. Особливо переважні MVA віруси є MVA варіантними штамми MVA-BN®, як, наприклад, поміщений у ECACC під номером V00083008, і похідні, що мають ті ж властивості, що MVA-BN®.

MVA-BN® є вірусом, використовуваним у виробництві відособленої протівіспової вакцини третього покоління. MVA-BN® був розроблений для додаткових пасажів MVA штам 571/572. В даний час, більше ніж 1500 суб'єктів, включаючи суб'єкти з atopічним дерматитом (AD) і ВІЛ-інфекцією, були вакциновані в клінічних дослідженнях вакциною на основі MVA-BN®.

Похідні, що мають ті ж властивості, що і поміщений у колекцію штам MVA-BN®, мають здатність репродуктивної реплікації in vitro у фібробластах ембріона курчати (CEF), але не здатність репродуктивної реплікації в людських клітинах, у яких MVA 575 або MVA 572 можуть репродуктивно реплікуватися. Найбільш переважно, MVA не має здатності репродуктивної реплікації в клітинній лінії кератиноцитів людини HaCaT, лінії клітин нирки ембріона людини 293, клітинної лінії людської остеосаркоми кістки 143B і клітинної лінії людської цервікальної аденосаркоми HeLa.

Термін «не здатний до репродуктивної реплікації» використаний у даній заявці як визначено в WO 02/42480 і патенті США № 6761893, відповідно. Так, зазначений термін застосовується до вірусу, що має коефіцієнт вірусної ампліфікації на 4 день після інфікування менше ніж 1, використовуючи аналіз, описаний у патенті США № 6761893, що включений тут за допомогою

посилання. «Коефіцієнт ампліфікації» вірусу є відношенням кількості вірусу, продукovanого інфікованою клітиною (Вихід), до кількості спочатку використовуваної для інфікування клітин спочатку (Уведення). Співвідношення «1» між Виходом і Введенням визначає статус ампліфікації, де кількість вірусу, продукovanого інфікованою кліткою, є тою ж самою, що і кількість, спочатку використовувана для інфікування клітин.

У найбільш переважному варіанті здійснення штам MVA, використовуваний у даному винаході, є MVA-BN® або його похідним, як описано вище. Особливості MVA-BN®, опис біологічних підходів, що дозволяють визначити, або є MVA штам MVA-BN® або його похідним, і способи, що дозволяють одержати MVA-BN® або MVA, що має властивості MVA-BN®, розкриті в WO 02/42480. Зміст цих заявок включений в дану заявку за допомогою посилання. Високо ослаблений MVA-BN® вірус може бути одержаний, наприклад, шляхом додаткового пасування модифікованого вірусу коров'ячої віспи Ankara (MVA), такої як MVA-572 або MVA-575, і, при бажанні, очищенням на клонах або бляшках. MVA-BN® не має приблизно 13% (26,5 тпо із шести великих і множинних дрібних сайтів делецій) геному в порівнянні з родовим CVA вірусом. Делеції стосуються деякої кількості генів вірулентності і множини хазяїнів, також як і великий фрагмент гена, що кодує А-тип білка включення (АТІ), і гена, що кодує структурний білок, що спрямовує зрілі вірусні частинки в тільця включення А-типу.

Особливо, зроблене посилання на визначення властивостей MVA за винаходом як описано у WO 02/42480, таких як властивості MVA-BN® і властивості MVA-BN® і визначення похідних MVA-BN®. Зазначене посилання також розкриває, як MVA і інші віруси коров'ячої віспи можуть бути розмножені. Коротко, еукаріотичні клітини інфікуються вірусом. Еукаріотичні клітини є клітинами, що піддані інфікуванню відповідним поксвірусом і дозволяють реплікацію і продукцію інфекційного вірусу. Для MVA прикладом такого типу клітин є фібробласти ембріона курчати (CEF) і BHK клітини (Drexler et al., Highly attenuated modified vaccinia Ankara replicates in baby hamster kidney cells, a potential host for virus propagation, but not in various human transformed and primary cells, J. Gen. Virol. 79, 347-352, 1998). CEF клітини можна культивувати при умовах, відомих фахівцю в галузі техніки. Переважно, CEF клітини культивують у безсироватковому середовищі в стаціонарних флаконах або ролерних флаконах. Інкубацію, переважно, продовжують 48-96 годин при 37°C. Для інфікування MVA, переважно, використовується при множинності зараження (MOI) 0,05-1 TCID₅₀, і інкубація продовжується переважно 48-72 години при 37°C.

Вірус, при використанні за даним винаходом, може бути розмножений на різних клітинних культурах, особливо на культурах клітин тварин. Вірусу дозволяють інфікувати чутливі клітинні культури і репродуктивно реплікуватися. Вірусне потомство збирають із застосуванням звичайних в галузі техніки методик.

Наприклад, для MVA вірусів і інших вірусів коров'ячої віспи, фібробласти ембріона курчати (CEF) у середовищі з сироваткою або в безсироватковому середовищі можуть бути інфіковані вірусами. Після того, як вірусу дозволили репродуктивно реплікуватися, збирають вірусне потомство.

Даний винахід також стосується рекомбінантних поксвірусів, переважно, вірусу коров'ячої віспи, особливо MVA, що допускає експресію двох або більше гомологічних нуклеотидних послідовностей, зокрема, кодуючих послідовностей. Вірус може містити дві, три, чотири або більше гомологічних нуклеотидних кодуючих послідовностей.

Вектор за даним винаходом містить дві нуклеотидні послідовності розміром 300 нуклеотидів. У переважному варіанті здійснення вектор містить три, чотири, п'ять, шість і більше нуклеотидних послідовностей, що, звичайно, включають також дві заявлені нуклеотидні послідовності. 300 нуклеотидів можуть, звичайно, бути також частиною більш довгої нуклеотидної послідовності.

Крім того, у різних варіантах здійснення дві або більше нуклеотидних послідовностей мають розмір 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500 або 3000 або навіть більше нуклеотидів, всі з яких можуть бути частиною більш довгої нуклеотидної послідовності і які, звичайно, включають 300 нуклеотидів, як заявлено.

Як використовується тут, терміни «полінуклеотид», «нуклеотидна послідовність», «нуклеїнова кислота», «молекула нуклеїнової кислоти» використовуються взаємозамінно і визначають полімер або полідезоксирибонуклеотидних (ДНК), або полірибонуклеотидних (РНК)

або молекул будь-якої їх комбінації. Визначення включає одно- і дволанцюжкові, лінійні або кільцеві, що зустрічаються в природі або синтетичні полінуклеотиди.

Нуклеотидна послідовність за даним винаходом може бути кодуною послідовністю, і може містити повні гени, відповідно. Термін «кодуна послідовність», як використовується тут, стосується нуклеотидної послідовності, що кодує визначену амінокислотну послідовність. Послідовності некодуючих генів, включають інтрони і контрольні області, такі як промотори, оператори і термінатори.

Нуклеотидні послідовності також можуть містити фрагменти генів. Нуклеотидні послідовності можуть містити синтетичні послідовності, такі як нуклеотидні послідовності, що кодують амінокислотні лінкерні послідовності або епітопи. Нуклеотидні послідовності можуть складатися із суміші генів, фрагментів генів і синтетичних послідовностей. Нуклеотидні послідовності можуть також містити аналоги, такі як нуклеотидні аналоги, аналоги фосфатних ефірів і/або аналоги пентозного цукру. Також у визначення нуклеотидних аналогів включені нуклеотиди, у яких фосфатний ефір і/або цукрово-фосфатні ефірні зв'язки заміщені іншими типами зв'язків, такими як N-(2-аміноетил)-гліцин амід і інші амід (див., наприклад, Nielsen et al., 1991, Science 254: 1497-1500; WO 92/20702; патент США № 5719262; патент США № 5698685;); морфоліни (див., наприклад, патент США № 5698685; патент США № 5378841; патент США № 5185144); карбамати (див., наприклад, Stirchak & Summerton, 1987, J. Org. Chem. 52: 4202); метилен(метиліміно) (див., наприклад, Vasseur et al., 1992, J. Am. Chem. Soc. 114: 4006); 3'-тіоформацетали (див., наприклад, Jones et al., 1993, J. Org. Chem. 58: 2983); сульфамати (див., наприклад, патент США № 5470967); 2-аміноетилгліцин, згадуваний часто як PNA, (див., наприклад, Buchardt, WO 92/20702; Nielsen (1991) Science 254:1497-1500); і інші (див., наприклад, патент США № 581,781; Frier & Altman, 1997, Nucl. Acids Res. 25:4429 і посилання, процитовані в них). Аналоги фосфатних ефірів включають, але не обмежуються, (i) C₁-C₄ алкілфосфонат, наприклад, метилфосфонат; (ii) фосфорамідат; (iii) C₁-C₆ алкілфосфотриєфір; (iv) фосфоротіоат; і (v) фосфородитіоат.

Додаткові модифікації включають хімічні модифікації (наприклад, див. WO 92/03568; US 5118672) у мету збільшення *in vivo* стабільності нуклеїнової кислоти, посилення її доставки, або зниження рівня очищення від об'єктів хазяїна.

Більше того, в одному варіанті здійснення нуклеотидна послідовність може містити гібридні гени, штучні гени і поліепітопи.

Гібридний ген, як позначається тут, є гібридним геном, сформованим із двох раніше самостійних генів, генних фрагментів або штучної ДНК або епітопів. Він може виникнути в результаті транслокації, інтерстиціальної делеції або інверсії.

Гібридний ген може бути сконструйований шляхом сполучення щонайменше двох ДНК фрагментів, де ДНК фрагменти кодують ідентичні або різні амінокислотні послідовності.

Гібридні білки можуть полегшувати експресію і/або очищення білків. Наприклад, поліпептид за винаходом може бути одержаний як глутатіон-S-трансфераза (GST) гібридний білок. Такі GST гібридні білки можуть бути використані для полегшення очищення поліпептиду за винаходом, а саме шляхом використання глутатіон-похідних матриксів (див., наприклад, Current Protocols in Molecular Biology, eds. Ausubel et al., (N.Y.: John Wiley & Sons, 1991)). В іншому варіанті здійснення, гібридний ген, що кодує лідерну послідовність для очищення, таку як полі-(His)/сайт розщеплення ентерокиназої на N-кінці бажаної частини рекомбінантного білка, може уможливити очищення проекекспресованого гібридного білка способом афінної хроматографії з використанням Ni²⁺ металевої смоли. Лідерна послідовність для очищення може бути вилучена при обробці ентерокиназою для одержання очищеного білка (наприклад, див. Hochuli et al., (1987) J. Chromatography 411: 177; and Janknecht et al., PNAS USA 88:8972). Додаткові гетерологічні послідовності, що кодують поліпептид, що дозволяє детекцію, ізоляцію, розчинення і/або стабілізацію поліпептиду, що був злитий, включають полі-His tag, тус, HA, протеїн А, протеїн G, кальмодулінзв'язуючий пептид, тіоредоксин, мальтозазв'язуючий білок, поліаргінін, полі-His-Asp, FLAG, частину імуноглобулінового білка і пептид трансцитозу.

Методи одержання гібридних генів добре відомі. Фактично, сполучення різних ДНК фрагментів, що кодують різні поліпептидні послідовності, проводиться відповідно до звичайних методів, включаючи тупі і липкі кінці для лігування, розщеплення рестрикційними ферментами для одержання відповідних кінців, добування липких кінців у випадку потреби, обробка лужною фосфатазою для запобігання небажаного сполучення і ферментативного лігування. В іншому варіанті, гібридний ген може бути синтезований традиційним методом, що включає автоматичне синтезування ДНК. Альтернативно, ПЛР ампліфікація фрагментів генів може проводитися з використанням якірних праймерів, що приводить до комплементарного перекривання між двома послідовними фрагментами, що можуть бути послідовно з'єднані для

одержання химерної послідовності гена (див., наприклад, Current Protocols in Molecular Biology, eds. Ausubel et al., John Wiley & Sons: 1992) і способом гібридизаційної ПЛР, де два або більше полінуклеотиди мають ділянку ідентичності, що у реакції ПЛР може приводити до гібридної полінуклеотидної послідовності.

5 В іншому переважному варіанті здійснення, нуклеотидна послідовність за даним винаходом кодує поліепітоп. Поліепітоп є химерним білком, що містить окремі епітопи з щонайменше одного білка/антигену, переважно, з більше ніж одного білка/антигену.

Зазначені епітопи можуть бути «очищеними» або «біологічно чистими». Термін «очищений» стосується матеріалу, що є головним чином вільним від компонентів, що звичайно супроводжують його, як знайдено в його оточенні, що зустрічається в природі. «Очищений» епітоп стосується епітопу, що не містить сусідніх амінокислот із усієї послідовності антигену або білка, з якого епітоп походить.

10 Стосовно амінокислотної послідовності, «епітоп» є набором амінокислотних залишків, що залучені в розпізнавання визначеним імуноглобуліном, або в контексті Т-клітин, ці залишки необхідні для впізнання Т-клітинними рецепторними білками і/або молекулами Головного Комплексу Гістосумісності (Major Histocompatibility Complex (MHC)). Термін «пептид» належить до ряду амінокислот, з'єднаних один з одним, звичайно пептидними зв'язками між аміно- і карбоксильною групами прилягаючих амінокислот.

Епітопи мають визначену довжину і зв'язуються з молекулами, що функціонують в імунній системі, переважно, HLA клас I і Т-клітинним рецептором. Епітопи в поліепітопному конструкті можуть бути епітопами HLA класу I і, можливо, епітопами HLA класу II. Епітопи HLA класу I називають CTL епітопами, і епітопи HLA класу II називають HTL епітопами. Деякі поліепітопні конструкти можуть мати підгрупу епітопів HLA класу I, і інші - підгрупу епітопів HLA класу II. CTL епітоп звичайно складається з 13 або менше амінокислотних залишків у довжину, 12 або менше амінокислотних залишків у довжину або 11 або менше амінокислотних залишків у довжину, переважно, 8-13 амінокислотних залишків у довжину, найбільш переважно, 8-11 амінокислотних залишків у довжину (тобто, 8, 9, 10 або 11). HTL епітоп складається з 50 або менше амінокислотних залишків у довжину, і звичайно з 6-30 залишків, більш звичайно з 12-25 і, переважно, складається з 15-20 (тобто, 15, 16, 17, 18, 19 або 20) амінокислот у довжину. Поліепітопний конструкт за даним винаходом, переважно, включає 2 або більше, 5 або більше, 10 або більше, 13 або більше, 15 або більше, 20 або більше або 25 або більше CTL епітопів. Більш точно, поліепітопний конструкт включає щонайменше 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, 55, 60 або більше CTL епітопів.

35 Гомологічні нуклеотидні послідовності за даним винаходом можуть бути одержані з будь-якого організму, мікроорганізму, такого як будь-який вірус, будь-яка бактерія, будь-який гриб або паразит. Гомологічні нуклеотидні послідовності можуть бути як гетерологічні послідовності вектора, так і гомологічні йому. Коли, наприклад, вірус використовується як вектор, також власні вірусні нуклеотидні послідовності можуть бути розмножені за даним винаходом, наприклад, щоб надекспресувати білок вірусу для одержання посиленої імунної реактивності або безпеки. Переважно, гомологічні нуклеотидні послідовності одержують з інфекційного або патогенного мікроорганізму, і найбільш переважно з різних штамів або скарбів, різновидів, підтипів або серотипів зазначеного мікроорганізму. Терміни "штам" або "скарб" є технічними термінами, відомими фахівцю, що належить до таксономії мікроорганізмів. Таксономічна система класифікує усі дотепер охарактеризовані мікроорганізми в ієрархічному порядку: Сімейство, Рід, Вид, Штам (Fields Virology, ed. by Fields B. N., Lippincott-Raven Publishers, 4th edition 2001). У той час як критерієм для членів Сімейства є їх філогенетичні відношення, Роду включають всіх учасників, що розділяють загальні характеристики, і Вид визначений як політетичний клас, що утворює відтворювану лінію, і займає визначену екологічну нішу. Термін "штам" або "скарб" описує мікроорганізм, тобто вірус, що розділяє загальні характеристики, такі як основна морфологія або структура геному й організацію, але змінюється по біологічних властивостях, таким як діапазон хазяїна, тихорецький тропізм, географічний розподіл, ослаблення або патогенність. Термін "різновиди" або "серотипи" далі розрізняє членів того ж самого штаму, що також називаються підтипами, що показують окремі спектри інфікування або алергенні властивості через незначні геномні зміни.

50 Відповідно до подальшого варіанта здійснення даного винаходу, гомологічні нуклеотидні послідовності, переважно, відібрані з вірусів. Типові приклади вірусів включають без обмеження ВІЛ (ВІЛ-1 або ВІЛ-2), віруси герпесу (наприклад, HSV1 або HSV2), цитомегаловірус (CMV), вірус Епштейна-Барр (EBV), віруси гепатиту (наприклад, вірус гепатиту А (HAV), HBV, HCV і вірус гепатиту Е), флавівіруси (наприклад, вірус жовтої лихоманки), вірус вітряної віспи (VZV),

параміксовіруси, респіраторно-синтиціальні віруси (RSV), віруси парагрипу, вірус кору, віруси грипу і папіломавірусу.

Відповідно до іншого варіанта здійснення, гомологічні нуклеотидні послідовності відібрані з генів вірусу Dengue. Найбільш переважними є гени, одержані з різних серотипів вірусу, де ці гени можуть бути одержані з одного, двох, трьох або з усіх чотирьох серотипів вірусу Dengue.

У переважному варіанті здійснення дві гомологічні нуклеотидні послідовності кодують гени респіраторно-синтиціального вірусу (RSV). У переважному варіанті здійснення гомологічні нуклеотидні послідовності кодують RSV-F і/або RSV-G білки. Переважно, один з RSV генів є повнорозмірним, а інший є зрізаним.

В іншому переважному варіанті здійснення, дві, переважно, три гомологічні нуклеотидні послідовності кодують білки вірусу Ебола (EBOV). Три гомологічні нуклеотидні послідовності, що кодують білки вірусу Ебола (EBOV), звичайно, також покривають дві гомологічні нуклеотидні послідовності. У переважному варіанті здійснення гомологічні нуклеотидні послідовності кодують EBOV глікопротеїни (GP). У найбільш переважному варіанті здійснення нуклеотидні послідовності кодують білки-попередники глікопротеїну з EBOV штамів EBOV-B (Bundibugyo), EBOV-S (Sudan ebolavirus strain Gulu) і EBOV-Z (Zaire ebola virus strain Mayinga).

В іншому варіанті здійснення гомологічні нуклеотидні послідовності відібрані з бактерій. Типові приклади придатних бактерій до яких включається без обмеження: несерія (наприклад, *N. gonorrhea* і *N. meningitidis*); бордетела (наприклад, *B. pertussis*, *B. parapertussis* і *B. bronchiseptica*), мікобактерії (наприклад, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. leprae*, *M. avium*, *M. paratuberculosis*, *M. smegmatis*); легіонела (наприклад, *L. pneumophila*); ешерихія (наприклад, ентеротоксична *E. coli*, ентерогеморагічна *E. coli*, ентеропатогенна *E. coli*); шигела (наприклад, *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. flexnerii*); сальмонела (наприклад, *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*); лістерія (наприклад, *L. monocytogenes*); хелікобактер (наприклад, *H. pylori*); псевдомона (наприклад, *P. aeruginosa*); стафілокок (наприклад, *S. aureus*, *S. epidermidis*); ентерокок (наприклад, *E. faecalis*, *E. faecium*); бацила (наприклад, *B. anthracis*); корінебактерія (наприклад, *C. diphtheriae*), і хламідія (наприклад, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*). Типові приклади паразитів до яких включається без обмеження: плазмодій (наприклад, *P. falciparum*); токсоплазма (наприклад, *T. gondii*); лейшманія (наприклад, *L. major*); пневмоцистис (наприклад, *P. carinii*); і шизостома (наприклад, *S. mansoni*). Представницькі приклади грибів до яких включається без обмеження: кандиди (наприклад, *C. albicans*) і апрегітус.

Щонайменше дві нуклеотидні послідовності можуть бути одного розміру або різних розмірів. У переважному варіанті здійснення, одна з двох нуклеотидних послідовностей є зрізаною в порівнянні з іншою. Усікання може бути як з 5'-, так і з 3'-кінця.

У різних варіантах здійснення 300 нуклеотидів у двох нуклеотидних послідовностях кодують 100 амінокислот, що мають щонайменше 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 або 100% амінокислотної ідентичності. У переважному варіанті здійснення, зазначена амінокислотна ідентичність знаходиться на ділянці 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 або 1000 або більш послідовних амінокислот.

В особливо переважному варіанті здійснення, амінокислоти мають щонайменше 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 або 100% амінокислотної ідентичності на ділянці щонайменше 150 або 200 послідовних амінокислот.

В інших переважних варіантах здійснення, білок, кодований двома нуклеотидними послідовностями, має щонайменше 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 або 100% амінокислотної ідентичності на ділянці 300 або 500 послідовних амінокислот. В інших переважних варіантах здійснення, білок, кодований двома нуклеотидними послідовностями, має 85-100%, особливо 100% амінокислотної ідентичності на ділянці 100, 200, 400, 600 або 800 послідовних амінокислот у попарному порівнянні.

Як використовується тут, будь-який термін, що стосується «процентної ідентичності послідовності», такий як «амінокислотна ідентичність», стосується ступеня ідентичності між будь-якою даною запитуваною послідовністю і послідовністю-об'єктом.

Зокрема, терміни, що впливають, використовуються для опису споріднення послідовності між двома або більше нуклеїновими кислотами, полінуклеотидами або амінокислотними послідовностями: «референсна послідовність», «вікно порівняння», «ідентичність послідовності», «відсоток ідентичності послідовності» і «структурна ідентичність». «Референсна послідовність» є визначеною послідовністю, використовуваною як основа для порівняння послідовності; референсна послідовність може бути частиною більшої послідовності.

Терміни «ідентичний» або процентно «ідентичний», у контексті однієї або більше послідовностей нуклеїнової кислоти або поліпептиду, стосується двох або більше послідовностей або підпослідовностей, що є такими ж самими або мають визначений відсоток

амінокислотних залишків або нуклеотидів, що є тими ж (наприклад, 75% ідентичний, 80% ідентичний, 85% ідентичний, 90% ідентичний, 99 або 100% ідентичний у попарному порівнянні), при порівнянні і вирівнюванні для найбільшої відповідності у вікні порівняння або позначеної області при вимірюванні з використанням алгоритму порівняння послідовності або шляхом

ручного вирівнювання і візуального огляду. Відсоток обчислюють шляхом визначення числа позицій, у яких гомологічні основи нуклеїнової кислоти або залишки амінокислот присутні в обох послідовностях для одержання числа позицій, що збіглися, поділяючи число позицій, що збіглися, на загальну кількість позицій у вікні порівняння і множаючи результати на 100 для одержання процентності ідентичності послідовності.

Фраза «значно ідентичний», у контексті двох нуклеїнових кислот або поліпептидів, стосується двох або більше послідовностей або підпослідовностей, що мають щонайменше приблизно 85% ідентичності, щонайменше приблизно 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 або 100% ідентичності нуклеотидів або амінокислотних залишків, при порівнянні і вирівнюванні попарно для найбільшої відповідності, при вимірюванні з використанням алгоритму порівняння послідовності або шляхом візуального огляду. У прикладі здійснення значна ідентичність є в наявності протягом області послідовності, що має довжину щонайменше приблизно 50 залишків. В іншому прикладі здійснення, значна ідентичність є в наявності протягом області послідовності, що має довжину щонайменше приблизно 100 залишків. У ще іншому прикладі здійснення, значна ідентичність є в наявності протягом області послідовності, що має довжину щонайменше приблизно 150 або більше залишків. В одному прикладі здійснення, послідовності значно ідентичні протягом усієї довжини послідовності нуклеїнової кислоти або послідовності білка.

Для порівняння послідовностей, як правило, одна послідовність служить референтною послідовністю, з якою порівнюють тестові послідовності. При використанні алгоритму порівняння послідовності тестову і референсну послідовності вводять у комп'ютер, координати підпослідовності визначаються, у випадку потреби, і визначаються параметри програми алгоритму послідовності. Можуть використовуватися параметри програми за замовченням, або альтернативні параметри можуть бути визначені. Алгоритм порівняння послідовності потім обчислює відсоток ідентичності послідовностей для тестової послідовності відносно референтної послідовності на основі параметрів програми.

"Вікно порівняння", як використовується тут, включає посилання на відрізок з будь-якою кількістю послідовних позицій, відібраних із групи, що складається з від 20 до 600, звичайно 20-50, від приблизно 50 до приблизно 100, від приблизно 100 до приблизно 200, частіше від приблизно 100 до приблизно 150 або приблизно 20, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500 або 3000 або навіть більше, у якому послідовність може бути порівняна з референсною послідовністю з тією же самою кількістю послідовних позицій після того, як ці дві послідовності оптимально вирівняні.

Процентна ідентичність може бути визначена з використанням способу порівняння Needleman і Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970), що є еквівалентним Sellers (SIAM J. of Applied Math 26; 787-793 (1974)). Процентна ідентичність може бути визначена, наприклад, шляхом порівняння інформації про послідовність з використанням комп'ютерної програми GAP, версія 6.0, описаної Devereux et al. (Nucl. Acids Res. 12:387, 1984) і доступної в University of Wisconsin Genetics Computer Group (UWGCG), що використовує цей спосіб порівняння. Переважні параметри за замовченням для програми GAP включають: (1) унарну матрицю порівняння (що містить значення 1 для ідентичності і 0 для неідентичності) для нуклеотидів і об'єднану матрицю порівняння Gribkov і Burgess, Nucl Acids Res. 14:6745, 1986, як описано Schwartz і Dayhoff, eds., Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358, 1979; (2) штраф, що дорівнює 3,0 для кожної невідповідності і додатковий штраф 0,10 для кожного символу в кожній невідповідності; і (3) відсутність штрафу для закінчення невідповідності. Іншим придатним інструментом для застосування є ContigExpress з VectorNTI Advance програми (INVITROGEN), наприклад, версії 10.3.1 від 2007 року.

Відповідно до даного винаходу, виродженість генетичного коду використовується, щоб зробити гомологічні або ідентичні нуклеотидні послідовності менш гомологічними, з метою запобігання внутрішньомолекулярної рекомбінації. Зазначені розходження можуть бути уже включені в нуклеотидні послідовності природою і/або включені штучно шляхом заміщення. У різних варіантах здійснення, кількість різних нуклеотидів, що беруть початок від природи, плюс від штучного заміщення складає щонайменше 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450 або 500. Переважно, кількість різних основ складає щонайменше 75, 200 або

450. Кількість розходжень, звичайно, змінюється і збільшується, відповідно, з кількістю нуклеотидів у нуклеотидних послідовностях.

У переважному варіанті здійснення заміщені щонайменше 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450 або 500 нуклеотидів. Зазначені заміни штучно введені незалежно від кількості вже присутніх відмінних нуклеотидів, внесених, наприклад, мутаціями, що мовчать.

У різних варіантах здійснення, дві нуклеотидні послідовності з ділянками ідентичності не більше ніж 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 або 4 послідовних нуклеотидів після заміщення є переважними. У випадку більше ніж двох нуклеотидних послідовностей, ділянки ідентичності не більше ніж 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 або 4 послідовних нуклеотидів після заміщення є переважними.

В іншому варіанті здійснення, нуклеотидні послідовності можуть мати щонайменше 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 або 450 заміщених нуклеотидів з 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500 або 1600 більше нуклеотидів.

У контексті цього винаходу, заміщення нуклеотидів відмінними нуклеотидами позначає технічну або штучну заміну нуклеотидів іншими нуклеотидами. Переважно, заміщені нуклеотиди не змінюють кодовану амінокислотну послідовність. Заміщення може бути здійснене шляхом ідентифікації кодонів у двох гомологічних нуклеотидних послідовностях, що кодують ті самі амінокислоти, і зміни кодонів в одній із двох гомологічних нуклеотидних послідовностей таким чином, що кодони продовжують кодувати ті ж самі амінокислоти. Зміна може бути зроблена в одній, обох або всіх гомологічних нуклеотидних послідовностях.

Наприклад, амінокислота пролін кодується кодонами CCA, CCC, CCG і CCU (на рівні ДНК U замінюється на T). Проста нуклеотидна послідовність, CCCCCC, що спочатку кодує два проліни в двох гомологічних нуклеотидних послідовностях може бути перетворена в CCACCG, що також кодує два проліни, в одній із двох гомологічних нуклеотидних послідовностей. Альтернативно, одна з послідовностей, що кодують пролін-пролін, може бути перетворена в CCCCCG, і інша в CCACCC.

Більш складним прикладом служить амінокислота серин, що кодується кодонами UCA, UCC, UCG, UCU, AGC і AGU. Аналогічно, UCAUCA, що спочатку кодує два різних серини, може бути перетворена в множинних гомологічних послідовностях у AGCAGC (не має загальних нуклеотидів з UCAUCA) і UCGAGU (що має тільки одну загальну позицію з UCAUCA або двох позицій з AGCAGC) і так далі. Це дозволяє велику гнучкість у введенні різних нуклеотидних варіантів у двох або більше нуклеотидних послідовностей, що кодують серин-серин.

Переважно, при кодон-оптимізації, як описано в даному винаході, уникають використання рідких кодонів для бажаного хазяїна, оскільки рідкі кодони можуть блокувати або знизити експресію кодованого білка. Також переважно уникають заміни, що можуть увести сигнали нуклеїнових кислот для бажаного хазяїна. Такі сигнали включають, але не обмежуються, сигнали сплайсингу, сигналу термінації і сигнали ініціації. Переважно, мотиви послідовності, що впливають, можуть уникатися в залежності від типу використовуваного вектора, наприклад, сигнал ранньої термінації транскрипції вірусу коров'ячої віспи не має потребу в запобіганні для багатьох інших векторів, що не є поксвірусними векторами:

- внутрішні TATA-бокси, χ -сайти і сайти зв'язування рибосоми;
- AT-багаті і GC-багаті ділянки послідовності;
- ARE, INS і CRS елементи послідовності;
- повторювані послідовності і PHK вторинні структури;
- (неявні) донорні й акцепторні сайти сплайсингу, і сайти розгалуження; і
- сигнали ранньої термінації транскрипції для вірусу коров'ячої віспи: (TTTTTNT).

Короткий опис фігур

Більш повний винахід може бути зрозумілий при зверненні до фігур, на яких:

Фіг. 1 зображує порівняння нуклеотидних послідовностей, що кодують повнорозмірний RSV-F (F) білок з нуклеотидною послідовністю, що кодує заміщений зрізаний RSV-F_trunc (F_trunc) білок. Ідентичні послідовності виділені чорними, і заміщені нуклеотиди залишаються невиділеними. Показано розташування праймерів A1 і B2.

Фіг. 2 зображує порівняння повнорозмірного RSV-F (F) білка з зрізаним RSV-F_trunc (F_trunc) білком. Повнорозмірна послідовність RSV-F зрізана на 50 ак, що приводить до одержання зрізаного RSV-F_trunc білка. Білок RSV-F_trunc перекриває приблизно 91% повнорозмірного білка.

Фіг. 3 зображує експресію RSV-F і RSV-F_trunc з рекомбінантних MVA-BN® вірусів у людській клітинній лінії. Вестерн-блот аналіз з екстрактами з інфікованих людських клітин після інфікування різними вірусами на основі MVA-BN®, з MOI 10 і лізисом через 24 години після

інфікування. MVA-BN® (контроль з порожнім вектором; доріжка 1), MVA-mBN172B (рекомбінантний MVA-BN® з повнорозмірним RSV-F; доріжка 2), MVA-mBN173B (рекомбінантний MVA-BN® зі зрізаним RSV-F_trunc; доріжка 3) і доріжка 4: MVA-mBN175B (рекомбінантний MVA-BN® з RSV-F і RSV-F_trunc). Підрахована молекулярна вага білків: RSV-F (61,6 кДа) і RSV-F_trunc (56,1 кДа).

Фіг. 4A-C зображують ПЛР аналіз MVA-mBN175B. Показані RSV-F (F) і RSV-F_trunc (F_trunc). А. Результати ПЛР із різними праймерними парами. M=маркер (1 kb-ladder, New England Biolabs). Доріжка 1 - MVA-mBN175B. Доріжка 2 - позитивна контрольна плазмідна (pBN345). Доріжка 3 - MVA-mBN®. Доріжка 4 - водний контроль. Доріжка 5 - позитивна контрольна плазмідна (pBN343). В. Схема MVA-mBN175B, що показує розташування праймерів, використовуваних для ПЛР, показаних на Фіг. 4A. С. Схема MVA-mBN® дикого типу, що показує розташування праймерів.

Фіг. 5A-C зображують гіпотетичну рекомбінацію F/F_trunc між повнорозмірним RSV-F геном (F) і зрізаним F геном (F_trunc) у двічі рекомбінантному MVA, і розташування ПЛР праймерів у рекомбінантному і нерекомбінантному вірусах і контрольних плазмідах. А. MVA-mBN175B. В. pMISC173. С. pMISC172.

Фіг. 6 зображує аналіз ДНК, виділеної з клітин, інфікованих MVA-mBN175B. Доріжки 1 і 7 є маркерними. Доріжка 2 - MVA-mBN175B. Доріжка 3 є плазмідним контролем для гена F (pBN343). Доріжка 4 є плазмідним контролем для зрізаного гена F (pBN345). Доріжка 5 - MVA-BN®. Доріжка 6 - водний контроль. Очікуваний ПЛР продукт гіпотетичної рекомбінації між RSV-F геном і зрізаним F геном RSV-F_trunc у MVA-mBN175B становить 613 нуклеотидних пар.

Фіг. 7 зображує порівняння трьох EBOV (вірус Ебола) GP (глікопротеїн) білкових послідовностей. Порівнювали амінокислотні послідовності трьох GP білків вірусу Ебола штамів EBOV-B, EBOV-S і EBOV-Z. У порівнянні Gaps були не дозволені. Загальна ідентичність у всіх трьох білкових послідовностях становила 48,5%. Сірий фон: ідентичні у всіх трьох білкових послідовностях. Чорний фон: ідентичні в двох білках.

Фіг. 8A і 8B зображують порівняння трьох EBOV GP кодуючих послідовностей, використовуваних у рекомбінантному конструкті на основі MVA-BN®. Кодуючі послідовності для GP генів, що походять з трьох EBOV штамів EBOV-B, -S і -Z, порівнювали перед (неопт; див. Фіг. 8A) і після (опт; див. Фіг. 8B) оптимізації. У порівнянні Gaps були не дозволені. Сірий фон: ідентичні нуклеотидні позиції в трьох кодуючих послідовностях. Чорний фон: ідентичні нуклеотидні позиції в двох кодуючих послідовностях. Ідентичність у нуклеотидних позиціях трьох генів перед оптимізацією (неопт) становить 45,3%, тоді як після оптимізації (опт) становить 44,6%.

Фіг. 9 зображує попарне порівняння трьох EBOV GP кодуючих послідовностей, використовуваних у рекомбінантному конструкті на основі MVA-BN®. Кодуючі послідовності для GP генів, що походять з трьох EBOV штамів EBOV-B, -S і -Z порівнювали попарно перед (неопт; див. Фіг. 9A) і після (опт; див. Фіг. 9B) оптимізації. У порівнянні Gaps були не дозволені. Сірий фон: ідентичні нуклеотидні позиції в кодуючій послідовності. Ідентичність у нуклеотидних позиціях трьох генів перед (неопт) і після (опт) оптимізації зведена в таблиці С.

Фіг. 10 зображує розщеплення рестрикційними ферментами і плазмідну карту плазмиди pMISC210, що містить повнорозмірний (RSV-F) і зрізаний (RSV-F_trunc) білок. Доріжка 1: плазмідна pMISC210, що містить RSV-F і RSV-F_trunc; Доріжка 2: контрольна плазмідна pMISC209, що містить тільки RSV-F_trunc; Доріжка 3: маркер молекулярної ваги. Показано розмір смуг маркера в парах нуклеотидних основ (по).

Приклади

Приклад 1

Одержання заміщеного, зрізаного гена F

Було бажане створення рекомбінантного MVA, експресуючого як повнорозмірний білок RSV-F, так і зрізану версію RSV-F_trunc. Однак, на основі результатів з MVA і іншими вірусами коров'ячої віспи, що містять повторювані послідовності, очікувалося, що внутрішньомолекулярна рекомбінація приведе до рекомбінації між двома копіями гена F, результатом чого буде делеція однієї з копій гена F.

Щоб мінімізувати наявність довгих ділянок ідентичних нуклеотидів між двома генами F, кодони в нуклеотидній послідовності, що кодує ген RSV-F_trunc, були замінені зі збереженням амінокислотної послідовності генів F. Уникали використання рідких кодонів для ссавців і курчат. Крім того, уникали замінів, що могли б ввести сигнали в нуклеїнову кислоту. Такі сигнали уключали внутрішні TATA-бокси, chi-сайти і сайти зв'язування рибосоми; AT-багаті і GC-багаті ділянки послідовності; ARE, INS і CRS елементи послідовності; повторювані послідовності і РНК вторинні структури; (неявні) донорні й акцепторні сайти сплайсингу, сайти розгалуження; і

сигнали термінації для коров'ячої віспи (TTTTTNT). Заміщена нуклеотидна послідовність показана на Фіг. 1, у порівнянні з кодуючою послідовністю повнорозмірного RSV-F білка. Хоча значна ідентичність зберігається протягом всіх двох кодуючих послідовностей, у двох кодуючих послідовностях немає великих ділянок ідентичності, що залишаються, більше ніж дев'ять

послідовних нуклеотидів. На Фіг. 2 представлено порівняння білків, кодованих двома кодуючими послідовностями. Два білки мають 100% ідентичність протягом перших 524 амінокислот (заміщений білок F зрізаний з карбоксильного кінця). Таким чином, хоча ці дві кодуючі послідовності кодуєть ділянку ідентичних амінокислот, одна з послідовностей була заміщена стосовно іншої.

Приклад 2

Одержання рекомбінантних вірусів, що містять RSV-F гени

ДНК, що кодує повнорозмірний RSV-F ген, була інтегрована в MVA у двох різних сайтах інтеграції для одержання MVA-mBN170B і MVA-mBN172B (у сайті IGR88/89). Заміщений RSV-F_trunc ген був інтегрований у MVA у сайт IGR148/149 для одержання MVA-mBN173B.

Потім був створений двічі рекомбінантний MVA, що містить повнорозмірний RSV-F ген, інтегрований у MVA у сайті IGR88/89, і заміщений RSV-F_trunc ген, інтегрований у той же MVA у сайті IGR148/149. Двічі рекомбінантний вірус був названий MVA-mBN175B. Схематичне зображення цього вірусу представлено на Фіг. 4B.

Приклад 3

Експресія F білків з рекомбінантних вірусів

З метою визначити, чи експресується білок із заміщеною нуклеотидною послідовністю, був проведений вестерн-блот аналіз на білкових екстрактах з людської клітинної лінії, інфікованої рекомбінантним MVA-BN®-основаним вірусом, що кодує повнорозмірний RSV-F ген (MVA-mBN172B), вірусом, що кодує заміщений RSV-F_trunc ген (MVA-mBN173B), і двічі рекомбінантним вірусом, що кодує обидва, повнорозмірний і RSV-F_trunc гени (MVA-mBN175B). Усі три віруси показали продукцію RSV-F білків відповідного розміру на вестерн-блот аналізі (Фіг. 3), тоді як MVA-BN® контроль (порожній вектор) не показав яких-небудь смуг, як і очікувалося. Таким чином, повнорозмірний F білок і зрізаний F білок, експресований із заміщеної нуклеотидної послідовності, були експресовані індивідуально з однократно рекомбінантного MVA-BN®, але обоє були коекспресовані з одного двічі рекомбінантного MVA-BN® вірусу (MVA-mBN175B) у людській клітинній лінії.

Приклад 4

Нарощування рекомбінантного вірусу

Клітини фібробластів ембріона курчати були інфіковані MVA-mBN175B, конструктом, що містить як повнорозмірний F ген, так і заміщений RSV-F_trunc ген, або конструктом, що містить тільки один повнорозмірний F ген, для одержання першого вірусного стоку. Подібні титри двічі рекомбінантного вірусу, що містить як повнорозмірний F ген, так і заміщений F ген ($1,34 \times 10^7$ TCID₅₀), спостерігали в порівнянні з титрами вірусу, що містить тільки один повнорозмірний F ген ($1,46 \times 10^7$ TCID₅₀). Ці результати означають, що стабільний двічі рекомбінантний MVA був одержаний, і що рекомбінація між двома копіями F гена була обмежена шляхом заміщення нуклеотидних основ у послідовностях.

Приклад 5

ПЛР аналіз рекомбінантних вірусів

ПЛР аналіз проводився на ДНК із клітин, інфікованих MVA-mBN175B або MVA-BN®, з використанням вставка-специфічних або фланк-специфічних праймерних пар, зображених на Фіг. 4B і C. ПЛР А з праймерами A1/A2, що є специфічними для повнорозмірного F гена, детектувала смугу розміром 663 нуклеотидні пари (по) у клітинах, інфікованих MVA-mBN175B, і в специфічному плазмідному позитивному контролі, як і очікувалося. Ця смуга, як і очікувалося, була відсутня в клітинах, інфікованих MVA-BN® або у водному контролі (Фіг. 4A). ПЛР В з праймерами B1/B2, що є специфічними для заміщеного, зрізаного F гена, детектувала смугу розміром 625 по в клітинах, інфікованих MVA-mBN175B, і в специфічному плазмідному позитивному контролі, як і очікувалося. Ця смуга, як і очікувалося, була відсутня в клітинах, інфікованих MVA-BN® або у водному контролі (Фіг. 4A). ПЛР С з праймерами C1/C2, що детектують вставки в сайті IGR88/89, детектувала смугу розміром 2047 по в клітинах, інфікованих MVA-mBN175B, і в специфічному плазмідному позитивному контролі, як очікувалося. Ця смуга, як очікувалося, відсутня у клітинах, інфікованих порожнім векторним контролем MVA-BN®, замість цього смуга 161 по вказує на ситуацію дикого типу в IGR88/89 у MVA-BN® (Фіг. 4A). ПЛР D із праймерами D1/D2, що детектують вставки в сайті IGR148/149, детектувала смугу розміром 2062 по в клітинах, інфікованих MVA-mBN175B, і в специфічному плазмідному позитивному контролі, як очікувалося. Ця смуга, як очікувалося, відсутня у

клітинах, інфікованих порожнім векторним контролем MVA-BN®, замість цього смуга 360 по вказує на ситуацію дикого типу в IGR88/89 у MVA-BN® (Фіг. 4A).

Рекомбінація між генами F привела б до гібридного F гену, що має частини F гена дикого типу і частини зрізаного F гена (Фіг. 5A). Для визначення наявності яких-небудь рекомбінантів був проведений ПЛР аналіз на ДНК із клітин, інфікованих MVA-mBN175B або MVA-BN®, з використанням праймерних пар A1/B2 (Фіг. 5B), яким відповідає продукт 613 по, специфічний для рекомбінантного гена F. Результати цієї ПЛР не показали детектованих рекомбінантів (Фіг. 6). Ці результати означають, що був одержаний стабільний двічі рекомбінантний MVA, і рекомбінація між двома копіями F гена була обмежена.

Приклад 6

Одержання рекомбінантних генів глікопротеїну (GP) трьох різних штамів вірусу Ебола (EBOV)

Було бажаним одержання рекомбінантного MVA, що експресує три глікопротеїни (GP) вірусу Ебола (EBOV). Штами EBOV, використовувані тут, були EBOV-B (Bundibugyo), EBOV-S (Судан) і EBOV-Z (Заїр), усі приналежні до вірусних штамів, що високо летальні для інфікованих людей. Названі три GP мають загальну ідентичність 48,5%, що означає, що практично кожна друга амінокислота в GP білках є ідентичною для всіх трьох штамів, тоді як процентна ідентичність на всьому протязі повнорозмірної білкової послідовності в порівнянні комбінацій двох штамів знаходиться між 57,0 і 64,2% (Фіг. 7).

Для мінімізації наявності довгих ділянок ідентичних нуклеотидів у трьох EBOV GP генах, кодони в трьох нуклеотидних послідовностях були замінені, зі збереженням кодованої амінокислотної послідовності трьох GP генів. Уникали використання рідких для ссавців і курчат кодонів, також як і уникали заміни, що можуть ввести в нуклеїнову кислоту сигнали. Такі сигнали уключали внутрішні TATA-бокси, chi-сайти і сайти зв'язування рибосоми; AT-багаті і GC-багаті ділянки послідовності; ARE, INS і CRS елементи послідовності; повторювані послідовності і РНК вторинні структури; (неявні) донорні й акцепторні сайти сплайсингу, сайти розгалуження; і сигнали термінації для коров'ячої віспи (TTTTTNT). G після ATG старт-кодона передбачає сильну експресію і є присутнім в оригінальній кодуючій послідовності усіх трьох EBOV GP генів, і він був збережений.

Хоча від 23,3 до 24,9% нуклеотидів у кожній з 3 оптимізованих EBOV GP кодуючих послідовностей були замінені (див. таблицю А), загальна ідентичність між трьома GP кодуючими послідовностями змінилася несуттєво (таблиця В). У двох випадках попарне порівняння показало навіть незначно більш високу ідентичність після оптимізації кодуючих послідовностей, як показано нижче в таблиці В.

Таблиця А

Нуклеотидні заміни в трьох оптимізованих EBOV GP генах. Таблиця показує кількість змінених нуклеотидів у відповідних позиціях в оптимізованих GP кодуючих послідовностях (опт) у порівнянні з неоптимізованою (неопт) послідовністю різних штамів EBOV, на основі загальної кількості нуклеотидів у [%]. Загальна кількість по - 1147

	змінені нуклеотидні позиції в оптимізованих GP кодуючих послідовностях у порівнянні з неоптимізованими послідовностями [%]
EBOV-B неопт:EBOV-B опт	23,3
EBOV-S неопт:EBOV-S опт	24,9
EBOV-Z неопт:EBOV-Z опт	23,9

Таблиця В

Ідентичні нуклеотидні позиції трьох EBOV GP кодуючих послідовностей. Таблиця показує кількість ідентичних нуклеотидів у відповідних позиціях у двох кодуючих послідовностях різних штамів EBOV, на основі загальної кількості нуклеотидів у [%]

попарне порівняння GP генів	ідентичність нуклеотидів у неоптимізованих генах [%]	ідентичність нуклеотидів в оптимізованих генах [%]
EBOV-B:EBOV-S	57,0	57,3
EBOV-B:EBOV-Z	64,2	61,1
EBOV-S:EBOV-Z	57,6	60,4

Попарні порівняння GP кодуючих послідовностей трьох штамів EBOV EBOV-B, -S і -Z показало ідентичність нуклеотидних позицій і розподіл ідентичностей (Фіг. 9). Відповідно, спосіб за даним винаходом привів до укорочення ділянок нуклеотидної ідентичності в EBOV GP-послідовностях. При розгляді довгих ділянок ідентичних послідовних нуклеотидів очевидно, що розмикання або укорочення таких ділянок ідентичності є важливою частиною стратегії для запобігання рекомбінації між послідовностями, що мають деякий рівень нуклеотидної ідентичності. У таблиці С (див. нижче) показана кількість ділянок послідовних ідентичних нуклеотидів з попарного порівняння GP кодуючих послідовностей. Перед оптимізацією є ділянки довгої до 23 по, і сумарно є 41 ділянка з 10 або більше ідентичних нуклеотидів. В оптимізованій версії GP генів знайдена тільки одна ділянка довжиною 13 по, і можуть бути знайдені 7 ділянок довжиною 10 або більше ідентичних нуклеотидів.

Таблиця С

Довгі ділянки послідовних ідентичних нуклеотидів. Таблиця показує кількість ділянок послідовних ідентичних нуклеотидів визначеної довжини в попарному порівнянні EBOV GP кодуючих послідовностей перед (неопт) і після (опт) оптимізації. Кількість попарних порівнянь підсумовано в колонку «загальна кількість». Найдовша ділянка в неоптимізованому порівнянні складається з 23 послідовних ідентичних нуклеотидів, тоді як в оптимізованих генах він зменшений до максимум 13 нуклеотидів. Показані тільки ділянки довжиною 10 або більше нуклеотидів

довжина	EBOV-B:EBOV-S		EBOV-B:EBOV-Z		EBOV-S:EBOV-Z		загальна кількість	
	неопт	опт	неопт	опт	неопт	опт	неопт	опт
23 нт			1				1	
20 нт			2				2	
17 нт					1		1	
16 нт			2				2	
14 нт			2		2		4	
13 нт			1	1	1		2	1
12 нт	1		2				3	
11 нт	10	2	4	1	8		22	3
10 нт	1		2	1	1	2	4	3

Приклад 7

Одержання рекомбінантних MVA-BN® вірусів з GP генами штамів EBOV

Три EBOV GP гени були синтезовані GeneArt (Regensburg, Germany) і клоновані в рекомбінантні вектори, з огляду на інтеграцію в MVA-BN®. Був одержаний рекомбінантний вірус, що містить три оптимізованих послідовності гомологічних GP генів із трьох різних штамів EBOV. Транскрипція трьох інтегрованих GP кодуючих послідовностей контролювалася різними окремими ранній-пізній промоторами.

Специфічні ПЛР реакції для трьох оптимізованих EBOV-GP послідовностей показали наявність трьох окремих генів у рекомбінантному MVA-BN®.

Приклад 8

Одержання плазмиди, що містить RSV-F гени

Дві версії RSV-F гена, використовувані в прикладах 1-5 і показані на Фіг. 1, були клоновані в одну плазмиду і поміщені в E.coli TZ101 (Trenzyme Gmb, Konstanz, Germany) з використанням стандартних технік клонування. Плазміда (див. карту плазмиди на Фіг. 10) була виділена і розщеплена рестрикційними ферментами Ale I, Dra III і Spe I, і розділена в 1% TAE агарозному гелі (див. Фіг. 10). Патерн смуг для pMISC210, що кодує повнорозмірний RSV-F білок і білок RSV-F_trunc (доріжка 1), також як і контрольна плазміда pMISC209, що кодує тільки білок RSV-F_trunc (доріжка 2) був порівняний з патернами, очікуваними після результатів аналізу електронної послідовності плазмід. Очікуваний розмір смуг для pMISC210 був 404, 573, 809, 1923 і 4874 по, тоді як для pMISC209 був очікуємо патерн смуг з розмірами 573, 661, 809 і 4874 по. Експериментально були виявлені всі очікувані смуги і ніякі додаткові смуги. У випадку проходження рекомбінації між варіантами RSV-F у pMISC210, один або більше найбільш дрібних фрагментів були б утрачені, у залежності від сайту рекомбінації. У даному експерименті такого однозначно не було знайдено. Таким чином, результати показують, що плазміда pMISC210 із двома генами RSV-F (RSV-F і RSV-F_trunc) є стабільною в E.coli.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Вектор, який містить дві нуклеотидні послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодують
 5 кожна 100 амінокислот,
 де 100 амінокислот, кодованих кожною з двох нуклеотидних послідовностей, мають
 щонайменше 75 % амінокислотної ідентичності, і
 де одна з двох нуклеотидних послідовностей має щонайменше 75 нуклеотидів, що
 відрізняються від іншої нуклеотидної послідовності,
 10 де відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні амінокислоти, кодовані зазначеними двома
 нуклеотидними послідовностями.
 2. Вектор за п. 1, де вектор є вірусним вектором, переважно поксвірусним вектором.
 3. Вектор за п. 2, де поксвірус є вірусом коров'ячої віспи, переважно модифікованим vaccinia
 Ankara (MVA) вірусом.
 15 4. Вектор за будь-яким з пп. 1-3, де заміщені щонайменше 75 різних нуклеотидів.
 5. Вектор за будь-яким з пп. 1-4, де дві нуклеотидні послідовності є генами респіраторно-
 синцитіального (RSV) вірусу, особливо генами RSV-F і/або RSV-G, або двома, переважно
 трьома, генами філовірусу, особливо генами філовірусного глікопротеїну (GP).
 6. Спосіб одержання вектора за п. 1, де зазначений спосіб включає стадії:
 20 а) одержання першої нуклеотидної послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодує 100
 амінокислот;
 б) одержання другої нуклеотидної послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодує 100
 амінокислот,
 де 100 амінокислот, кодованих кожною з двох нуклеотидних послідовностей, мають
 25 щонайменше 75 % амінокислотної ідентичності, і де одна з двох нуклеотидних послідовностей
 має щонайменше 75 нуклеотидів, що відрізняються від іншої нуклеотидної послідовності, де
 відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні амінокислоти, кодовані зазначеними двома
 нуклеотидними послідовностями; і
 в) інтеграції двох відмінних нуклеотидних послідовностей у вектор.
 30 7. Спосіб за п. 6, де вектор є вірусним вектором, переважно поксвірусним вектором.
 8. Спосіб за п. 7, де поксвірус є вірусом коров'ячої віспи, переважно модифікованим vaccinia
 Ankara (MVA) вірусом.
 9. Спосіб за будь-яким з пп. 6-8, де заміщені щонайменше 75 різних нуклеотидів.
 10. Спосіб за будь-яким з пп. 6-9, де дві нуклеотидні послідовності є генами респіраторно-
 синцитіального (RSV) вірусу, особливо генами RSV-F і/або RSV-G, або двома, переважно
 35 трьома, генами філовірусу, особливо генами філовірусного глікопротеїну (GP).
 11. Спосіб зниження внутрішньомолекулярної рекомбінації у векторі, що містить дві нуклеотидні
 послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодують кожна 100 амінокислот, де 100
 амінокислот, кодованих кожною з двох нуклеотидних послідовностей, мають щонайменше 75 %
 40 амінокислотної ідентичності, де зазначений спосіб включає заміну нуклеотидів в одній або обох
 нуклеотидній(их) послідовності(ях) для одержання двох відмінних послідовностей, що мають
 відмінність щонайменше в 75 нуклеотидів, де відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні
 амінокислоти, кодовані зазначеними двома нуклеотидними послідовностями.
 12. Спосіб за п. 11, де вектор є вірусним вектором, переважно поксвірусним вектором.
 45 13. Спосіб за п. 12, де поксвірус є вірусом коров'ячої віспи, переважно модифікованим vaccinia
 Ankara (MVA) вірусом.
 14. Спосіб за будь-яким з пп. 11-13, де заміщені щонайменше 75 різних нуклеотидів.
 15. Спосіб за будь-яким з пп. 11-14, де дві нуклеотидні послідовності є генами респіраторно-
 синцитіального (RSV) вірусу, особливо генами RSV-F і/або RSV-G, або двома, переважно
 50 трьома, генами філовірусу, особливо генами філовірусного глікопротеїну (GP).
 16. Спосіб одержання вірусу, переважно поксвірусу, що містить дві гомологічні нуклеотидні
 послідовності, де зазначений спосіб включає стадії:
 а) одержання вірусу, що містить нуклеотидну послідовність довжиною 300 нуклеотидів, що
 кодує 100 амінокислот, і
 55 б) інтеграції другої нуклеотидної послідовності довжиною 300 нуклеотидів, що кодує 100
 амінокислот, у вірус;
 де 100 амінокислот, кодованих кожною з двох нуклеотидних послідовностей, мають
 щонайменше 75 % амінокислотної ідентичності; і
 де одна з двох нуклеотидних послідовностей має щонайменше 75 нуклеотидів, що
 60 відрізняються від іншої нуклеотидної послідовності,

де відмінні нуклеотиди не змінюють ідентичні амінокислоти, кодовані зазначеними двома нуклеотидними послідовностями.

17. Спосіб за п. 16, де поксвірус є вірусом коров'ячої віспи, переважно модифікованим vaccinia Ankara (MVA) вірусом.

5 18. Спосіб за будь-яким з пп. 16-17, де заміщені щонайменше 75 різних нуклеотидів.

19. Спосіб за будь-яким з пп. 16-18, де дві нуклеотидні послідовності є генами респіраторно-синцитіального (RSV) вірусу, особливо генами RSV-F і/або RSV-G, або двома, переважно трьома, генами філовірусу, особливо генами філовірусного глікопротеїну (GP).

		Початок F и F _{trunc}	50
F	(1)	ATGGATTTGCCCAATCCTCAAAACAAATGCAATTACCACAATCTTTGCGGC	
F _{trunc}	(1)	ATGGATCTCCCATCTCAAGACCAACGCCATCACCACATCTTCGCGGC	
		51	100
F	(51)	AGTCACACTCTGTTTCGCTTCCAGTCAAACATCACTGTAGAAATTTTATC	
F _{trunc}	(51)	CCTGACCTCTGTTTCGCGCAGCAGCAGAACATCACCTGGACTTCTACC	
		101	150
F	(101)	AATCAACATGCACTGCACTTAGCAAGGCTATCTTAGTGCCTTTAAGAACT	
F _{trunc}	(101)	AGAGCACCTGCAGCGCCGTCAGCAAGGGCTACCTGAGCGCCCTGAGACC	
		151	200
F	(151)	GCTGGTATACCTAGTCTTATACCTATAGAATTAAGTATATCAAGGAAAA	
F _{trunc}	(151)	GGCTGCTACACAGCGTGTATCACCATCGAGCTGTCCAAATCAAGAAAA	
		201	250
F	(201)	TAAGTCTAATGGAACAGACGCTAAGGTAAATGATATAACAGAAATAG	
F _{trunc}	(201)	CAAGTCAAACGGCACCGACGCAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAATGG	
		251	300
F	(251)	ATAAATATAAATGCTGTACAGAAATGCAGTGCCTCATGCAGAGCACA	
F _{trunc}	(251)	ACAACTACAAGAACGCCGTACCGAGCTGCAGTGTCTCATGCAGAGCACC	
		301	350
F	(301)	CCAGCGGCCCAACAATCGCGCCAGAACAGAACTACCAAGGTTTATGAATTA	
F _{trunc}	(301)	CCTGCCGCCAACAACAGAGCCAGCGCGAGCTCCCCCGTTTATGAATTA	
		351	400
F	(351)	TACACTCAACAATACCAAAATAACAAATTAACATTAAGCAAGAAAGGA	
F _{trunc}	(351)	CACCCTGAACAAACCAAGAACAAACAGCTGACCTCAGCAAGAAAGCGGA	
		401	450
F	(401)	AAAGAGGATTTCTTGGCTTCTGTAGGTGTTGGATCTGCAATCGCCAGT	
F _{trunc}	(401)	AGCGCGGTTCTCTGGCTTCTGTCTGGCGTGGGCAGCGCCATGCCAGC	
		451	500
		праймер A1	
F	(451)	GGCATTGCTGTATCTAAAGTCTGCACCTAGAAGGGGAAGTCAACAAAT	
F _{trunc}	(451)	GGCATTGCTGTATCTAAAGTCTGCATCTGGAAGGCAGGTCACCAAGAT	
		501	550
F	(501)	CAAAAGTGGTTTACTATCCACAAACAAGGCTGTAGTCAGCTTATCAATG	
F _{trunc}	(501)	TAAAGCGGCTCTGTCTCCAGCAACAAGGCGTGGTGTCTCTGAGCAACG	
		551	600
F	(551)	CAGTTAGTGTCTTACCAGCAAGTGTAGACCTCAAAACCTATATAGAT	
F _{trunc}	(551)	CCGTGAGCGTCTCTACCAGCAAGTGTGTGATCTGAACAACTACATGAC	
		601	650
F	(601)	AAACAATTGTTACCCATTTGTGAACAAGCAAGCTGCAGCATATCAACAT	
F _{trunc}	(601)	AAGCAGCTGTGCCCATCTGAAACAAGCAAGCTGCAGCATCAGCAACAT	

Фіг. 1

```

        651                               700
F      (651) TGAACCTGTGATGAATTCCAACAAAGAGCAACAGACTACTAGACATT
F_trunc (651) CGACACAGTGATCGAGTTCCACGAGAAGAGCAACCGGCTGCTGGAATCA

        701                               750
F      (701) CCAGGGAATTAGTGTTAATGCAGGCTAAGTACACCTGTAAGCAGATTAT
F_trunc (701) CCCGGGAGTTGAGCGTGAATGCCGGCCTGAGCACCCCGTGTCCAGCTAC

        751                               800
F      (751) ATGTTAACAAATACAGATTATATCATTAATCAATGATATGCCATATAAC
F_trunc (751) ATGCTGACCAACAGCGAGCTGCTGTCCTGATCAATGACATGCCCATCAC

        801                               850
F      (801) AAAATGATCAGAAAAGTTAATGTCCAACAATCTTCAAATAGTTAGACAGC
F_trunc (801) CAAAGGACCAAAAGAACTGATGAGCAACAACTGCGAGATCTGCGCCAGC

        851                               900
F      (851) AAAGTTACTCTATCATGTCCATATAAAGGAGGAGTCTTAGCATATGTA
F_trunc (851) AGAGCTACAGCATCATGAGCATCATCAAAGACAGGTCCTGGCCTACGTG

        901                               950
F      (901) GTACAAATTACCACTATATGGTGTAAATAGATACACCTGCTTGGAAACTACA
F_trunc (901) GTGCGAGCTGCCCTGTGACGGCTGATCGACACCCGTGCTGGAAGCTGCA

        951                               1000
F      (951) CACATCCCCCTCTATGCACACCAACACAAAGGAAGGGTCCAACATCTGTT
F_trunc (951) CACGAGCCGCCCTGTGCACACCAACACAAAGAGGGCAGCAACATCTGCC

        1001                              1050
F      (1001) TAACAAGAACCGACAGAGGATGGTACTGTGACAATGCAAGGATCAGTGTCT
F_trunc (1001) TGACCCGACCGATAGCGGCTGGTACTGCGACAAACCGCGGCAGCCTGTCTC

        1051                              1100
F      (1051) TTCTTCCCAAGCTGAACATGCAAACTTCAATCGAATCGACTATTTTG
F_trunc (1051) TTCTTCCCAAGCCGACACTGCAAGCTGCAAGAGCAACAGGCTGTTCTG

        <-----
                Праймер В2

        1101                              1150
F      (1101) TGACACAATGAACAGTTTAACATTAACCAAGTGAAGTAAATCTCTGCAACA
F_trunc (1101) CGACACCATGAACAGCCTGACCTGCCAGCGAAGTGAACCTGTGCAACA

        1151                              1200
F      (1151) TTGACATATTCAACCCCAAAATATGATTGCAAAATTATGACTTCAAAAACA
F_trunc (1151) TCGACATCTTTAACCCCAAGTACGACTGCAAAATCATGACCTCCAAACACC

        1201                              1250
F      (1201) GATGTAAGCAGCTCCGTATACATCTCTAGGAGCCATTGTTGTCATGCTA
F_trunc (1201) GACGTGTCCAGTCCGTGATACAGCCTGGGCGCCATCGTGTCTCTCTA

        1251                              1300
F      (1251) TGGCAAACTAAATGTCAGGATCCTAATAAAATCGTGGATCATTAAGA
F_trunc (1251) CGGCAAGACCAAGTGACCGCCAGCAACAAAGAACCGGGCATCATCAAGA

```

Фіг. 1 (продовження)


```

1301                                     1350
F (1301) CATTTTCTAACGGGTGTTGATTATGATCAACCAAGGGCGTGGACACTGTA
F_trunc (1301) CCTTCAGCAACGGGTGCGACTACGTCTCCAATAAGGGCGTGGACACCGTG

1351                                     1400
F (1351) TCTGTAGGTAATACGTTATATTATGTAATAAGCAAGAAGGAAAACTCT
F_trunc (1351) TCCGTGGGCAACACACTGTACTACGTGAACAAGCAGGAAGGCAAGACCT

1401                                     1450
F (1401) CTATGTAAAGGTTGAACCAATAATAATTCTATGACCCATTAGTGTTC
F_trunc (1401) GTACGTGAAGGGCGAGCCCATCAACAACTCTACGACCCCGTGGTGTTC

1451                                     1500
F (1451) CTTCTGATGAATTTGATGCATCAATATCTCAAGTCAATGAGAAGATTAA
F_trunc (1451) CCAGCGACGAGTTTCGACGCGAGCTCAGCCAAGTGAACGAGAAGATCAAT

1501                                     1550
F (1501) CAGAGCCTAGCATTTATTCCTAATCCGATGAATTATACATAATGTAAA
F_trunc (1501) CAGTCCCTGGGCTTCATCAGGAAGAGCGACGAGCTGCTGCACAATGTGAA

1551                                     1600
F (1551) TCTTGGTAAATCCACCACAAATATCATGATAACTACTATAATTATAGTGA
F_trunc (1551) CGTGGGCAACTCCACCACCAACTGA-----
                                         стоп F_trunc

1601                                     1650
F (1601) TTATAGTAATATTGTTATTATTAATTGCAGTTGGGCTGTTCTTACTGTC
F_trunc (1576) -----

1651                                     1700
F (1651) AAGGCCAGAAGCACACCAGTCACACTAAGCAAGGATCAACTGAGTGGTAT
F_trunc (1576) -----

1701                                     1725
F (1701) AAATAATATTGCATTTAGTAACTGA      стоп F
F_trunc (1576) -----

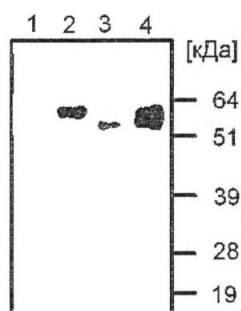
```

Фіг. 1 (продовження)

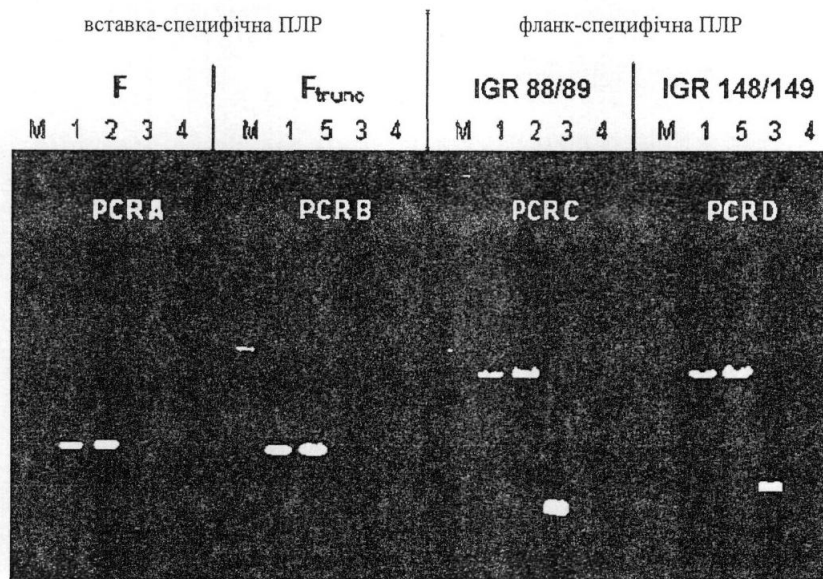
BN_F-trunc, оптимізований проти повнорозмірного BN_F
 Score = 992 bits (2564), Expect = 0.0, ідентичних = 524/524 (100%),
 позитивних = 524/524 (100%), Gaps = 0/524 (0%)

F	1	MDLPILKTNAITTTIFAAVTLCFASSQNITVEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE	60
F _{trunc}	1	MDLPILKTNAITTTIFAAVTLCFASSQNITVEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE	60
F	61	LSNIKENKCNCGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARELPRFMNYTLN	120
F _{trunc}	61	LSNIKENKCNCGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPAANNRARELPRFMNYTLN	120
F	121	NTKNNNVTLSKKRKRFLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS	180
F _{trunc}	121	NTKNNNVTLSKKRKRFLGFLLGVGSAIASGIAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS	180
F	181	LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKSNRLEITREFSVN	240
F _{trunc}	181	LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVINKQSCSISNIETVIEFQQKSNRLEITREFSVN	240
F	241	AGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYV	300
F _{trunc}	241	AGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIEEVLAYV	300
F	301	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
F _{trunc}	301	VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV	360
F	361	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
F _{trunc}	361	QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT	420
F	421	KCTASNKNRGIKTFPNGCDYVSNKGVDTVSGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
F _{trunc}	421	KCTASNKNRGIKTFPNGCDYVSNKGVDTVSGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDP	480
F	481	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLHNVNVGKSTTNIMITTTIIIVIVILL	540
F _{trunc}	481	LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDHELLHNVNVGKSTTN---- 524	
F	541	LIAVGLFLYCKARSTPVTLSKDQLSGINNIAPSN	574
F _{trunc}	541	-----	

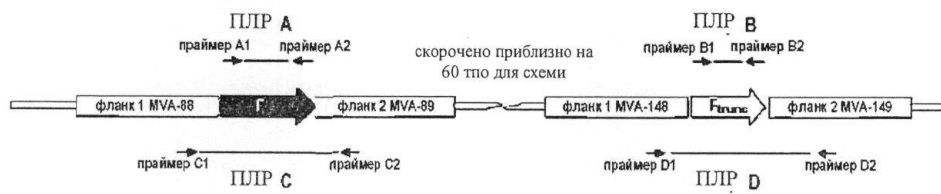
Фиг. 2



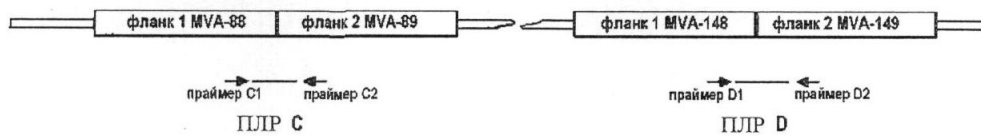
Фиг. 3



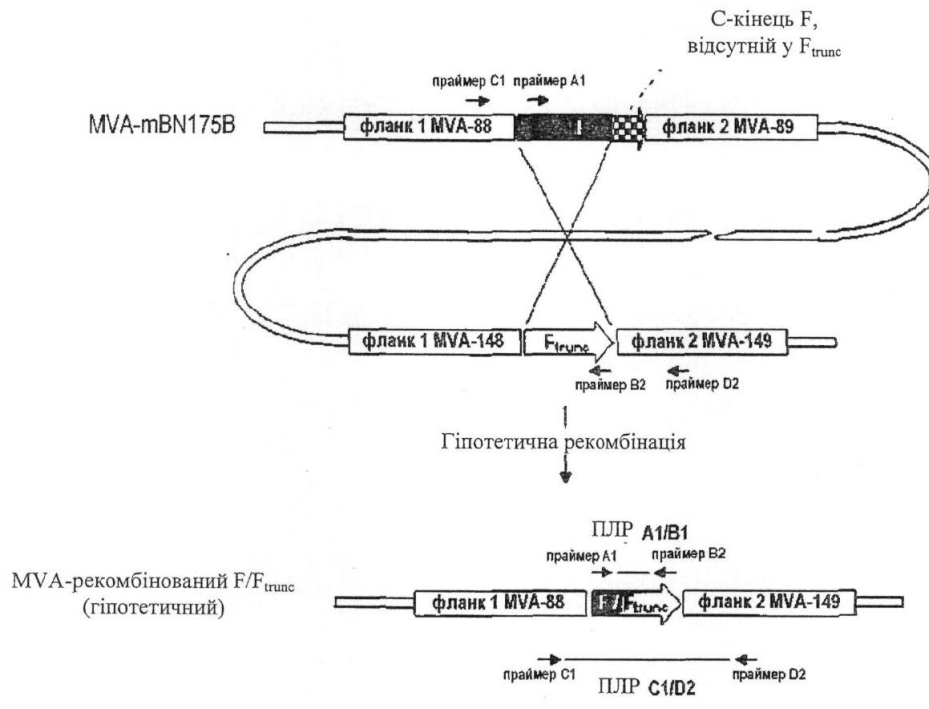
Фіг. 4А



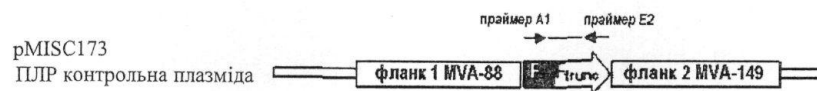
Фіг. 4В



Фіг. 4С



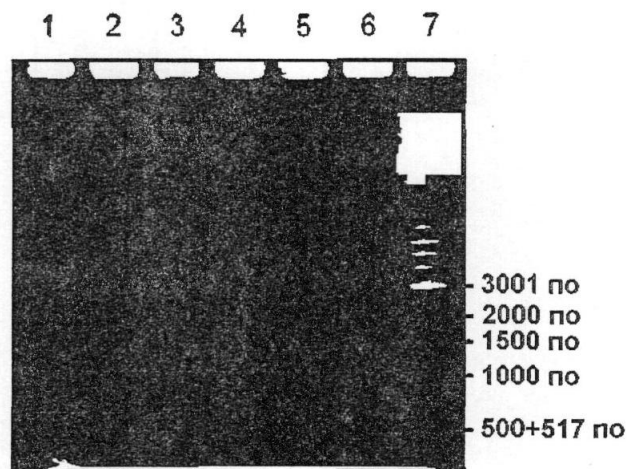
Фіг. 5А



Фіг. 5В



Фіг. 5С



Фіг. 6

```

1                               50
EBOV-B (1) MVTSGGLQLPRERFRKTSFFVWVILFHKKVFPPLGVVNNNTLQVSTIDK
EBOV-S (1) MGLSLLQLPRKFRKSSFFVWVILFQKAFSMPLGVTNTQLEVTIDQ
EBOV-Z (1) MVTSGGLQLPRERFRKTSFFVWVILFQRTFSPLGVVNNNTLQVSTVDK
51                               100
EBOV-B (51) LVCRDKLSTSQLKSVGLNLEGNGVATDVPTATKRWGFRAGVPPKVVNYE
EBOV-S (51) LVCKDHLASTDQLKSVGLNLEGSGVSTDIPATKRWGFRSGVPPKVVSYE
EBOV-Z (51) LVCRDKLSTNQLRSVGLNLEGNGVATDVPTATKRWGFRSGVPPKVVNYE
101                               150
EBOV-B (101) AGEWAENCYNLDIKKADGSECLPEAPEGVRGFPRCRYVHKVSGTGPCFEG
EBOV-S (101) AGEWAENCYNLDIKKFDGSECLPPPEAGVRGFPRCRYVHKVSGTGPCFEG
EBOV-Z (101) AGEWAENCYNLDIKKFDGSECLPAPEAGVIRGFPRCRYVHKVSGTGPCFEG
151                               200
EBOV-B (151) VAFHKFGAFFLYDRLASTIYRSIFSEGVVAFLLILETKKTFSSHPH
EBOV-S (151) VAFHKDGAFFLYDRLASTIYREVNFEGVIAFLILAKPKETFLQSPIN
EBOV-Z (151) FAFHKFGAFFLYDRLASTIYRSIFSEGVVAFLLILQAKKTFSSHPH
201                               250
EBOV-B (201) EKANMTTDTSSVYHIVTINYVADNFGNMNINFLFQVDHITVQLPPEPTP
EBOV-S (201) EAVNYTNTSSVYALISYEYEIENFGAOSTTLFKIDNNTVRLDRPHTP
EBOV-Z (201) EPVNATEDSSGYSTIIRYCATGFCNEEYLFEDNLTVQLPSSHTP
251                               300
EBOV-B (251) QFLVQLNNTIYMERRSNTTGLIWKVNEPTVDEGVGEWAFWENKKNFKET
EBOV-S (251) QFLFQLNDTIHLHQQLSNTTGRLIWTLNADGEWAFWENKKNLSEQ
EBOV-Z (251) QFLVQLNNTIYSEKRSNTTGLIWKVNEPTVDEGVGEWAFWETKKNLIRK
301                               350
EBOV-B (301) LSEELSIVFPRAQDPGSGNCKTKVPTSFANNOGSKNHEDEVDASV
EBOV-S (301) LSEELSIEALSLNETEDDDAASSRITKGRISDRARKYSIVPKNSPGM
EBOV-Z (301) LSEELSITVVGAKNISGSPARTSSDPGTNTIEDHKIMASLSSAM
351                               400
EBOV-B (351) VQVRDLQRENTVPTPPDTPVPTLIPDTMEEQTSHYEPPNISRNHGERN
EBOV-S (351) VPLIPEGETILASQNSTEGRRVGVNTQELITELAATIIGNGNHMCIST
EBOV-Z (351) VQVLSQGEAAVSHLTTLATISSPQSLTIKPGPDNSTHNPVYKLDISE
401                               450
EBOV-B (401) NGAHGETLANNPPNTNTPSTPPDGERSSHTTSPRPVPTSTIHTIRE
EBOV-S (401) IGIRISSSQIPSSSPTAPSPBQPTHTSGPSVMATEEPTPPGSSPG
EBOV-Z (401) AQQVEQHRRRTDNSTASDTPSETTAAGPPKAENTNTSKSDFLDATT
451                               500
EBOV-B (451) THIPPTMTSHDTSNRPNPIDISSSEPGPLTNTTRGAENLTSRRIR
EBOV-S (451) PTTEAPTLITPENITTAVKTVLPQSSSNGTITSTVTGILESGLRKRSR
EBOV-Z (451) SPQNHSEIAGNNITHHQDTGESASSGKLGTTNTIAGVAGITGERIR
501                               550
EBOV-B (501) RITTLRTAKCNPNLHYWTTQDEGAATGAWIPYFGPAEGIYIEGIMHN
EBOV-S (501) RQTNTKATGKCNPNLHYWTAQEQHNAAGIAWIPYFGPAEGIYIEGIMHN
EBOV-Z (501) RIAIVNACPKCNPNLHYWTTQDEGAATGAWIPYFGPAEGIYIEGIMHN
551                               600
EBOV-B (551) QNGLTCGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTSILNRKAIDFLLRWGGT
EBOV-S (551) QNALVCGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTYTILNRKAIDFLLRWGGT
EBOV-Z (551) QDGLTCGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTSILNRKAIDFLLRWGGT
601                               650
EBOV-B (601) CHILGPDCCIEPHDWTKNITDKILQIIHDEFIDKLEPLQTNNDNWWTGWRQ
EBOV-S (601) CRILGPDCCIEPHDWTKNITDKINQIIHDEFIDNLPNQDNDNWWTGWRQ
EBOV-Z (601) CHILGPDCCIEPHDWTKNITDKILQIIHDEFIDKLEPLQTNNDNWWTGWRQ
651                               676
EBOV-B (651) WVPAGIGTGVIIVIALLCCKKLL
EBOV-S (651) WVPAGIGTGIIIAIALLCVCKLLC
EBOV-Z (651) WVPAGIGTVGIIVIALFCCKKLVF

```

Fig. 7

		1	50
EBOV-B неопт	(1)	ATGGTTACATAGCGTTTGTACATTCCCGTGAACTGCTTCACAAAC	
EBOV-S неопт	(1)	ATGGCGGCTTAGCCTAGTCCATTCCAGGGACAAATTTCTAAAG	
EBOV-Z неопт	(1)	ATGGCGCTTAGAGGATTTGCAGTTACCTGCTGATCGTTGAAGGAG	
		51	100
EBOV-B неопт	(51)	ATCTTTTCTTTTGGGTATAATCGTTTTCACAAAGTTTTCCTATCC	
EBOV-S неопт	(51)	CTCTTTTCTTTTGGGTATCATCTTTTTCACAAAGGCTTTTCATGC	
EBOV-Z неопт	(51)	ATCTTTTCTTTTGGGTATTATCTTTTTCACAAAGACATTTCCTATCC	
		101	150
EBOV-B неопт	(101)	CAATGGGCGTAGTTACAAACACACTCTCAGGTAAAGATATAGATGAA	
EBOV-S неопт	(101)	CTTTGGGTGTTGTGACTAACAGCACTTTAGAAGTAACAGAGATTGAACAG	
EBOV-Z неопт	(101)	CACTTGGAGTCATCCACAATACCACATTACAGTTAGTGAATCGAGTAA	
		151	200
EBOV-B неопт	(151)	TTGGTGTGCTGGAGTAACTTTCCTCCACAGTCAGTGAATCGGTCCGG	
EBOV-S неопт	(151)	CTAGTCTGGAAGATCATCTTGGCTTCTACTGACCACTGAAATCAGTTGG	
EBOV-Z неопт	(151)	CTAGTTTGTCTGACAACTGCTATCCACATTCAATTGAGATCGTTGG	
		201	250
EBOV-B неопт	(201)	GCTTAACTAGAAAGGTAAATGGAGTTCCACAGATTTACCAACAGCAACGA	
EBOV-S неопт	(201)	TCTCAACCTGAGGGTAGCGGAGTATCTACTGAATATCCCACTGCAACAA	
EBOV-Z неопт	(201)	ACTGAATCTGAGAGGGAATGGAGTGCACATGACCTGCCATCGCAACTA	
		251	300
EBOV-B неопт	(251)	AAGCTGGGGATTCCGAGCTGGTGTCCACCAAGTGGTGAATACGAA	
EBOV-S неопт	(251)	AACGTTGGGGCTTCAGATCTGGTGTCCCTCCCAAGTGGTGAATAGAA	
EBOV-Z неопт	(251)	AAGCTGGGGCTTCAGTCCGGTGTCCCAACCAAGTGGTGAATTAGAA	
		301	350
EBOV-B неопт	(301)	GCTGGGAGTGGGCTGAAAATGCTACAACCTGGACATGAACAAAGCAGA	
EBOV-S неопт	(301)	GCGGAGAAATGGGCTGAAAATTGCTACAATCTTGAAATAAAAGGCGGA	
EBOV-Z неопт	(301)	GCTGGTGAATGGGCTGAAAATGCTACAATCTTGAAATGAAAAAGCTGA	
		351	400
EBOV-B неопт	(351)	TGGTAGCGAATGGCTACCTAAACCCCTGAGGCTTAAGAGGCTTCCTC	
EBOV-S неопт	(351)	CGGAGAGGATGCTTACCCCAACCCCGATGGTCTCGAGGCTTTCCAA	
EBOV-Z неопт	(351)	CGGAGTGAGTGTCTACCAACCAACCCCGACGGGATTCGGGGCTTCCCA	
		401	450
EBOV-B неопт	(401)	GCTGCCGTTATGTGCACAAGGTTCTGGAACAGGCTCCGTGCTGAATGGT	
EBOV-S неопт	(401)	GCTGCCGCTATGTTCACAAAAGCCCAAGGAACCGGCTCCCTGCTGAGTGAG	
EBOV-Z неопт	(401)	GCTGCCGCTATGTTCACAAAAGGACAGGAACCGGACCTGTGCGGCTGAG	
		451	500
EBOV-B неопт	(451)	TAGGCTTTCACAAAAGAGGGCGCTTTCTTCCTTATGAATGACTGGCATC	
EBOV-S неопт	(451)	TAGGCTTTCACAAGGATGGAGCTTTCTTCCTATGACAGGCTGGCTTC	
EBOV-Z неопт	(451)	TTTGCTTTCAATAAGAGGTGCTTTCTTCCTTATGAATGACTTGCTTC	
		501	550
EBOV-B неопт	(501)	AACATCATATATGAAGCAATGTTTTCAGAAAGCTTGTGGCTTTCT	
EBOV-S неопт	(501)	AACATTAATTATAGAGGCTTAAATTTCTGAGGGGGTAAATGCTTTCT	
EBOV-Z неопт	(501)	CACATTTATATAGAGGAGGAGCTTCTCGAGGCTCTCTGCTTTCT	
		551	600
EBOV-B неопт	(551)	TGATCTCCCGAAACTAAATACGATTTTTCCTATCGTACCACTAGAT	
EBOV-S неопт	(551)	TGATATTGGCTAAACCAAAAGAAACGTTCTTCTAGTCCGCTGATTCGA	
EBOV-Z неопт	(551)	TGATACTGCTCAAGCTAAGAGAGGACTTCTTCTAGCTCCACGCTTGAGA	
		601	650
EBOV-B неопт	(601)	GAACTGCTAAATGACAAACAGCCATCCAGCTAGTAACTACAGTCTCG	
EBOV-S неопт	(601)	GAGGCAATAACTACACTGAAATACATCAAGTTATTATGCCACATCTA	
EBOV-Z неопт	(601)	GAGGCTGCTAAATGCAACGCTAGGCTCTAGTGGCTATTTCTTATCAG	
		651	700
EBOV-B неопт	(651)	ACTTAATTATCTGCTGAGATTTTGGGACCAATATGACTAACCTTTCT	
EBOV-S неопт	(651)	CTTGGGATATCAATCAAAATTTTGGTGTCAACCTCCCTGACCTTT	
EBOV-Z неопт	(651)	AAATTGATATCGGCTACCGGTTTGGAACTATGAGTCAGCTAGTTCT	
		701	750
EBOV-B неопт	(701)	TTCAATGGATCATCAACTATGTGCACTTGAACTAGATTCACTCCCT	
EBOV-S неопт	(701)	TCAAAATGACATAATACCTTTGTTCTCTGGACAGGCCCCACAGCCT	
EBOV-Z неопт	(701)	TGAGCTTGACAAATTGACCTACGTCCTTGAACTCAAGATTCACTCCCT	

Fig. 8A

		751	800
EBOV-B неопт	(751)	CAATTCTGTCCAACTCAATGATACCATTTATAGTAATGGGCTCCAG	
EBOV-S неопт	(751)	CAATTCTCTTCCACTCAATGATACCATTCACCTTCACCAAGGTTGAG	
EBOV-Z неопт	(751)	CAATTCTGCTCCACTCAATGATACAATATATAGTGGGAAAGGAG	
		801	850
EBOV-B неопт	(801)	GAACACACAGGACACTAATTGGAACTAAATCCCTACGTGACACCC	
EBOV-S неопт	(801)	TAAATCAACTGGGAGACTAATTGGACCTGGAGGCTAACCTCAAAGCTG	
EBOV-Z неопт	(801)	GAATACACCGGAAACTAATTGGAGGTCTACCCCGNANTTGAATCAA	
		851	900
EBOV-B неопт	(851)	GCGTAGGTGAATGGGCTTTGGGAAATTAAGAAGAACTTCACAAATCC	
EBOV-S неопт	(851)	ATATTGGTGAATGGGCTTTTGGGAAATTAATAAATCTCTCCGACAA	
EBOV-Z неопт	(851)	CAATCGGGAGTGGGCTTTGGGAACTAAATAAACCTCACTGAGAA	
		901	950
EBOV-B неопт	(901)	CTTTCAGSAGAGAGTGTCTGTCTATTCTACCTAGACCCAGGTCC	
EBOV-S неопт	(901)	GTACTGGAGAAGAGTGTCTCTCGAATCTTTACGCTCAACGAGACAGA	
EBOV-Z неопт	(901)	ATTCGAGSAGAGAGTGTCTCTCACTCTTTATCTAACGAGCCAAAG	
		951	1000
EBOV-B неопт	(951)	AGGACACACAGAGACGAAGGTCAATCCCACTAGCTTCCTCAACAC	
EBOV-S неопт	(951)	AGACGATGAGCGGCATCGTGAATATTACAGAGGGAAGATCTCGAC	
EBOV-Z неопт	(951)	CATCGTGTCTAGTCCCGGGCTAATTTCTTTCAGACCTAGGGAGTACA	
		1001	1050
EBOV-B неопт	(1001)	AACTTCAGACCAAGAGACTTGGTTCAAGGATCCCGCTTGGTG	
EBOV-S неопт	(1001)	GGGCTACAGGATAGTATTCGGACCTGGTTCAAACTATCCCTCGGNTG	
EBOV-Z неопт	(1001)	CACTCACTGAGACCAATAATCATGGCTTCAATAATCCTCTGCAATG	
		1051	1100
EBOV-B неопт	(1051)	GTTCAATTGCGAGACCTCCGAGGGAATACAGTGGCGAGCCACCC	
EBOV-S неопт	(1051)	GTTCCATTGCACTACCAAGAGGGGAATACATTTGCGTTCAGATTC	
EBOV-Z неопт	(1051)	GTTCAATTGCAAGTCAAGGAGGGAAGTGCAATGTGCGCACTCAAC	
		1101	1150
EBOV-B неопт	(1101)	AGACACATCGCCACACTCTGATCTCGACACAAATGAGGAAGAAACCA	
EBOV-S неопт	(1101)	GACACAGGTGAGAGAGTAGGTCTGACATCTAGGAGACCATTAAGAG	
EBOV-Z неопт	(1101)	CCTTGCCACAATCTCTAGGATCCGATATCTCTCAACCAAAACAGTCT	
		1151	1200
EBOV-B неопт	(1151)	CCAGTCAGTAGGAAGCCCAACCTTTCAGAGACCAAGAGAGAGAG	
EBOV-S неопт	(1151)	CACTGCAACCAATTATAGGCATTAAGGGAAACCATAGGAGAGCTCC	
EBOV-Z неопт	(1151)	CGAGAACAGGACCCATAATACCCCTGTATTAACCTGACATCTGAG	
		1201	1250
EBOV-B неопт	(1201)	AGACACGCACACCCGAACTTCGCAAAATCTCCGAGAGCAACATTC	
EBOV-S неопт	(1201)	ATCGGGATAAGACCGAGCTCCAGCAAAATCCGAGTTCTCACCAGCAC	
EBOV-Z неопт	(1201)	GCAGTCAAGTTGAACACACACCGAGAGCAGAAAGACACCAACGC	
		1251	1300
EBOV-B неопт	(1251)	CCGTTGAAACCACTCAAGACGGTACGCGAGTGTTCCTCCACAAATC	
EBOV-S неопт	(1251)	GGCACAAAGCCCTGAGGCTCAGACCCCAAGACCAAGCTCAGGTCTAT	
EBOV-Z неопт	(1251)	CTCCGACATCCCTCTGCCACAGGCTAGCGGCTCCCAAGAGAGAGA	
		1301	1350
EBOV-B неопт	(1301)	CTTCCCTCCGCTCACTCCCACTCCGACAACTCTCCAGCCCAAGAG	
EBOV-S неопт	(1301)	GAGTGTGTGCAAGGATGATCCATCAAGACCAAGCGGAGGCTCCGCGC	
EBOV-Z неопт	(1301)	AAACCAAGAGGACCAAGAGCTGATTTCTGTGTCGGCTCCAGACACA	
		1351	1400
EBOV-B неопт	(1351)	ACTGACATTCCACACAAATGACAAACCACTCAACAGACAGCAATGG	
EBOV-S неопт	(1351)	CGAAGAACAGGACACCACTCTCAACCCCAAGAAATTAACACAGC	
EBOV-Z неопт	(1351)	CTTCCGCAAAACCAAGGAGACCGCTGCAACACAAAGACTCATCTCA	
		1401	1450
EBOV-B неопт	(1401)	ACCCACCGAATCTCTCAGGAGTCTACAGAGCCGGAGCACTCACCA	
EBOV-S неопт	(1401)	CTTTAAAGTGTCTCTCCACAGAGTCCACAGCAACCGGTCTAATACTT	
EBOV-Z неопт	(1401)	AGATACCGAGAGAGAGTGCAGAGAGGGAACTAGGCTAATTACCA	
		1451	1500
EBOV-B неопт	(1451)	ACACCAAGAGGGCTGCAATCTGCTGACAGGCTCAACAGCACTCGGA	
EBOV-S неопт	(1451)	CAACAGTAACAGGGAATCTTGGAGTCTTGGGCTTCAAAACCGAGAGA	
EBOV-Z неопт	(1451)	ATACTATTGCTGGAGTCCGACACTGATCAACCCGAGACAGACTGGA	

Фіг. 8А (продовження)

```

1501                                     1550
EBOV-B неопт (1501) AGGGAATTCACCCCTGAGTACAGTAGGCAATGCAAGCCAAACTACACTA
EBOV-S неопт (1501) AGGCAAGTAACACCTGACCCACGGGTAAAGTGCAATCCCAAGTACACTA
EBOV-Z неопт (1501) AGGCAAGCAATTGCTGCTGCTGCAATGCAAGCCTAATTACATTA
1551                                     1600
EBOV-B неопт (1551) TTGGACATCCCAAGAGGAAAGGGGTGCCATTGGTTTAGCCTGGATCCCTT
EBOV-S неопт (1551) CTGGACATCACAAGAACAACATTAATGCTGCTGGGATTGCCTGGATCCCGT
EBOV-Z неопт (1551) CTGGACATCTCAGGATGAAAGCTGCTGCAATCGGACTGGCCTGGATCCCAT
1601                                     1650
EBOV-B неопт (1601) ACTTGGGCCCCGATGAGAGAGGATATATAGGGAGGGATATGCAAGAA
EBOV-S неопт (1601) ACTTTGGACCGGGTGCGGAAGGCATATAGACTGAGAGGCTGATGCATAAC
EBOV-Z неопт (1601) ATTTGGGCCAGCAGGCCGAGGGATATATAGAGGGGGCTAATGCAAGAA
1651                                     1700
EBOV-B неопт (1651) CAATATGGGCTATTTTGCGGCTTAGGCCACTAGCMAAGAGACCACTCA
EBOV-S неопт (1651) CAATATGCCCTAGTCTGCGGACTTAGCAACTTGCAAGAGAAACAACCTCA
EBOV-Z неопт (1651) CAAGATGCTTATATCTGCGGCTGAGACACTGGCCAACGACCACTCA
1701                                     1750
EBOV-B неопт (1701) AGCCCTACACTTATTCTTCGTGCTACCACTGAATTCCGCACTTCTCTA
EBOV-S неопт (1701) AGCTCTGCAGCTTTTCTTAGAGCCACACAGGAGCTCCGACATAACCA
EBOV-Z неопт (1701) AGCTTCTCAATGTTTCTCTAGAGCCACACTGACTACGACCTTTCAA
1751                                     1800
EBOV-B неопт (1751) TTTTGAAATGAAAAGCCTATCGACTTTTACTCCAGAGATGGGGAGGAACG
EBOV-S неопт (1751) TACTCAATAGGAATGCGATAGATTTCTTCTCCGATGATGGGGGGGAC
EBOV-Z неопт (1751) TCTTCAACGTAAAGCAATTGAACTTTGCTCCAGGATGGGGGGGCACA
1801                                     1850
EBOV-B неопт (1801) TGCCAGATCTTAGGCCCGATGCTGCTATGAGCCCATGATTGGACTAA
EBOV-S неопт (1801) TGCCAGATCTTAGGCCCGATGCTGCTATGAGCCCATGATTGGACAAA
EBOV-Z неопт (1801) TGCCAGATTTTAGGCCCGGACTGCTGATCGAACCATGATTGGACCAA
1851                                     1900
EBOV-B неопт (1851) GAACATTACGAGAAAATATACATCATTCATGATTTCTTGAAGAAC
EBOV-S неопт (1851) AAACATCACAGATAAAATCAACCAATCATCCATGATTTATCGACAAC
EBOV-Z неопт (1851) GAACATAACAGAGAAAATTAACAGATTATTCATGATTTTGTGAAGAA
1901                                     1950
EBOV-B неопт (1901) CTGTACCAATCAACAGATTAATGAATTTGGTGGACAGGGTGGAGGCA
EBOV-S неопт (1901) CCTTACCTAATCAGGATAATGATGATAATTTGGTGGACGGCTGGAGACAG
EBOV-Z неопт (1901) CCTTCCCGACCAAGGGGACATGAATTTGGTGGACAGGATGGAGACAA
1951                                     2000
EBOV-B неопт (1951) TGGGTTCCGCGCGGATCGGGCTCACGGGGCTAATATCGCACTTATAGC
EBOV-S неопт (1951) TGGGTTCCCGCAGGAATAGGCCTACTGGAATATTATGCAATTATTGC
EBOV-Z неопт (1951) TGGATACCGGCAGGTATTGGAGTACAGGCCTATATATGCACTTATCGC
2001                                     2031
EBOV-B неопт (2001) ACTGCTGTGATTTGCAATTTTACTCTGAA
EBOV-S неопт (2001) TCTTTTGTGCTTTGCAAGCTGTTTCTGTA
EBOV-Z неопт (2001) TTTATCTGCTATGCAATTTGCTCTTGA

```

Фіг. 8А (продовження)


```

1                               50
EBOV-B oпт (1) ATGGTCACATCTGGATTCTCCAGCTCCCTAGGGAACCGTTCCGGAAAC
EBOV-S oпт (1) ATGGCCCGCCTGAGCGCTGCTCCAGCTGCCCGCGAGACAGTTCCGGAAATC
EBOV-Z oпт (1) ATGGCCCGTGAAGGCTTCTCCAGCTCCCGAGAGACAGATTCAAGCGGAC
51                               100
EBOV-B oпт (51) CAGTTTCTTTCTTGGGTATCATCTCTTCCATAAGCTGTTCCTATCTC
EBOV-S oпт (51) CAGCTTCTTCTGTGGGTGATCATCTCTTCCAGAAAGCTTCAGGATGC
EBOV-Z oпт (51) CTCCTTTTCTCTGGGTATCATTCTCTTTCAAGGACCTTCTCATCTC
101                               150
EBOV-B oпт (101) CCTGGGGGTCTCCATAAATAACATTGCAAGTGCAGATCTGATAG
EBOV-S oпт (101) CCTGGGCGTCTGACCAACATACCTGAAAGTGACGAGATCGAGCAG
EBOV-Z oпт (101) CTCTGGGCGTATCCACAATAAGACCGCTCAGGTGTCGACGTGGAAGAG
151                               200
EBOV-B oпт (151) TTCTGTGTCCGATAAAGTCACTTACCTCCAGCTGAAAGCGTCGG
EBOV-S oпт (151) CTCTGTGTGAAGGACACCTGGCGAGACCGACAGCTGAAGTCCGTGG
EBOV-Z oпт (151) CTCTGTGTGCGCGAGAGCTGCTCTCCACCAACCCAGCTGAGAAACGTGG
201                               250
EBOV-B oпт (201) CTTCAAGCTGAAGGGAATGGTGTCCCACTGATCTCCTATGCCCACAA
EBOV-S oпт (201) CTTCAAGCTGGAAGGAGCGGCTGAGCACCAGATCCCTAGGCCACCA
EBOV-Z oпт (201) GCTCAATCTGAGGGCAAGCGCTGCGCACAGAGCTGCCCTGAGCCACA
251                               300
EBOV-B oпт (251) AAGCATGGGGTTTCCCGCTGGTGTCCGCCAAAAGTGTCTAGATAGAA
EBOV-S oпт (251) AAGCATGGGGTTTCAAGTCCGGGTGCCGCCCAAGGTGTCTCTTAAGAG
EBOV-Z oпт (251) AAGCTTGGGGTTTCCGAGCGGGTCCCTCCTAAAGTCTGATAGCAG
301                               350
EBOV-B oпт (301) GCTGGGGAATGGGCAGAGAAATGTATATACTGACATTAAAGGCGGA
EBOV-S oпт (301) GCCGGGAGTGGGCCGAGAACTGTATGAACCTGAAATGAAGAAAGCGGA
EBOV-Z oпт (301) GCAGGGGAATGGGCTGAAAAATGTATAAATCTCGAGATGAAGAAAGCAGA
351                               400
EBOV-B oпт (351) GGGCTCGGAGTGTCTCCCTGAAGCTCCTGAGGGCTTCGCGGATTCCCA
EBOV-S oпт (351) CGGCAGCGAGTGTCTCCTCGCCCTCCCGATGGCTGAGAGGCTTCCCCC
EBOV-Z oпт (351) GGGCTCTGAGTGCCTCCTCGCCGCCAGCAGCGGCATCAGGGCTTCCCT
401                               450
EBOV-B oпт (401) GATGTGCTAGTCCATAAAGTCTCTGGACCGGCCCTGGCTGAAGGA
EBOV-S oпт (401) GGTGCAGATAGTGCACAAAGCACAAGGACCGGTCCATGCGCAGCGGAC
EBOV-Z oпт (401) GATGCGCTATGTCCAGAAAGCTAGTGGTACAGGCTCTGTGCCGCGCAT
451                               500
EBOV-B oпт (451) TAGGCCTTTCATAAAGAGGCGCTTTTCTCTATGATCGCCTGGCTTC
EBOV-S oпт (451) TAGGCCTTCCACAAGGACGGCGCTTTTCTCTAGGACCGCTCGGCTTC
EBOV-Z oпт (451) TTTGCCCTTCACAAAGAGGCGCTTTCTTTCTATAGAGAGCTCGCGAG
501                               550
EBOV-B oпт (501) GACAATTATCTATCGCTCTACTACTTCTCCGAGGGGTGTCTGCTTTTC
EBOV-S oпт (501) GACCTGATCTAGCGGCGCGTGAACCTTCCCGAGGGGTGATGCTCTTCC
EBOV-Z oпт (501) TACACTGATATACCGAGGCTACTACTTCTCCGAGGGGTGTCTGCTTTTC
551                               600
EBOV-B oпт (551) TCATCTCCTCCGAGACAAAAGAACTTTCTTCCAGTCCCGCCCTTCCAT
EBOV-S oпт (551) TCATCTCTGCCAAGCCAAAGAGACATTCCTGCAGAGCCCGCCATCAGG
EBOV-Z oпт (551) TCATCTCTGCCAAGCCAAAGAGACATTCCTTCAGCAGCCACCCCTTACA
601                               650
EBOV-B oпт (601) GAGGCTGCCAATATGACTACCTCTTCTCTCTTACTATCTATACGTCAG
EBOV-S oпт (601) GAGGCGGTGAAGTACACCGAGAAACACAGCAGCTACTAGGCTAGCTGTA
EBOV-Z oпт (601) GAAGCGGTGAAGGCTACAGAGGACCCAGCAGGCGGCTACTACAGCAAGAG
651                               700
EBOV-B oпт (651) AGTCGAATTATCTCCTCTATAACTTCGGGCTTACATGACCAACTTTCTGT
EBOV-S oпт (651) CCTGGATCTGAGATCGAGAACTTCGGCGCCAGCACAGCAACACCTGT
EBOV-Z oпт (651) ATCTGAGCTCTCGGCGACAGGCTTCGGGACCAATGAGACAGAGCTGCTGT

```

Fig. 8B

```

701                                     750
EBOV-B опт (701) TCCAGCTGACCACTGACATATGTCCAGCTCGAGCCTCGCTTACCCCA
EBOV-S опт (701) TCAAGATGACACACACCTTGTGCGGCTCGACAGACCACACCCCC
EBOV-Z опт (701) TCGAGCTGGACACCTGACCTAGCTGAGCTGGAAAGCCGTTACCCCT

751                                     800
EBOV-B опт (751) CAGTTCTCTGTCAGCTCAATGAACTATCTAATTAAGGAGGGCCTC
EBOV-S опт (751) CAGTTCTCTGTCAGCTGAAAGACACCATCCACTGCTCAGACAGCTGTC
EBOV-Z опт (751) CAGTTCTCTGTCAGCTCAAGAGACAATCTAAGCTCCGCAAGCAGAG

801                                     850
EBOV-B опт (801) TAATACCAACGGGACCTGATTTGGAAGTCAATCCACTGTCCATCCG
EBOV-S опт (801) CAATACCAACGGGAGACTGATCTGGACCTCGAGGCCATCAACGCCG
EBOV-Z опт (801) CAATACCAACGGGAGCTGATCTGGAAGTCAATCCGAGATCCATCCA

851                                     900
EBOV-B опт (851) GGTGGGAGATGGGCCTTTGGGAAACAAGAAGAACTTTACCAAGACC
EBOV-S опт (851) AATGGGTGAATGGGCTTTGGGAGAAAGAAGAATGTAGCGGAGCA
EBOV-Z опт (851) CTATAGGGGATGGGCTTTGGGAAACTAAGAAGAACTCAACCGGAG

901                                     950
EBOV-B опт (901) CTGAGTACGAGGAAGCTCTGTGATCTTTGTGCTGCGCTCACTCC
EBOV-S опт (901) CTGCGGGCGAAGAACTGAGCTTGAGGCCCTGAGGCTGAACGAGCAG
EBOV-Z опт (901) ATCTGATCCGAGGAAGTGTCTTGAAGCTGCTGTCAAGCGGCCAAGAA

951                                     1000
EBOV-B опт (951) TCGATCAACCAAAAGCTAAGTCAACCTACATCTTTTCCAACAC
EBOV-S опт (951) GACGAGCAGCGCCGAGCGCTGATCCCAAGCGGGATCAGCGAGC
EBOV-Z опт (951) CATTGAGGAGAGGCTCGCGCAAGAGAGGAGCGAGCTCCGCACCAACA

1001                                     1050
EBOV-B опт (1001) AGACAGCAAGAACATGAGCACTCGGCTCCCAAGATCTGCTGTG
EBOV-S опт (1001) GGGCCAGCAGAGTAAGGCACTCTGCGCCAAAGAGCGCGCTGTG
EBOV-Z опт (1001) CCAAGCAGGAGAGCAAGCAATCATGCGGAGCTCAAGATCGAGCGCTGTG

1051                                     1100
EBOV-B опт (1051) GTCCAGCTCGGGACCTCCAGCGGAATACTCTGCTTACCCCCCT
EBOV-S опт (1051) GTCCCTCTGCAATCCCGAGGGGAGAGAACTCTCGCTAGTCAGATAG
EBOV-Z опт (1051) GTCCAGCTCAAGCCAGGGAAGAGAGCTCGCGCTGAGCCACTGAGCAG

1101                                     1150
EBOV-B опт (1101) TGATACCTCCCTACTAGCTCAATCTCGATACATGGAAGAGAGACCA
EBOV-S опт (1101) CACCGAGCGGAGAGCGGTGGCCGAGACCTCCAGAGAGCATCAGCAGAG
EBOV-Z опт (1101) ACTGGGACCTTCAGCAGGACCCCCAGAGCTTACCAAGAACCTGGC

1151                                     1200
EBOV-B опт (1151) CTTCTCTTACGAGCACCCTAAGATCTCTAGAGATACAGGAACGAAT
EBOV-S опт (1151) CAGCGGCTACCTCATTTGGTACTAACGGCAACACATGAGATCAGTACC
EBOV-Z опт (1151) CCGAGAGAGGACACACAACAGCCCCGTGTAGAGCTGAGATCAGGAG

1201                                     1250
EBOV-B опт (1201) AACACCGCTCATCCGAGACTCTGGCTAATAACCCCGCAAGTAATAC
EBOV-S опт (1201) ATCGGCATCCGCGAGCAGCAGTCCAGTCCCAAGTAGTAGTCCACAC
EBOV-Z опт (1201) GCCAGCCAGGTGAGCAGCAGCAGACGAGACGAGACAGCAGCAGC

1251                                     1300
EBOV-B опт (1251) CCTAGTACCCCCCTCAGGACGGGAGAGAACAGTTCCCTACTACAC
EBOV-S опт (1251) AGCCCTAGCCCGAGCGCGAGACCCCTACCAAGAGACAGCGCGCTA
EBOV-Z опт (1251) CAGCGATACCCCTCTGCGACCAAGCCCGGAGCCCTATCGCGAGAG

1301                                     1350
EBOV-B опт (1301) CTTCCCAAGACCTCCCTACATCTAGGATTCATCCACCAACCGCGAG
EBOV-S опт (1301) GCGTGATGGCAGCAGGAACCTACAGCCCTCTGCTGAGCAGCGCAGT
EBOV-Z опт (1301) ATACCAACACGAGCAGAGGACCGGATTTTGTGCTCAGGCAACCAACC

1351                                     1400
EBOV-B опт (1351) AACACCTTCTCTAGCTATGACCAATCCATACAGCGATTCAATCG
EBOV-S опт (1351) CCAACTCCGAGGCAACACCCCTGACCAACCCCAAGACATCAACCAAGC
EBOV-Z опт (1351) AGTCCACAGACCAAGCGAAGCGCGGCAAGCAATACCAACCA

```

Фиг. 8В (продовження)

```

1401                                     1450
EBOV-B опт (1401) GCCTAACCCATCGATATCAGCCAAATCTACCGACCCGGACCCCTACAA
EBOV-S опт (1401) CCGTGAATAAGCTGCTGCCCCAGTAAAGCAGCGCAACGGCCCTATACCA
EBOV-Z опт (1401) GGACACGGGCAACCAAGCGCCAGCTCTGGCAAGCTGGGCTCATTACCA
1451                                     1500
EBOV-B опт (1451) ATACAAACCGCGGAGCCCTTAATCTGCTGAGTCCCTCCCGCGCATTCGA
EBOV-S опт (1451) GGACCGGAGCGGCACTCTGCCAGCCTGGGCTGCGCAACCGGAGCAGA
EBOV-Z опт (1451) ACACAACTGGCGGCTTGGCCGCACTGATCAGCCCGGCAGACCGGAGCAGA
1501                                     1550
EBOV-B опт (1501) AGAGAAATCACCCGCGAACAACAGCCCAACTGTAACCCAAACTCTCATT
EBOV-S опт (1501) GGCACACGCAACACCAAGCCGACCGCAACTGCAACCCCAACTGCAGTA
EBOV-Z опт (1501) GGCACAGGCATCGTCAACCGCCAGCCCAATGTAATCCTAATCTCAGTA
1551                                     1600
EBOV-B опт (1551) TTGGACAAACAGGATCAAGCGGCGCTATGGCTTGGCTTGGATCCCTT
EBOV-S опт (1551) CTGGACGGCCAGGAACACCAAAACGCGCTGGGATGCCCTGGATCCCT
EBOV-Z опт (1551) TTGGACCAACAGGACCAAGCGGCTGCAATCGGAATGGCATGGATTCCCTT
1601                                     1650
EBOV-B опт (1601) ATTTGGGCTTGGAGCCGAGGGATCTAAGCGAAGGTATAATGCAAT
EBOV-S опт (1601) AATTTGGTCCGGTGCTGAGGGAATATACAGCGAGGCGCTGATGGCAAA
EBOV-Z опт (1601) AATTTGGACCAAGCGCTGAAGGATCTAATATCGAGGGCTCATGCAAA
1651                                     1700
EBOV-B опт (1651) CAGAAAGCGCTGATTTGGGGCTGGCCAGCTCGCAAGGAACTACCCA
EBOV-S опт (1651) CAGAAAGCCCTGGTGTGGGGCTGAGACAGCTGGCAAGCAAACTCA
EBOV-Z опт (1651) CAGGATGCTCTGATTTGTGGTCTCGGCAGCTGGCTAATGAAACACACA
1701                                     1750
EBOV-B опт (1701) GGCCCTGCAGCTCTTCTCGGGCTACTACCGAACTGGCAACTTTCCA
EBOV-S опт (1701) GGCACTGCAGCTCTTCTCTGGGGCCACCACGAGCTGGGACCTACCCA
EBOV-Z опт (1701) GGCTCTGCAGCTCTTCTCAGAGCCACAACAGAGCTGAGAACTTCAGCA
1751                                     1800
EBOV-B опт (1751) TCTCTAATAGCAAGCTATGATTGTTGCTCCAGCGCTGGGGGGGAAC
EBOV-S опт (1751) TCCTGAACAGCAAGGCCATGAACTTTGTGCTGCGGAGATGGGGCGGAC
EBOV-Z опт (1751) TCTCTAAGCGCAAGCTATGAACTTCTGCTCCAGCATGGGGAGGACA
1801                                     1850
EBOV-B опт (1801) TGTATATCCTCGGACCGGATGCTGTAATTGACCCACATGATTGGACTAA
EBOV-S опт (1801) TGTAGAATCCTCGGCCCGACTGCTGCATCGAGCCCAAGACTGGACCAA
EBOV-Z опт (1801) TGCATATCCTCGGGCCTGATGTTGTAATGAACCTCAGGATTGGACAAA
1851                                     1900
EBOV-B опт (1851) AAAGATCACTGACAAAATTGACAGATGATTCAAGATTGATGATAAA
EBOV-S опт (1851) GAATATCAACGACAAAGATCAACCAGATGATCCACGATTTCTTCGAAGAC
EBOV-Z опт (1851) GAAGATTACAGATAAGATCAATCAGATTATCAAGATTTGTGGGAAGA
1901                                     1950
EBOV-B опт (1901) CCCTCCCCATCAGACTCATATGAGAAATGGTGGACGGGATGGCGCCAG
EBOV-S опт (1901) CCCTCCCCAACCAGTACAACGAGGAACTGGTGGACTGGTGGGAGACAG
EBOV-Z опт (1901) CCCTCCCCATCAGCGCCAGTAAAGATAATGGTGGACAGGTGGAGACAG
1951                                     2000
EBOV-B опт (1951) TGGGTGCCCGCTGGCATGGCATACAGGTCTCATATGCCCCTATTGTC
EBOV-S опт (1951) TGGATCCCTGCGCGCATCGGCATCAGCGGCATCATCATGCCATTATGTC
EBOV-Z опт (1951) TGGATTCAGCGGGCATGGCGTGACGGCGTGATATCGCCCTCATGTC
2001                                     2031
EBOV-B опт (2001) ACTCGTGTATCTGTAAATTTCTGCGTGA
EBOV-S опт (2001) TCTCTCTGTGTGTGAACTCTCTCTGTA
EBOV-Z опт (2001) CCTGTTCTGATCTGCAAGTTCTGTCTGTA

```

Фіг. 8В (продовження)

	1	50
EBOV-B неопт	(1) ATGGTTACATCAGGAATTCTACAATTGCCCGTGAACGCTTCAGAAAAAC	
EBOV-S неопт	(1) ATGGGGGTCTTAGCCTACTCCAATTGCCAGGGACAAATTCGGAAAAAG	
	51	100
EBOV-B неопт	(51) ATCATTTTTGTGTTGGGTAATAATCCTATTTACAAAAGTTTCCCTATCC	
EBOV-S неопт	(51) CTCTTTCTTTGTTGGGTCATCATCTTATTCCAAAGGCCTTTCCATGC	
	101	150
EBOV-B неопт	(101) CATTGGGCGTAGTTCCACAACACACTCTCCAGGTAAGTGATATAGATAAA	
EBOV-S неопт	(101) CTTTGGGTGTTGTGACTAACAGCACTTTAGAAAGTAACAGAGATTGACCAG	
	151	200
EBOV-B неопт	(151) TTGGTGTGCCGGGATAAACTTTCCTCCACAAGTCAGCTGAAATCGGTCGG	
EBOV-S неопт	(151) CTAGTCTGCAAGGATCATCTTGCATCTACTGACCAGCTGAAATCAGTTGG	
	201	250
EBOV-B неопт	(201) GCTTAATCTAGAAGGTAATGGAGTTGCCACAGATGTACCAACAGCAACGA	
EBOV-S неопт	(201) TCTCAACCTCGAGGGGAGCGGAGTATCTACTGATATCCCATCTGCAACAA	
	251	300
EBOV-B неопт	(251) AGAGATGGGGATTCCGAGCTGGTGTTCACCCAAAGTGGTGAACCTACGAA	
EBOV-S неопт	(251) AGCGTTGGGGCTTCAGATCTGGTGTTCCTCCCAAGGTGGTCAGCTATGAA	
	301	350
EBOV-B неопт	(301) GCTGGGGAGTGGGCTGAAAACTGCTACAACCTGGACATCAAGAAAGCAGA	
EBOV-S неопт	(301) GCGGGAGAAATGGGCTGAAAAATTGCTACAATCTTGAATAAAGAAGCCGGA	
	351	400
EBOV-B неопт	(351) TGGTAGCGAATGCCTACCTGAAGCCCTGAGGGTGTAGAGGCTTCCCTC	
EBOV-S неопт	(351) CGGGAGCGAATGCTTACCCCAACCCAGATGGTGTGAGAGGCTTCCCAA	
	401	450
EBOV-B неопт	(401) GCTGCCGTATGTGCACAAGGTTTCTGGAACAGGGCCGTGCCCTGAGGT	
EBOV-S неопт	(401) GGTGCCGTATGTTCACAAAGCCCAAGGAACCGGGCCCTGCCAGGTGAC	
	451	500
EBOV-B неопт	(451) TACGCTTTCACAAAGAAGGCGCTTCTCTCTGTATGATCGACTGGCATC	
EBOV-S неопт	(451) TACGCCTTTCACAAAGGATGGAGCTTCTCTCTCTATGACAGGCTGGCTTC	
	501	550
EBOV-B неопт	(501) AACAAATCATCTATCGAAGCACCACGTTTTCAGAAGGTGTTGTGGCTTCT	
EBOV-S неопт	(501) AACTGTAAATTACAGAGGAGTCAATTTTGTGAGGGGTAATTGCATTCT	
	551	600
EBOV-B неопт	(551) TGATCCTCCCGAAACTAAAAAGGACTTTTTCCAATCGCCACCACATACAT	
EBOV-S неопт	(551) TGATATTGGCTAAACCAAAAGAACGTTCTCTTCACTCAGTCAACCCCAATCGA	
	601	650
EBOV-B неопт	(601) GAACCGGCCAATATGACAACAGACCCATCCAGCTACTACCACACAGTCAAC	
EBOV-S неопт	(601) GAGGCAGTAAACTACACTGAAAAATACATCAAGTTATTATGCCACATCCTA	
	651	700
EBOV-B неопт	(651) ACTTAATTATGTGGCTGACAATTTTGGGACCAATATGACTAACTTCTGT	
EBOV-S неопт	(651) CTTGGAGTATGAAATCGAAAATTTTGGTGCTCAACACTCCACGACCTTT	
	701	750
EBOV-B неопт	(701) TTCAGTGGATCATCTAACTTATGTGCAACTTGAACCAAGATTACACCA	
EBOV-S неопт	(701) TCAAAATTGACAATAATACTTTTGTTCGTCTGGACAGGCCCAACAGCCCT	
	751	800
EBOV-B неопт	(751) CAATTTCTTGCCAACTCAATGAGACCATTTATACTAATGGGCGTGCAG	
EBOV-S неопт	(751) CAGTTCCTTTTCCAGCTGAATGATACCATTCACCTTCACCAACAGTTGAG	
	801	850
EBOV-B неопт	(801) CAACACCACAGGAACACTAATTTGGAAAGTAAATCCTACTGTTGACACCG	
EBOV-S неопт	(801) TAATACAACTGGGAGACTAATTTGGACACTAGATGCTAATATCAATGCTG	
	851	900
EBOV-B неопт	(851) GCGTAGGTGAATGGGCCTTCTGGGAAAAATAAGAAGAACTTCACAAAAACC	
EBOV-S неопт	(851) ATATTGGTGAATGGGCTTTTGGGAAAAATAAAAAAATCTCTCCGAACAA	
	901	950
EBOV-B неопт	(901) CTTTCAAGTGAAGAGCTGTCTGTATATTTGTACCAAGAGCCCAGGATCC	
EBOV-S неопт	(901) CTACGTGGAGAAGAGCTGTCTTTCGAAGCTTATCGCTCAACGAGACAGA	
	951	1000
EBOV-B неопт	(951) AGGCAGCAACCAGAAAGACGAAGGTCCTCCACAGCTTCGCCAACAAACC	
EBOV-S неопт	(951) AGACGATGATCGGCATCGTCGAGAATTACAAAGGGAAGAATCTCCGACC	

Фиг. 9А

		1001	1050
EBOV-B неопт	(1001)	AAACCTCCAAGAACACGAGACTTGGTTCCAGAGGATCCCGCTTCAGTG	
EBOV-S неопт	(1001)	GGGCCACCAGGAAGTATTCGGACCTGGTTCCAAAGAAATTCCTCGGATG	
		1051	1100
EBOV-B неопт	(1051)	GTTCAAGTCCGAGACCTCCAGAGGGAAAAACACAGTCCCGACCCACCCCC	
EBOV-S неопт	(1051)	GTTCCATTGCACATACCAGAAGGGGAAACAACATTGCCGTCTCAGAATTC	
		1101	1150
EBOV-B неопт	(1101)	AGACACAGTCCCCACAACCTCTGATCCCCGACACAATGGAGGAACAAACCA	
EBOV-S неопт	(1101)	GACAGAAGGTGGAAGAGTAGGTGTGAACACTCAGGAGACCATTACAGAGA	
		1151	1200
EBOV-B неопт	(1151)	CCAGCCACTACGAACCACCAACATTTCCAGAAACCATCAAGAGAGGAAC	
EBOV-S неопт	(1151)	CAGCTGCAACAATTATAGGCACTAACGGCAACCATATGCAGATCTCCACC	
		1201	1250
EBOV-B неопт	(1201)	AACACCGCACACCCCGAAACTCTCGCCAACAATCCCCGACACAACACAAC	
EBOV-S неопт	(1201)	ATCGGGATAAGACCGAGCTCCAGCCAAATCCCGAGTTCCTCACCGACCAC	
		1251	1300
EBOV-B неопт	(1251)	CCCGTCGACACCACCTCAAGACGGTGAGCGGACAAGTTCACACACAACAC	
EBOV-S неопт	(1251)	GGCACAAGCCCTGAGGCTCAGACCCCAACCCACACATCAGGTCCAT	
		1301	1350
EBOV-B неопт	(1301)	CCTCCCCCGCCAGTCCCAACCAGCACAAATCCATCCCACCACACGAGAG	
EBOV-S неопт	(1301)	CAGTGATGGCCACCGAGGAACCAACAACACCACCGGAAGCTCCCCGGGC	
		1351	1400
EBOV-B неопт	(1351)	ACTCACATTCCCACCAATGACAACAAGCCATGACACCGACAGCAATCG	
EBOV-S неопт	(1351)	CCAACAACAGAAGCACCCACTCTCACCACCCAGAAAATATAACACAGC	
		1401	1450
EBOV-B неопт	(1401)	ACCCAACCAATTGACATCAGCGAGTCTACAGAGCCAGGACCACTCACCA	
EBOV-S неопт	(1401)	GGTTAAACTGTCTGCCACAGGAGTCCACAAGCAACGGTCTAATAACTT	
		1451	1500
EBOV-B неопт	(1451)	ACACCACAAGAGGGGCTGCAAATCTGCTGACAGGCTCAAGAAGAACCCTGA	
EBOV-S неопт	(1451)	CAACAGTAACAGGGATTCTTGGGAGTCTTGGGCTTCGAAAACGCAGCAGA	
		1501	1550
EBOV-B неопт	(1501)	AGGGAAATCACCTGAGAACACAAGCCAAATGCAACCCAAACCTACACTA	
EBOV-S неопт	(1501)	AGACAACTAACACCAAAGCCACGGGTAAAGTCAATCCCACTTACACTA	
		1551	1600
EBOV-B неопт	(1551)	TGGGACAAACCAAGATGAAGGGGCTGCCATTGGTTTAGCTGGATACCTT	
EBOV-S неопт	(1551)	CTGGACTGCACAAGAACACATAATGCTGCTGGGATTGCCTGGATCCCGT	
		1601	1650
EBOV-B неопт	(1601)	ACTTCGGGCCCGCAGCAGAGGGAATTTATACGGAAGGGATAATGCACAAT	
EBOV-S неопт	(1601)	ACTTTGGACCGGTGCGGAAGGCATATACACTGAAGGCCTGATGCATAAC	
		1651	1700
EBOV-B неопт	(1651)	CAAAATGGGCTAATTGCGGGTTGAGGCAGCTAGCAAAATGAGACGACTCA	
EBOV-S неопт	(1651)	CAAAATGCCTTAGTCTGTGGACTTAGGCCAATTGCAAAATGAAACAACCTCA	
		1701	1750
EBOV-B неопт	(1701)	AGCCCTACAGTTATTCTTGCCTGCTACCAACGGAATTGCGCACTTTCTCTA	
EBOV-S неопт	(1701)	AGCTCTGCAGCTTTTCTTAAGAGCCACAACGGAGCTGCGGACATATACCA	
		1751	1800
EBOV-B неопт	(1751)	TATTGAATCGAAAAGCCATCGACTTTTACTCCAAAGATGGGGAGGAACG	
EBOV-S неопт	(1751)	TACTCAATAGGAAGCCATAGATTTCTTCTGCGACGATGGGGCGGGACA	
		1801	1850
EBOV-B неопт	(1801)	TGCCACATCTTAGGCCAGATTGCTGTATTGAGCCCCATGATTGGACTAA	
EBOV-S неопт	(1801)	TGCAGGATCCTGGGACCAGATTGTTGCATTGAGCCACATGATTGGACAAA	
		1851	1900
EBOV-B неопт	(1851)	GAACATTACTGACAAAATAGATCAAAATCATTCATGATTTTCATTGATAAAC	
EBOV-S неопт	(1851)	AAACATCACTGATAAAATCAACCAATCATCCATGATTTTCATCGACAACC	
		1901	1950
EBOV-B неопт	(1901)	CTCTACCAGATCAAACAGATAATGACAAATTGGTGGACAGGGTGGAGGCAA	
EBOV-S неопт	(1901)	CCTTACCTAATCAGGATAATGATGATAATTGGTGGACGGGCTGGAGACAG	
		1951	2000
EBOV-B неопт	(1951)	TGGGTTCCTGCCGGGATCGGGATCAGGGGGTAATAATCGCAGTTATAGC	
EBOV-S неопт	(1951)	TGGATCCCTGCAGGAATAGGCATTACTGGAATTATTATTGCAATTATTGC	

Фіг. 9А (продовження)

		2001	2031
EBOV-B неопт	(2001)	ACTGCTGTGTATTTGCAAATTTCTACTCTAA	
EBOV-S неопт	(2001)	TCTTCTTTGCGTTTGCAAGCTGCTTTGCTGA	
		1	50
EBOV-B неопт	(1)	ATGGTTACATCAGGAATTCTACAATTGCCCGTGAAACGCTTCAGAAAAAC	
EBOV-Z неопт	(1)	ATGGGCGTTACAGGAATATTGCAGTTACCTCGTGATCGATTCAAGAGGAC	
		51	100
EBOV-B неопт	(51)	ATCATTTTGTGTTGGGTAATAATCCTATTTTCAAAAGTTTTCCTATCC	
EBOV-Z неопт	(51)	ATCATTTCTTCTTTGGGTAATTATCCTTTTCCAAAGAACATTTTCCATCC	
		101	150
EBOV-B неопт	(101)	CATTGGGCGTAGTTTCACAACAACACTCTCCAGGTAAGTGATATAGATAAA	
EBOV-Z неопт	(101)	CACATTGGAGTCATCCACAATAGCACATTACAGGTTAGTGATGTCGACAAA	
		151	200
EBOV-B неопт	(151)	TTGGTGTGCCGGGATAAACTTTCTCCACAAGTCAGCTGAAATCGGTCCG	
EBOV-Z неопт	(151)	CTAGTTTGTCTGTCGACAACTGTCTATCCACAAATCAATTGAGATCAGTTGG	
		201	250
EBOV-B неопт	(201)	GCTTAATCTAGAAGGTAATGGAGTTGCCACAGATGTACCAACAGCAACGA	
EBOV-Z неопт	(201)	ACTGAATCTCGAAGGGAATGGAGTGGCAACTGACGTGCCATCTGCAACTA	
		251	300
EBOV-B неопт	(251)	AGAGATGGGGATTCCGAGCTGGTGTTCACCCCAAAGTGGTGAACACTACGAA	
EBOV-Z неопт	(251)	AAAGATGGGGCTTCAGGTCCGGTGTCCCAACAAAGGTGGTCAATTATGAA	
		301	350
EBOV-B неопт	(301)	GCTGGGGAGTGGGCTGAAAACCTGCTACAACCTGGACATCAAGAAAGCAGA	
EBOV-Z неопт	(301)	GCTGGTGAATGGGCTGAAAACCTGCTACAATCTTGAAATCAAAAAACCTGA	
		351	400
EBOV-B неопт	(351)	TGGTAGCGAATGCCTACCTGAAGCCCTGAGGGTGTAAGAGGCTTCCCTC	
EBOV-Z неопт	(351)	CGGAGTGAGTGCTTACCAGCAGCGCCAGACGGGATTCGGGGCTTCCCCC	
		401	450
EBOV-B неопт	(401)	GCTGCCGTTATGTGCACAAGGTTTCTGGAACAGGGCCGTGCCCTGAAGGT	
EBOV-Z неопт	(401)	GGTGCCGGTATGTGCACAAAGTATCAGGAACCGGACCGTGTCGCCGGAGAC	
		451	500
EBOV-B неопт	(451)	TACGCTTTCCACAAGAAGGCGCTTTCTTCTGTATGATCGACTGGCATC	
EBOV-Z неопт	(451)	TTTGCCCTCCATAAAGAGGGTGCTTTCTTCTGTATGATCGACTTGCTTC	
		501	550
EBOV-B неопт	(501)	AACAATCATCTATCGAAGCACCACGTTTTTCAGAAGGTGTTGTGGCTTTCT	
EBOV-Z неопт	(501)	CACAGTTATCTACCGAGGAACGACTTTCGCTGAAGGTGTCGTTGCATTTC	
		551	600
EBOV-B неопт	(551)	TGATCCTCCCCGAAACTAAAAAGGACTTTTTCATCGCCACCACCTACAT	
EBOV-Z неопт	(551)	TGATACTGCCCCAAGCTAAGAAGGACTTCTTCAGCTCACACCCCTTGAGA	
		601	650
EBOV-B неопт	(601)	GAACCGGCAATATGACAACAGACCCATCCAGCTACTACCACACAGTCAC	
EBOV-Z неопт	(601)	GAGCCGGTCAATGCAACGGAGGACCCGTCTAGTGGCTACTATTCTACCAC	
		651	700
EBOV-B неопт	(651)	ACTTAATTATGTGGCTGACAATTTTGGGACCAATATGACTAACTTTCTGT	
EBOV-Z неопт	(651)	AATTAGATATCAGGCTACCGGTTTGGAAACCAATGAGACAGAGTACTTGT	
		701	750
EBOV-B неопт	(701)	TTCAAGTGGATCATCTAACTTATGTGCAACTTGAACCAAGATTACACCA	
EBOV-Z неопт	(701)	TCGAGGTTGACAATTTGACCTACGTCCAACCTTGAATCAAGATTACACCA	
		751	800
EBOV-B неопт	(751)	CAATTTCTGTCCAACCTCAATGAGACCATTATATACTAATGGGCGTCGCAG	
EBOV-Z неопт	(751)	CAGTTTCTGCTCCAGCTGAATGAGACAAATATATACAAGTGGGAAAAGGAG	
		801	850
EBOV-B неопт	(801)	CAACACCACAGGAACACTAATTTGGAAGTAAATCCTACTGTTGACACCG	
EBOV-Z неопт	(801)	CAATACCACGGGAAAACCTAATTTGGAAGGTCAACCCCGAAATTGATACAA	
		851	900
EBOV-B неопт	(851)	GCGTAGGTGAATGGGCCTTCTGGGAAAATAAGAAGAACTTCACAAAAAC	
EBOV-Z неопт	(851)	CAATCGGGAGTGGGCCTTCTGGGAAAATAAAAAAACCTCACTAGAAAA	

Фіг. 9А (продовження)

		901	950
EBOV-B неопт	(901)	CTTTCAAGTGAAGAGCTGTCTGTCATATTTGTACCAAGAGCCCAGGATCC	
EBOV-Z неопт	(901)	ATTTCGAGTGAAGAGTGTCTTTACAGTTGTATCAACCGGAGCCAAAAA	
		951	1000
EBOV-B неопт	(951)	AGGCAGCAACCAGAAGACGAAGTCACTCCACCAGCTTCGCCAACCAACC	
EBOV-Z неопт	(951)	CATCAGTGGTCAGAGTCCGGCGCGAACTTCTTCGACCCAGGGACCAACA	
		1001	1050
EBOV-B неопт	(1001)	AAACCTCCAAGAACCACGAAGACTTGGTTCCAGAGGATCCCGCTTCAGTG	
EBOV-Z неопт	(1001)	CAACAACCTGAAGACCACAAAATCATGGCTTCAGAAAATTCCTCTGCAATG	
		1051	1100
EBOV-B неопт	(1051)	GTTCAAGTGCAGACCTCCAGAGGGAAAAACAGTGCAGACCCACCCCC	
EBOV-Z неопт	(1051)	GTTCAGTGCACAGTCAAGGAAGGGAGCTGCAGTGTCTGATCTAACAAC	
		1101	1150
EBOV-B неопт	(1101)	AGACACAGTCCCCACAACCTCTGATCCCGACACAATGGAGGAACAAACCA	
EBOV-Z неопт	(1101)	CCTTGCCACAATCTCCACGAGTCCCAATCCCTCACAACCAAAACAGGTC	
		1151	1200
EBOV-B неопт	(1151)	CCAGCCACTACGAACCACCAACATTTCCAGAAACCATCAAGAGAGGAAC	
EBOV-Z неопт	(1151)	CGGACAACAGCACCCATAATACACCCGTGTATAAACTTGACATCTCTGAG	
		1201	1250
EBOV-B неопт	(1201)	AACACCGCACACCCCGAAACTCTCGCCAACAATCCCCAGACAACACAAC	
EBOV-Z неопт	(1201)	GCAACTCAAGTTGAACAACATCACCGCAGAACAGACAACCAAGCAGCAGC	
		1251	1300
EBOV-B неопт	(1251)	CCCGTCGACACCACCTCAAGACGGTGAGCGGACAAGTTCCACACACAACAC	
EBOV-Z неопт	(1251)	CTCCGACACTCCCTCTGCCACGACCGCAGCCCGGACCCCAAAAGCAGAGA	
		1301	1350
EBOV-B неопт	(1301)	CCTCCCCCGCCAGTCCCAACCAGCACAATCCATCCCAACACACAGAGAG	
EBOV-Z неопт	(1301)	ACACCAACACGAGCAAGAGCACTGACTTCTTGACCCCGCCACCAACAACA	
		1351	1400
EBOV-B неопт	(1351)	ACTCACATTCACCAACATGACAACAAGCCATGACACCGACAGCAATCG	
EBOV-Z неопт	(1351)	AGTCCCAAAACCAAGCAGCGAGACCGCTGGCAACAACAACACTCATCACCA	
		1401	1450
EBOV-B неопт	(1401)	ACCAACCAATTGACATCAGCGAGTCTACAGAGCCAGGACCACTCACCA	
EBOV-Z неопт	(1401)	AGATACCGGAGAAGAGAGTGCCAGCAGCGGGAAGCTAGGCTTAATTACCA	
		1451	1500
EBOV-B неопт	(1451)	ACACCACAAGAGGGGCTGCAATCTGCTGACAGGCTCAAGAAGAACCCGA	
EBOV-Z неопт	(1451)	ATACTATTGCTGGAGTCGAGGAGTATCACAGGCGGGAGAAGAACTCGA	
		1501	1550
EBOV-B неопт	(1501)	AGGGAAATCACCTGAGAACACAAGCCAAATGCAACCAAACTTACACTA	
EBOV-Z неопт	(1501)	AGAGAAGCAATTGTCAATGCTCAACCAAAATGCAACCTAATTTACATTA	
		1551	1600
EBOV-B неопт	(1551)	TTGGACAACCCAGATGAAGGGGCTGCCATTGGTTTAGCCTGGATACCTT	
EBOV-Z неопт	(1551)	CTGGACTACTCAGGATGAAGGTGCTGCAATCGGACTGGCCTGGATACCAT	
		1601	1650
EBOV-B неопт	(1601)	ACTTCGGGCCCCGAGCAGAGGGGAATTTATACGGAAGGGATAATGCACAAT	
EBOV-Z неопт	(1601)	ATTTCCGGCCAGCAGCCGAGGGGAATTTACATAGAGGGGCTAATGCACAAT	
		1651	1700
EBOV-B неопт	(1651)	CAAAATGGGCTAATTTGCGGGTTGAGGCAGCTAGCAAATGAGACGACTCA	
EBOV-Z неопт	(1651)	CAAGATGGTTTAACTGTGGGTTGAGACAGCTGGCCAACGAGACGACTCA	
		1701	1750
EBOV-B неопт	(1701)	AGCCCTACAGTTATTCTTGCCTGCTACACGGAATTCGCACTTTCTCTA	
EBOV-Z неопт	(1701)	AGCTCTTCAACTGTTCTGAGAGCCACAACCTGAGCTACGCACCTTTTCAA	
		1751	1800
EBOV-B неопт	(1751)	TATTGAATCGAAAAGCCATCGACTTTTACTCCAAAGATGGGGAGGAACG	
EBOV-Z неопт	(1751)	TCCTCAACCGTAAGGCAATTGATTTCTTGTCTGCAGCGATGGGGCGGCACA	
		1801	1850
EBOV-B неопт	(1801)	TGCCACATCTTAGGCCAGATTGCTGTATTGAGCCCCATGATTGGACTAA	
EBOV-Z неопт	(1801)	TGCCACATCTGGGACCGGACTGCTGTATCGAACCAACATGATTGGACCAA	

Фіг. 9А (продовження)

		1851	1900
EBOV-B неопт	(1851)	GAACATTACTGACAAAAATAGATCAAAATCATGATTTTCATTGATAAAC	
EBOV-Z неопт	(1851)	GAACATAACAGACAAAATTGATCAGATTATTTCATGATTTTGTGATAAAA	
		1901	1950
EBOV-B неопт	(1901)	CTCTACCAGATCAAAACAGATAATGACAATTGGTGGACAGGGTGGAGGCAA	
EBOV-Z неопт	(1901)	CCCTCCGGACCAGGGGGACAATGACAATTGGTGGACAGGATGGAGACAA	
		1951	2000
EBOV-B неопт	(1951)	TGGGTTCCCTGCCGGGATCGGGATCACGGGGTAATAATCGCAGTTATAGC	
EBOV-Z неопт	(1951)	TGGATACCGGCAGGTATTGGAGTTACAGGCGTTATAATTGCAGTTATCGC	
		2001	2031
EBOV-B неопт	(2001)	ACTGCTGTGTATTGCAAAATTTCTACTCTAA	
EBOV-Z неопт	(2001)	TTTATTCTGTATATGCAAAATTTGTCTTTTAG	
		1	50
EBOV-S неопт	(1)	ATGGGGGGCTTAGCCTACTCCAATTGCCCAGGGACAAAATTCGGAAAAG	
EBOV-Z неопт	(1)	ATGGGCGTTACAGGAATATTGCAGTTACCTCGTGATCGATTCAAGAGGAC	
		51	100
EBOV-S неопт	(51)	CTCTTTCTTTGTTTGGGTTCATCATCTTATCCAAAAGGCCTTTTCCATGC	
EBOV-Z неопт	(51)	ATCATTCCTTTCTTTGGGTAAATTATCCTTTCCAAAGAACATTTTCCATCC	
		101	150
EBOV-S неопт	(101)	CTTTGGGTGTTGTGACTAACAGCACTTTAGAAGTAACAGAGATTGACCAG	
EBOV-Z неопт	(101)	CACTTGGAGTCATCCACAATAGCACATTACAGGTTAGTGATGTCGACAAA	
		151	200
EBOV-S неопт	(151)	CTAGTCTGCAAGGATCATCTTGCACTACTGACCAGCTGAAATCAGTTGG	
EBOV-Z неопт	(151)	CTAGTTTGTCTGACAAAATGTCATCCACAAATCAATTGAGATCAGTTGG	
		201	250
EBOV-S неопт	(201)	TCTCAACCTCGAGGGGAGCGGAGTATCTACTGATATCCCATCTGCAACAA	
EBOV-Z неопт	(201)	ACTGAATCTCGAAGGGAAATGGAGTGGCAACTGACGTGCCATCTGCACTA	
		251	300
EBOV-S неопт	(251)	AGCGTTGGGGCTTCAGATCTGGTGTTCCTCCCAAGGTGGTCAGCTATGAA	
EBOV-Z неопт	(251)	AAAGATGGGGCTTCAGGTCCGGTGTCCACCAAGGTGGTCAATTATGAA	
		301	350
EBOV-S неопт	(301)	GCGGGAGAATGGGCTGAAAATTTGCTACAATCTTGAAATAAAGAAGCGGA	
EBOV-Z неопт	(301)	GCTGGTGAATGGGCTGAAAATTTGCTACAATCTTGAAATCAAAAAACCTGA	
		351	400
EBOV-S неопт	(351)	CGGGAGCGAATGCTTACCCCCACCGCCAGATGGTGTGAGAGGCTTTCCAA	
EBOV-Z неопт	(351)	CGGGAGTGAGTGTCTACCAGCAGCGCCAGACGGGATTTCGGGGCTTCCCCC	
		401	450
EBOV-S неопт	(401)	GGTGCCGCTATGTTCAAAAGCCCAAGGAACCGGGCCCTGCCAGGTGAC	
EBOV-Z неопт	(401)	GGTGCCGGTATGTGCACAAAGTATCAGGAACGGGACCGTGTGCCGGAGAC	
		451	500
EBOV-S неопт	(451)	TACGCCCTTTCACAAGGATGGAGCTTTCTTCTCTATGACAGGCTGGCTTC	
EBOV-Z неопт	(451)	TTTGCCCTTCCATAAAGAGGGTGCTTTCTTCTGTATGATCGACTTGCTTC	
		501	550
EBOV-S неопт	(501)	AACTGTAATTTACAGAGGAGTCAATTTTGTGAGGGGTAATTGCATTCT	
EBOV-Z неопт	(501)	CACAGTTATCTACCGAGGAACGACTTTTCGCTGAAGGTGTGTTGCATTTT	
		551	600
EBOV-S неопт	(551)	TGATATTGGCTAAACCAAAAGAAACGTTTCCTTCAGTCACCCCCATTGGA	
EBOV-Z неопт	(551)	TGATACTGCCCAAGCTAAGAAGGACTTCTTCAGCTCACACCCCTTGAGA	
		601	650
EBOV-S неопт	(601)	GAGGCAGTAAACTACACTGAAAATACATCAAGTTATTATGCCACATCCTA	
EBOV-Z неопт	(601)	GAGCCGGTCAATGCAACGGAGGACCGCTAGTGGCTACTATTCTACCAC	
		651	700
EBOV-S неопт	(651)	CTTGGAGTATGAAATCGAAAATTTTGGTGTCAACACTCCACGACCCCTT	
EBOV-Z неопт	(651)	AATTAGATATCAGGCTACCGGTTTTTGAACCAATGAGACAGAGTACTTGT	
		701	750
EBOV-S неопт	(701)	TCAAAATTGACAATAATACTTTTGTTCGTCTGGACAGGCCCCACACGCCT	
EBOV-Z неопт	(701)	TCGAGGTTGACAAATTTGACCTACGTCCAACCTGAATCAAGATTACACCA	

Фіг. 9А (продовження)

		751	800
EBOV-S неопт	(751)	CAGTTTCCTTTTCCAGCTGAATGATACCATTCACCTTCACCAACAGTTGAG	
EBOV-Z неопт	(751)	CAGTTTCTGCTCCAGCTGAATGAGACAATATATACAAGTGGGAAAAGGAG	
		801	850
EBOV-S неопт	(801)	TAATACAACCTGGGAGACTAATTTGGACACTAGATGCTAATATCAATGCTG	
EBOV-Z неопт	(801)	CAATACCACGGGAAAACCTAATTTGGAAAGGTCAACCCCGAAATTGATACAA	
		851	900
EBOV-S неопт	(851)	ATATTGGTGAATGGGCTTTTGGGAAAATAAAAAAATCTCTCCGAAACAA	
EBOV-Z неопт	(851)	CAATCGGGGAGTGGGCCTTCTGGGAAACTAAAAAAACCTCACTAGAAAA	
		901	950
EBOV-S неопт	(901)	CTACGTGGAGAAGAGCTGTCTTTTGAAGCTTTATCGCTCAACGAGACAGA	
EBOV-Z неопт	(901)	ATTCGCAGTGAAGAGTTGTCTTTTACAGTTGTATCAAACGGAGCCAAAAA	
		951	1000
EBOV-S неопт	(951)	AGACGATGATGCGGCATCGTGGAGAATTACAAAGGGAAGATCTCCGACC	
EBOV-Z неопт	(951)	CATCAGTGGTCAGAGTCCGGGCGCAACTTCTTCGACCCAGGACCAACA	
		1001	1050
EBOV-S неопт	(1001)	GGGCCACCAAGTAATTTCGGACCTGGTTCCAAAGAATTCCTCTGGGATG	
EBOV-Z неопт	(1001)	CAACAACCTGAAGACCACAAAATCATGGCTTCAGAAAATTCCTCTGCAATG	
		1051	1100
EBOV-S неопт	(1051)	GTTCCATTGCACATACCAGAAGGGGAAACAACATTGCCGTCTCAGAATTC	
EBOV-Z неопт	(1051)	GTTCAAGTGCACAGTCAAGGAAGGGAGCTGCAGTGTGCGATCTAACAAC	
		1101	1150
EBOV-S неопт	(1101)	GACAGAAGGTGGAAGAGTAGGTGTGAACACTCAGGAGACCATTACAGAGA	
EBOV-Z неопт	(1101)	CCTTGCCACAATCTCCACGAGTCCCAATCCCTCACAACCAAAACAGGTC	
		1151	1200
EBOV-S неопт	(1151)	CAGCTGCAACAATTATAGGCACATAACGGCAACCATATGCAGATCTCCACC	
EBOV-Z неопт	(1151)	CGGACAACAGCACCCATAATACACCGGTGTATAAACTTGACATCTCTGAG	
		1201	1250
EBOV-S неопт	(1201)	ATCGGGATAAGACCGAGCTCCAGCCAAATCCCGAGTTCTCACCAGCCAC	
EBOV-Z неопт	(1201)	GCAACTCAAGTTGAACAACATCACCGCAGAACAGACAACGACAGCACAGC	
		1251	1300
EBOV-S неопт	(1251)	GGCACCAGCCCTGAGGCTCAGACCCCCACAACCCACACATCAGGTCCAT	
EBOV-Z неопт	(1251)	CTCCGACACTCCCTCTGCCACGACCGCAGCCGAGCCCCCAAAGCAGAGA	
		1301	1350
EBOV-S неопт	(1301)	CAGTGATGGCCACCGAGGAACCAACAACACCACCGGAAGCTCCCCCGGC	
EBOV-Z неопт	(1301)	ACACCAACACGAGCAAGAGCACTGACTTCTTGACCCCGCCACCACAACA	
		1351	1400
EBOV-S неопт	(1351)	CCAACAACAGAAGCACCCACTCTCACCACCCAGAAAATATAACAACAGC	
EBOV-Z неопт	(1351)	AGTCCCCAAAACACAGCGAGACCGCTGGCAACAACAACACTCATCACC	
		1401	1450
EBOV-S неопт	(1401)	GGTTAAACTGTCTGCCACAGGAGTCCACAAGCAACGGTCTAATAACTT	
EBOV-Z неопт	(1401)	AGATACCGGAGAAGAGAGTGCCACGACGCGGGAAGCTAGGCTTAATTACCA	
		1451	1500
EBOV-S неопт	(1451)	CAACAGTAACAGGGATTCTTGGGAGTCTTGGGCTTCGAAAACGACAGAGA	
EBOV-Z неопт	(1451)	ATACTATTGCTGGAGTCCGAGGACTGATCACAGGCGGGAGAAGAACTCGA	
		1501	1550
EBOV-S неопт	(1501)	AGACAACAACTAACACCAAGCCACGGTAAGTGAATCCCAACTTACACTA	
EBOV-Z неопт	(1501)	AGAGAAGCAATTGTCAATGCTCAACCCAAATGCAACCCCTAATTTACATTA	
		1551	1600
EBOV-S неопт	(1551)	CTGGACTGCACAAGAACACATAATGCTGCTGGGATTGCCTGGATCCCGT	
EBOV-Z неопт	(1551)	CTGGACTACTCAGGATGAAGGTGCTGCAATCGGACTGGCTGGATACCAT	
		1601	1650
EBOV-S неопт	(1601)	ACTTTGGACCGGGTGCAGGAGCATATACACTGAAGGCCCTGATGCATAAC	
EBOV-Z неопт	(1601)	ATTTCCGGCCAGCAGCCGAGGGAATTTACATAGAGGGGCTAATGCACAAT	
		1651	1700
EBOV-S неопт	(1651)	CAAAATGCCCTTAGTCTGTGGACTTAGGCAACTTGCAAAATGAAACAACCTCA	
EBOV-Z неопт	(1651)	CAAGATGGTTTAACTGTGGGTTGAGACAGCTGGCCAACGAGACGACTCA	
		1701	1750
EBOV-S неопт	(1701)	AGCTCTGCAGCTTTTCTTAAGAGCCACAACGGAGCTGCGGACATATACCA	
EBOV-Z неопт	(1701)	AGCTCTTCACTGTTCTTGAGAGCCACAACCTGAGCTACGCACCTTTTCAA	

Фіг. 9А (продовження)

		1751	1800
EBOV-S неопт	(1751)	TACTCAATAGGAAGGCCATAGATTTCTTCTGCGACGATGGGGCGGGACA	
EBOV-Z неопт	(1751)	TCCTCAACCGTAAGGCAATTGATTTCTTCTGCTGCAGCGATGGGGCGGCACA	
		1801	1850
EBOV-S неопт	(1801)	TGCAGGATCCTGGGACCAGATTGTGCAATTGAGCCACATGATTGGACAAA	
EBOV-Z неопт	(1801)	TGCCACATTTCTGGGACCGGACTGCTGTATCGAACCACATGATTGGACCAA	
		1851	1900
EBOV-S неопт	(1851)	AAACATCACTGATAAAATCAACCAAAATCATCCATGATTTTCATCGACAACC	
EBOV-Z неопт	(1851)	GAACATAACAGACAAAATTGATCAGATTATTCATGATTTTGTGATAAAA	
		1901	1950
EBOV-S неопт	(1901)	CCTTACCTAATCAGGATAATGATGATAATTGGTGGACGGGCTGGAGACAG	
EBOV-Z неопт	(1901)	CCCTTCCGGACCGGGGACCAATGACAAATTGGTGGACAGGATGGAGACAA	
		1951	2000
EBOV-S неопт	(1951)	TGGATCCCTGCAGGAATAGGCATTACTGGAATTATTATTGCAATTATTGC	
EBOV-Z неопт	(1951)	TGGATACCGGCAGGTATTGGAGTTACAGGCGTTATTAATTGCAGTTATCGC	
		2001	2031
EBOV-S неопт	(2001)	TCTTCTTTGCGTTTGCAAGCTGCTTTGCTGA	
EBOV-Z неопт	(2001)	TTTATTCTGTATATGCAAAATTTGTCTTTTAG	

Фіг. 9А (продовження)

		1	50
EBOV-B oпт	(1)	ATGGTCACATCTGGAATTCTCCAGCTCCCTAGGGAACGGTTCCGGAAAAAC	
EBOV-S oпт	(1)	ATGGGCGGCCTGAGCCTGCTGCAGCTGCCCGGGACAAAGTTCCGGGAAGTC	
		51	100
EBOV-B oпт	(51)	CAGTTTCTTTGTCTGGGTGATCATCTCTTCCATAAGGTGTTCCCTATCC	
EBOV-S oпт	(51)	CAGCTTCTTCGTGTGGGTGATCATCTCTTCCAGAAAGCCTTCAGCATGC	
		101	150
EBOV-B oпт	(101)	CCCTGGGGTCTGTCATATAACATACATTGCAAGTGTGAGATATCGATAAG	
EBOV-S oпт	(101)	CCCTGGGGTCTGTCATATAACATACATTGCAAGTGTGAGATATCGATCAG	
		151	200
EBOV-B oпт	(151)	TTGGTGTGTGCGGATAAACTGTCATCTACCTCTCAGCTGAAAAGCGTCGG	
EBOV-S oпт	(151)	CTGGTGTGTGCAAGGACCACTGGCCAGCACCGATCAGCTGAAGTCCGTGGG	
		201	250
EBOV-B oпт	(201)	CCTCAACCTCGAAGGGAATGGTGTGCGCCACTGATGTCCCTACTGCCACAA	
EBOV-S oпт	(201)	CCTGAACCTCGAAGGGAATGGTGTGCGCCACTGATGTCCCTACTGCCACAA	
		251	300
EBOV-B oпт	(251)	AACGATGGGGTTTCCGGGCTGGTGTCCCCCAAAAGTGGTCAACTATGAA	
EBOV-S oпт	(251)	AGAGATGGGGTTTCCGGGCTGGTGTCCCCCAAAAGTGGTGGTCTTATGAG	
		301	350
EBOV-B oпт	(301)	GCTGGCGAATGGGCGAGAAATGCTATAATCTGGACATTAAAAAGGCCGA	
EBOV-S oпт	(301)	GCCGGCGAGTGGGCGGAGAACTGCTACAACCTGGAAATCAAGAGCCCGGA	
		351	400
EBOV-B oпт	(351)	TGGCTCCGAGTGTCTCCCTGAAGCTCCTGAGGGCGTGCGGGGATTCCCAA	
EBOV-S oпт	(351)	CGGCGAGCGAGTGTCTCCCTGAAGCTCCTGAGGGCGTGCGGGGATTCCCAA	
		401	450
EBOV-B oпт	(401)	GATGTCTGCTACGTCCATAAAGTGTCTGGCACCAGGCCCTTGCCTGAAGGA	
EBOV-S oпт	(401)	GGTGCAGATACGTGCACAAGGCACAAGGCACCGGTCCATGCCAGGCGAC	
		451	500
EBOV-B oпт	(451)	TACGCCTTTCATAAAGAAGGGGCTTTTCTCTATGATCGCTGGCTTC	
EBOV-S oпт	(451)	TACGCCTTTCATAAAGAAGGGGCTTTTCTCTATGATCGCTGGCTTC	
		501	550
EBOV-B oпт	(501)	CACAATTATCTATCGCTCTACTACCTTTTCCGAGGGGGTGGTCTGCTTTTC	
EBOV-S oпт	(501)	CACCGTGATCTACCGGGGCGTGAACCTTTCCGAGGGGGTGGTCTGCTTTTC	
		551	600
EBOV-B oпт	(551)	TCATCTCCCGAGACAAAGAAAGATTCTTTTCCAGAGTCCCCCCTGCAT	
EBOV-S oпт	(551)	TGATCTGGCCAGCCCAAGAGAGATTCTTGCAGAGCCCCCCTGCAT	
		601	650
EBOV-B oпт	(601)	GAGCCTGCCAATATGACTACCGATCCTTCTCTTACTATCATACCGTGAC	
EBOV-S oпт	(601)	GAGGCGGTGAACATACACGAGAACACCGAGCAGCTACTACGCCACCTCTA	
		651	700
EBOV-B oпт	(651)	ACTCAATTATGTCGTGATAACTTCGGCACTAACATGACCAACTTTCTGT	
EBOV-S oпт	(651)	CCTGGAATACGAGATCGAGAACTTCGGCGCCAGCACAGCAACCACTGT	
		701	750
EBOV-B oпт	(701)	TCCAGGTCGACCACCTGACATATGTCCAGCTCGAGCCTCGCTTTACCCCA	
EBOV-S oпт	(701)	TCAAGATCGACAACAACACCTTCGTGCGGCTGGACAGACCCCAACCCCA	
		751	800
EBOV-B oпт	(751)	CAGTTCTGTGTCCAGCTCAATGAACTATCTATACTAACGGACGGCGCTC	
EBOV-S oпт	(751)	CAGTTCTGTGTCCAGCTGAACGACCACTCCATCTGCATCAGCACTGTGC	
		801	850
EBOV-B oпт	(801)	TAATACCACCGGACCTCATTGGAAAGTCAATCCCACTGTGATACCG	
EBOV-S oпт	(801)	CAACACCACCGGACCTCATTGGAAAGTCAATCCCACTGTGATACCG	
		851	900
EBOV-B oпт	(851)	GCGTCGGAGAGTGGGCTTTTGGGAAAAAAGAAAGAACTTTACCAAGACC	
EBOV-S oпт	(851)	ACATCGGTGAATGGGCTTTTGGGAAAAAAGAAAGAACTTTACCAAGACC	
		901	950
EBOV-B oпт	(901)	CTGAGTAGCGAGGAACCTCTGTGATCTTTGTGCCTCGCGCTCAGGATCC	
EBOV-S oпт	(901)	CTGCGGGGCGAAGAACTCAGCTTCGAGGCCCTGAGCCTGAACGAGACAGA	
		951	1000
EBOV-B oпт	(951)	TGGATCCAAACCAGAAAACCAAGTGACACCTACATCTTTTGCCCAACAAC	
EBOV-S oпт	(951)	GGACGACGACGCGCCAGCAGCGGATCACCAGGGCCGGATCAGCGACC	
		1001	1050
EBOV-B oпт	(1001)	AGACAAGCAAGAACCATGAGGACCTCGTCCCGAAGATCCTGCCTCTGTG	
EBOV-S oпт	(1001)	GGGCCACCAGAAAGTACAGCGACCTGGTGCCCAAGAACGCCCGGCATG	

Фиг. 9B

		1051	1100
EBOV-B	опт	(1051)	GTCCAGGTCCGGGACCTCCAGCGCGAAAAATACCGTGCCTACTCCCCCCC
EBOV-S	опт	(1051)	GTGCCTCTGCACATCCCCGAGGGCGAGACAACCTCTCCCTAGTCAGAAATAG
		1101	1150
EBOV-B	опт	(1101)	TGATACCGTCCCTACTACCCCTCATTCCCCGATACAATGGAAGAACAGACCA
EBOV-S	опт	(1101)	CACCCGAGGCAGACGCGTGGGCGTGAACACCCAGGAAACCATCACCGAGA
		1151	1200
EBOV-B	опт	(1151)	CCTCTCATTACGAGCCACCTAACATCTCCAGAAATCACCAGGAACGAAAT
EBOV-S	опт	(1151)	CAGCCGCCACCATTCATTGGTACTAACGGCAACCACATGCAGATCAGCACC
		1201	1250
EBOV-B	опт	(1201)	AACACCGCTCATCCCGAGACTCTGGCTAATAACCCCCCGACAATACTAC
EBOV-S	опт	(1201)	ATCGGCATCCGGCCAGCAGCAGCCAGATCCCAAGTAGTAGTCTCTACCAC
		1251	1300
EBOV-B	опт	(1251)	CCCTAGTACCCCCCTCAGGACGGGGAGAGAACCAAGTTCCCATACTACAC
EBOV-S	опт	(1251)	AGCCCTAGCCCTGAGGCCAGACCCCTACACACACACAGCGGCCCTA
		1301	1350
EBOV-B	опт	(1301)	CCTCCCAAGAACCGTCCCTACATCTACCATTCATCCCAACCCCGCAG
EBOV-S	опт	(1301)	GCGTGATGGCCACGAGGAACTACCAACCCCTCCTGGCAGCAGCCAGGT
		1351	1400
EBOV-B	опт	(1351)	ACACACATTCTCTACCACTATGACCACATCCCATGACACCGATTCCCAATCG
EBOV-S	опт	(1351)	CCAACCTACCGAGGCACCAACCCCTGACCACCCCGAGAATCACCCCGC
		1401	1450
EBOV-B	опт	(1401)	CCCTAACCCCATCGATATCAGCGAATCTACCGAGCCCGGACCCCTCACAA
EBOV-S	опт	(1401)	CGTGAAAAACCGTGTGCCCCAGGAAAGCACCAGCAACCGCTGTATCCCTA
		1451	1500
EBOV-B	опт	(1451)	ATACAACCCGCGGAGCCGCTAATCTGCTGACTGGCTCCCGGCGCATCGA
EBOV-S	опт	(1451)	GCACCGTGACCGGCATCCTGGGCAGCCTGGGCTGCGGAGCGGAGCAGA
		1501	1550
EBOV-B	опт	(1501)	AGAGAAATCACCTGCGAACAACAGGCCAAGTGTAAACCAAACTCCATTA
EBOV-S	опт	(1501)	CGGCAGACCAACACCAAGGCCACCGCAAGTGCAACCCCAACCTGCACTA
		1551	1600
EBOV-B	опт	(1551)	TTGGACAACCCAGGATGAAGGGGCGCTATTGGCCCTCGCTGGATCCCTT
EBOV-S	опт	(1551)	CTGGACCGCCAGGAACAGCACAAACGCCCTGGGATCGCTGGATCCCTT
		1601	1650
EBOV-B	опт	(1601)	ATTTTGGGCTGCGACCGAGGGGATCTATACCGAAGGTATAATGCATAAT
EBOV-S	опт	(1601)	ACTTTGGTCTGCTGAGGGAATATACACCGAGGGCTGATGCACAACT
		1651	1700
EBOV-B	опт	(1651)	CAGAACGGGCTGATTTGCGGGCTGCGCCAGCTCGCCAACGAGACTACCCA
EBOV-S	опт	(1651)	CAGAACGCCCTGGTGTGCGGCCTGAGACAGCTGGCCAACGAAACCACTCA
		1701	1750
EBOV-B	опт	(1701)	GGCCCTCCAGCTCTTTCTCCGGGCTACTACCGAAGTGCAGAACCTTTTCCA
EBOV-S	опт	(1701)	GGCACTGCAGCTGTTCTGCGGGCCACCACCGAGCTGCGGACCTACACCA
		1751	1800
EBOV-B	опт	(1751)	TTCTCAATAGGAAAGCTATCGATTTCTTGCTCCAGCGCTGGGGGGGAACC
EBOV-S	опт	(1751)	TCCTGAACAGGAAGGCCATCGACTTTCTGCTGCGGAGATGGGGCGGCACC
		1801	1850
EBOV-B	опт	(1801)	TGTCATATCCTCGGACCCGATTGCTGTATTGAGCCACATGATTGGACTAA
EBOV-S	опт	(1801)	TGTAGAATCCTGGGCCCCGACTGCTGCATCGAGCCCCACGACTGGACCAA
		1851	1900
EBOV-B	опт	(1851)	AAACATCACTGACAAAATTGATCAGATCATTCATGATTTTCATTGATAAAC
EBOV-S	опт	(1851)	GAATATCACCGACAAGATCAACCAGATCATCCACGACTTCATCGACAACC
		1901	1950
EBOV-B	опт	(1901)	CCCTCCCGATCAGACTGATAATGACAAATTGGTGGACGGGATGGCGCCAG
EBOV-S	опт	(1901)	CCCTGCCCAACCAGGACAACGACGACAACCTGGTGGACTGGTTGGCGACAG
		1951	2000
EBOV-B	опт	(1951)	TGGGTGCGCGCTGGGATTGGCATTACAGGTGTCAATTATGCGGTGATTGC
EBOV-S	опт	(1951)	TGGATCCCTGCCGGCATCGGCATCACCGGCATCATATTGCCATTATCGC
		2001	2031
EBOV-B	опт	(2001)	ACTCCTGTGTATCTGTAATTTCTGCTGTGA
EBOV-S	опт	(2001)	TCTCCTCTGCGTGTGCAAGCTCCTCTGCTGA

Фіг. 9В (продовження)

		1051	1100
EBOV-B опт	(1051)	GTCCAGGTCCGGGACCTCCAGCGCGAAAAATACCGTGCCTACTCCCCCCCC	
EBOV-S опт	(1051)	GTGCCTCTGCACATCCCCGAGGGCGAGACAACCTCTCCCTAGTCAGAAATAG	
		1101	1150
EBOV-B опт	(1101)	TGATACCGTCCCTACTACCCCTCATTCCCGATACAATGGAAGAACAGACCA	
EBOV-S опт	(1101)	CACCGAGGGCAGACGCGTGGGCGTGAACACCCAGGAAACCATCACCGAGA	
		1151	1200
EBOV-B опт	(1151)	CCTCTCATTACGAGCCACCTAACATCTCCAGAAATCACCAGGAACGAAAT	
EBOV-S опт	(1151)	CAGCCGCCACCATCATTGGTACTAACGGCAACCACATGCAGATCAGCACC	
		1201	1250
EBOV-B опт	(1201)	AACACCGCTCATCCCGAGACTCTGGCTAATAACCCCCCGACAATACTAC	
EBOV-S опт	(1201)	ATCGGCATCCGGCCAGCAGCAGCCAGATCCCAAGTAGTAGTCTTACCAC	
		1251	1300
EBOV-B опт	(1251)	CCCTAGTACCCCCCTCAGGACGGGGAGAGAACCAGTTCCCATACTACAC	
EBOV-S опт	(1251)	AGCCCCCTAGCCCTGAGGCCAGACCCCTACCACACACACAGCGGCCCTA	
		1301	1350
EBOV-B опт	(1301)	CCTCCCAAGACCCGTCCTACATCTACCATTTCATCCACACCCCGGAG	
EBOV-S опт	(1301)	GCGTGATGGCCACCGAGGAACCTACCACCCCTCCTGGCAGCAGCCAGGT	
		1351	1400
EBOV-B опт	(1351)	ACACACATTCTTACCCTATGACCACATCCCATGACACCGATTCCAATCG	
EBOV-S опт	(1351)	CCAATAACCGAGGCACCAACCCCTGACCACCCCGAGAACATCACCCCGC	
		1401	1450
EBOV-B опт	(1401)	CCCTAACCCCATCGATATCAGCGAATCTACCGAGCCCGGACCCCTCACAA	
EBOV-S опт	(1401)	CGTGAACCCGTGCTGCCCGAGGAAGCACCAGCAACGGCCTGATCCCA	
		1451	1500
EBOV-B опт	(1451)	ATACAAACCCCGGAGCCGCTAATCTGCTGACTGGCTCCCGGCGCACTCGA	
EBOV-S опт	(1451)	GCACCGTGACCGGCATCTGGGCAGCCTGGGCTGCGGAAGCGGAGCAGA	
		1501	1550
EBOV-B опт	(1501)	AGAGAAATCACCTGCGAACACAGGCCAAGTGTAAACCAAACCTCCATTA	
EBOV-S опт	(1501)	CGGCGAGACCAACACCAAGGCCACCGGCAAGTGCAACCCCAACCTGCATA	
		1551	1600
EBOV-B опт	(1551)	TTGGACAACCCAGGATGAAGGGGCGCTATTGGCCTCGCTTGGATCCCTT	
EBOV-S опт	(1551)	CTGGACCGCCAGGAACAGCACACCGCGCTGGGATCGCTGGATCCCTT	
		1601	1650
EBOV-B опт	(1601)	ATTTGGGCTGCGAGCCGAGGGGATCTATACCGAAGGTATAATGCATAAT	
EBOV-S опт	(1601)	ACTTTGGTCTGCTGCTGAGGGAATATACACCGAGGGCTGATGCACAAC	
		1651	1700
EBOV-B опт	(1651)	CAGAACGGGCTGATTTGGGGCTGCGCCAGCTCGCCAACGAGACTACCCA	
EBOV-S опт	(1651)	CAGAACGCCCTGGTGTGCGGCTGAGACAGCTGGCCAACGAAACCACTCA	
		1701	1750
EBOV-B опт	(1701)	GGCCCTCCAGCTCTTTCTCGGGCTACTACCGAAGTGCGAACCTTTTCCA	
EBOV-S опт	(1701)	GGCACTGCAGCTGTTCTGCGGGCCACCACCGAGCTGCGGACCTACCCA	
		1751	1800
EBOV-B опт	(1751)	TTCTCAATAGGAAAGCTATCGATTTCTTGCTCCAGCGCTGGGGGGGAACC	
EBOV-S опт	(1751)	TCCTGAACAGGAAGGCATCGACTTTCTGCTGCGGAGATGGGGCGGCACC	
		1801	1850
EBOV-B опт	(1801)	TGTCATATCCTCGGACCCGATTGCTGTATTGAGCCACATGATTGGACTAA	
EBOV-S опт	(1801)	TGTAGAATCCTGGGCCCGACTGCTGCATCGAGCCCCACGACTGGACCAA	
		1851	1900
EBOV-B опт	(1851)	AAACATCACTGACAAAATTGATCAGATCATTCATGATTTTCATTGATAAAC	
EBOV-S опт	(1851)	GAATATCACCGACAAGATCAACCAGATCATCCACGACTTCATCGACAACC	
		1901	1950
EBOV-B опт	(1901)	CCCTCCCCGATCAGACTGATAATGACAAATTGGTGGACGGGATGGCGCCAG	
EBOV-S опт	(1901)	CCCTGCCCAACCAGGACAACGACGACAACCTGGTGGACTGGTTGGCGACAG	
		1951	2000
EBOV-B опт	(1951)	TGGGTGCCCGCTGGGATTGGCATTACAGGTGTCATTATTGCCGTGATTGC	
EBOV-S опт	(1951)	TGGATCCCTGCCGGCATCGGCATCACCGCATCATCATTGCCATTATCGC	
		2001	2031
EBOV-B опт	(2001)	ACTCCTGTGTATCTGTAAATTTCTGTGTGA	
EBOV-S опт	(2001)	TCTCCTCTGCGTGTGCAAGCTCCTCTGCTGA	

Фіг. 9В (продовження)

		1001		1050
EBOV-B опт	(1001)	AGACAAGCAAGAACCATGAGGACCTCGTCCCCGAAGATCCTGCCTCTGTG		
EBOV-Z опт	(1001)	CCACAACCGAGGACCACAAGATCATGGCCAGCGAGAACTCCAGCGCCATG		
		1051		1100
EBOV-B опт	(1051)	GTCACGGTCCGGGACCTCCAGCGCGAAAAATACCGTGCCTACTCCCCCCCC		
EBOV-Z опт	(1051)	GTGCAGGTCCACAGCCAGGGAAGAGAACCGCGTGAGCCACCTGACCCAC		
		1101		1150
EBOV-B опт	(1101)	TGATACCGTCCCTACTACCTCATTCCCGATACAAATGGAAGAACAGACCA		
EBOV-Z опт	(1101)	ACTGGCCACCATCAGCACCAGCCCCAGAGCCTGACCACCAAGCCTGGCC		
		1151		1200
EBOV-B опт	(1151)	CCTCTCATTACGAGCCACCTAACATCTCCAGAAATCACCAGGAACGAAAT		
EBOV-Z опт	(1151)	CCGACAACAGCACACACAACACCCCGTGTACAAGCTGGACATCAGCGAG		
		1201		1250
EBOV-B опт	(1201)	AACACCGCTCATCCCCGAGACTCTGGCTAATAACCCCCCGACAATACTAC		
EBOV-Z опт	(1201)	GCCACCCAGGTGGAGCAGCACCAAGACGACCGGACGACCAACGACAGCACCCG		
		1251		1300
EBOV-B опт	(1251)	CCCTAGTACCCCCCTCAGGACGGGGAGAGAACAGTTCCCATACTACAC		
EBOV-Z опт	(1251)	CAGCGATACCCCTTCTGCCACCAAGCCCGGACCCCTAAGCCCGAGA		
		1301		1350
EBOV-B опт	(1301)	CCTCCCCAAGACCCGTCCTACATCTACCATTCATCCCAACCCCGCAG		
EBOV-Z опт	(1301)	ATACCAACACAGCAGCAAGAGCACCAGCTTTCTGGATCCAGCCACCCAGC		
		1351		1400
EBOV-B опт	(1351)	ACACACATTCTACCACTATGACCACATCCCATGACACCGATTCCCAATCG		
EBOV-Z опт	(1351)	AGTCCACAGAACCACAGCGAAACCGCGCAACAACAATACCCACCCACA		
		1401		1450
EBOV-B опт	(1401)	CCCTAACCCCATCGATATCAGCGAATCTACCGAGCCCGGACCCCTCACAA		
EBOV-Z опт	(1401)	GGACACCGGCGAGGAAAGCGCCAGCTCTGGCAAGCTGGGCTGATTACCA		
		1451		1500
EBOV-B опт	(1451)	ATACAACCCCGGAGCCGCTAATCTGCTGACTGGCTCCCGGCGACTCGA		
EBOV-Z опт	(1451)	ACACAATCGCCGCGTGGCCGACTGATCACCGGCGGCGAGCGGACCA		
		1501		1550
EBOV-B опт	(1501)	AGAGAAATCACCTGCGAACACAGGCCAAGTGTAACCCAAACCTCCATTA		
EBOV-Z опт	(1501)	CGGGAGGCCATCGTGAACGCCAGCCCAATGTAATCCTAATCTCCACTA		
		1551		1600
EBOV-B опт	(1551)	TTGGACAACCCAGGATGAAGGGGCGCTATTGGCCCTCGCTGGATCCCTT		
EBOV-Z опт	(1551)	TTGGACCAACAGGACGAGGGCGCTGCCATCGGACTGGGATGGATTCCCTT		
		1601		1650
EBOV-B опт	(1601)	ATTTCCGGGCTCGAGCCGAGGGGATCTATACCGAAGGTATAATGCATAAT		
EBOV-Z опт	(1601)	ACTTCGGACCAAGCCGCTGAAGGGATCTATATCGAGGGGCTCATGCATAAC		
		1651		1700
EBOV-B опт	(1651)	CAGAACGGGCTGATTTCGGGCTGCGCCAGCTCGCCAACGAGACTCCCA		
EBOV-Z опт	(1651)	CAGGATGGTCTGATTGTGGTCTCCGGCAGCTGGCTAATGAGACAAACA		
		1701		1750
EBOV-B опт	(1701)	GGCCCTCCAGCTCTTTCTCCGGGCTACTACCGAAGTGCAGAACCTTTCCCA		
EBOV-Z опт	(1701)	GGCTCTCCAGCTGTTTCTGAGAGCCACAACAGAGCTGAGAACCTTCAGCA		
		1751		1800
EBOV-B опт	(1751)	TTCTCAATAGGAAAGCTATCGATTCTTGCTCCAGCGCTGGGGGGGAACC		
EBOV-Z опт	(1751)	TTCTCAACCGCAAGGCTATTGACTTCCTGCTCCAACGATGGGGAGGCACA		
		1801		1850
EBOV-B опт	(1801)	TGTCATATCCTCGGACCCGATTGCTGATTGAGCCACATGATTGGACTAA		
EBOV-Z опт	(1801)	TGCCACATCCTGGGGCTGATTGTTGTATCGAACCTCAGGATTGGACAAA		
		1851		1900
EBOV-B опт	(1851)	AAACATCACTGACAAAATTGATCAGATCATTATGATTTCATTGATAAAC		
EBOV-Z опт	(1851)	GAACATTACAGATAAGATCGATCAGATTATCCATGACTTTGTGGACAAGA		
		1901		1950
EBOV-B опт	(1901)	CCCTCCCGATCAGACTGATAATGACAATTGGTGGACGGGATGGCGCCAG		
EBOV-Z опт	(1901)	CCCTGCCGATCAGGGCGACAACGATAATTGGTGGACAGGGTGGAGACAG		
		1951		2000
EBOV-B опт	(1951)	TGGGTGCCCCGCTGGGATTGGCATTACAGGTGTCTATTATGCGGTGATTGC		
EBOV-Z опт	(1951)	TGGATTCCAGCCGGGATTGGCGTGACCGGCGTGATTATCGCCGTGATCGC		
		2001		2031
EBOV-B опт	(2001)	ACTCCTGTGTATCTGTAATTTCTGCTGTGA		
EBOV-Z опт	(2001)	CCTGTTCTGCATCTGCAAGTTCTGTTCTGA		

Фіг. 9В (продовження)

		1	50
EBOV-S	опт	(1)	ATGGGCGGCCTGAGCCTGCTGCAGCTGCCCCGGGACAAGTTCGGGAGTC
EBOV-Z	опт	(1)	ATGGGCGTGACAGGCATTCTGCAGCTCCCCAGAGACAGATTCAAGCGGAC
		51	100
EBOV-S	опт	(51)	CAGCTTCTTCGTGTGGGTGATCATCTGTTCAGAAAGCCTTCAGCATGC
EBOV-Z	опт	(51)	CTCCTTTTCTCTGGGTGATCATCTGTTCAGCGGACCTTCTCCATCC
		101	150
EBOV-S	опт	(101)	CCCTGGGCGTGGTGACCAACAGCACCCCTGGAAGTGACCGAGATCGACCAAG
EBOV-Z	опт	(101)	CTCTGGGCGTGATCCACAATAGCACCCCTCCAGGTGTCCGACGTGGACAAG
		151	200
EBOV-S	опт	(151)	CTGGTGTGCAAGGACCACCTGGCCAGCACCGATCAGCTGAAGTCCGTGGG
EBOV-Z	опт	(151)	CTCGTGTGCCGGACAAGCTGTCTCCACCAACCAGCTGAGAAGCGTGGG
		201	250
EBOV-S	опт	(201)	CCTGAACCTGGAAGGCAGCGCGTGAGCACCGACATCCCCAGCGCCACCA
EBOV-Z	опт	(201)	GCTGAATCTCGAGGGCAATGGCGTGGCCACAGACGTGCCCTCCGCCACAA
		251	300
EBOV-S	опт	(251)	AGAGATGGGGCTTCAGATCCGGCGTGCCCCCAAGGTGGTGTCTTATGAG
EBOV-Z	опт	(251)	AGCGCTGGGGCTTTCGGAGCGGCGTCCCTCCTAAAGTCGTGAACCTACGAG
		301	350
EBOV-S	опт	(301)	GCCGCGAGTGGGCGGAGAACTGCTACAACCTGGAATCAAGAAGCCCGA
EBOV-Z	опт	(301)	GCAGGGGAATGGGCTGAAAATTGTTACAACTCTCGAGATCAAAAACCGA
		351	400
EBOV-S	опт	(351)	CGGCGAGCGAGTGTCTGCCTCCCCCTCCCGATGGCGTGAGAGGCTTCCCCC
EBOV-Z	опт	(351)	TGGCTCTGAGTGCCTGCCTGCCGACCCAGACGGCATCAGGGGCTTCCCTA
		401	450
EBOV-S	опт	(401)	GGTGAGATACGTGCACAAGGCACAAGGCACCGGTCCATGCCAGGCGGAC
EBOV-Z	опт	(401)	GATGCCGCTATGTGCACAAGGTGAGTGGTACAGGCCCTTGTGCCGGCGAT
		451	500
EBOV-S	опт	(451)	TACGCCCTTCCACAAGGACGGGCGCTTTTCTCTGTACGACCGGCTGGCCTC
EBOV-Z	опт	(451)	TTTGCCCTTCCACAAGAGGGGGCTTCTTTCTGTACGACAGGCTCGCCAG
		501	550
EBOV-S	опт	(501)	CACCGTGATCTACCGGGCGTGAACTTTGCCGAGGGCGTGATCGCCTTCC
EBOV-Z	опт	(501)	TACAGTGATATACCGAGGTACTACCTTCGCCGAAGGCGTGGTGGCTTTC
		551	600
EBOV-S	опт	(551)	TGATCCTGGCCAAGCCCAAGAGACATTCCTGCAGAGCCCCCATCCCG
EBOV-Z	опт	(551)	TGATTCTGCCCCAGGCCAAGAGGACTTCTTCAGCAGCCACCCCTGAGA
		601	650
EBOV-S	опт	(601)	GAGGCCGTGAATACACCGAGAACACCCAGCAGCTACTACGCCACCTCCTA
EBOV-Z	опт	(601)	GAACCCGTGAACGCCACAGAGGACCCAGCAGCGGCTACTACAGCACCA
		651	700
EBOV-S	опт	(651)	CCTGGAATACGAGATCGAGAACTTCGGCGCCCGACAGCACCCACCTGT
EBOV-Z	опт	(651)	AATCAGATACCGGCCACAGGCTTCGGCACCAATGAGACAGGTACTGT
		701	750
EBOV-S	опт	(701)	TCAAGATCGACAACAACACCTTCGTGCGGCTGGACAGACCCACACCCCT
EBOV-Z	опт	(701)	TCGAGGTGGACAACCTGACCTACGTGCAGCTGGAAGCCGGTTTACCCCT
		751	800
EBOV-S	опт	(751)	CAGTTTCTGTTCAGCTGAACGACACCATCCATCTGCATCAGCAGCTGTC
EBOV-Z	опт	(751)	CAGTTCCTCTGCAGCTCAACGAGACAATCTACACCTCCGGCAAGCGGAG
		801	850
EBOV-S	опт	(801)	CAACACCACCGGCAGACTGATCTGGACCTTGGAACGCAACATCAACGCCG
EBOV-Z	опт	(801)	CAACACAACAGGCAAGCTCATCTGGAAGTGAAACCCGAGATCGATACCA
		851	900
EBOV-S	опт	(851)	ACATCGGTGAATGGGCTTTTGGGAGAAACAAGAAGATCTGAGCGAGCAG
EBOV-Z	опт	(851)	CTATAGGGGAGTGGGCTTCTGGGAACTAAGAAGAACCTCACCCGGAAG
		901	950
EBOV-S	опт	(901)	CTGCGGGCGAAGAACTCAGCTTCGAGGCCCTGAGCCTGAACGAGACAGA
EBOV-Z	опт	(901)	ATCAGATCCGAGGAACTGTCTTCACCGTGGTGTCCAACGGCGCCAAGAA
		951	1000
EBOV-S	опт	(951)	GGACGACGACGCCCGCAGCAGCGGATCACCAGGGCCGGATCAGCGACC
EBOV-Z	опт	(951)	CATTTAGGACAGAGCCCCGCCAGAACAGCAGCGACCCCGGCACCAACA

Фіг. 9В (продовження)

		1001		1050
EBOV-S	опт	(1001)	GGGCCACCAGAAAGTACAGCGACCTGGTGCCCAAGAACAGCCCCGGCATG	
EBOV-Z	опт	(1001)	CCACAACCGAGGACCACAAGATCATGGCCAGCGAGAACTCCAGCGCCATG	
		1051		1100
EBOV-S	опт	(1051)	GTGCCTCTGCACATCCCCGAGGGCGAGACAACTCTCCCTAGTCAGAAATAG	
EBOV-Z	опт	(1051)	GTGCAGGTCCACAGCCAGGGAAGAGAACCCGCGTGAGCCACCTGACCAC	
		1101		1150
EBOV-S	опт	(1101)	CACCGAGGGCAGACGCGTGGGCGTGAACACCCAGGAAACCATCACCGAGA	
EBOV-Z	опт	(1101)	ACTGGCCACCATCAGCACCAGCCCCAGAGCCTGACCACCAAGCCTGGCC	
		1151		1200
EBOV-S	опт	(1151)	CAGCGGCCACCATCATTGGTACTAACGGCAACCACATGCAGATCAGCACC	
EBOV-Z	опт	(1151)	CCGACAACAGCACACACAACACCCCGTGTACAAGCTGGACATCAGCGAG	
		1201		1250
EBOV-S	опт	(1201)	ATCGGCATCCGCCCCAGCAGCAGCCAGATCCCAAGTAGTAGTCTTACCAC	
EBOV-Z	опт	(1201)	GCCACCCAGGTGGAGCAGCACCACAGACGAGCCGACCAACGACAGCACC	
		1251		1300
EBOV-S	опт	(1251)	AGCCCCTAGCCCTGAGGGCCAGACCCCTACCACACACACAGCGGCCCTA	
EBOV-Z	опт	(1251)	CAGCGATACCCCTTCTGCCACCAAGCCGCGGACCCCTAAGGCGGAGA	
		1301		1350
EBOV-S	опт	(1301)	GGTGATGGCCACCGAGGAACCTACCACCCCTCCTGGCAGCAGCCAGGT	
EBOV-Z	опт	(1301)	ATACCAACACCAGCAAGAGCAGCGACTTTCTGGATCCAGCCACCACCAC	
		1351		1400
EBOV-S	опт	(1351)	CCAACCTACCGAGGCACCAACCCCTGACCAACCCCGAGAACATCACCACCGC	
EBOV-Z	опт	(1351)	AGTCCACAGAACACAGCGAAACCGCGGCAACAATACCCACCACCA	
		1401		1450
EBOV-S	опт	(1401)	CGTGAAAACCGTGCTGCCCCAGGAAAGCACCAGCAACGCGCTGATCACCA	
EBOV-Z	опт	(1401)	GGACACCGGCGAGGAAAGCGCCAGCTCTGGCAAGCTGGGCCTGATTACCA	
		1451		1500
EBOV-S	опт	(1451)	GCACCGTGACCGGCATCCTGGGCAGCCTGGGCTGCGGAAGCGGAGCAGA	
EBOV-Z	опт	(1451)	ACACAATCGCCGCGTGGCCGGAAGTATCAGCGCGGCAGACGACCAGA	
		1501		1550
EBOV-S	опт	(1501)	CGGCAGACCAACACCAAGGCCACCGGCAAGTGCAACCCCAACCTGCACTA	
EBOV-Z	опт	(1501)	CGGGAGGCCATCGTGAACGCCAGCCCAAATGTAATCCTAATCTCCACTA	
		1551		1600
EBOV-S	опт	(1551)	CTGGACCGCCAGGAACAGCACAAACGCGCTGGGATCGCTGGATCCCTT	
EBOV-Z	опт	(1551)	TTGGACCACACAGGACGAGGGCGCTGCCATCGGACTGGCATGGATTCTTT	
		1601		1650
EBOV-S	опт	(1601)	ACTTTGGTCTCTGGTCTGAGGGAATATACACCGAGGGCCTGATGCACAA	
EBOV-Z	опт	(1601)	ACTTCGGACAGCCGCTGAAGGGATCTATATCGAGGGGCTCATGTATAAC	
		1651		1700
EBOV-S	опт	(1651)	CAGAACGCCCTGGTGTGCGGCCTGAGACAGCTGGCCAAACGAAACCACTCA	
EBOV-Z	опт	(1651)	CAGGATGGTCTGATTGTGGTCTCCGGCAGCTGGCTAATGAGACAACACA	
		1701		1750
EBOV-S	опт	(1701)	GGCACTGCAGCTGTTCTGCGGGCCACCACCGAGCTGCGGACCTACACCA	
EBOV-Z	опт	(1701)	GGCTCTCCAGCTGTTTCTGAGAGCCACAACAGAGCTGAGAACCTTCAGCA	
		1751		1800
EBOV-S	опт	(1751)	TCCTGAACAGGAAGGCCATCGACTTTCTGCTGCGGAGATGGGGCGGCACC	
EBOV-Z	опт	(1751)	TTCTCAACCGCAAGGCTATTGACTTCTGCTCCAACGATGGGGAGGCACA	
		1801		1850
EBOV-S	опт	(1801)	TGTAGAATCCTGGGCCCGACTGCTGCATCGAGCCCCACGACTGGACCAA	
EBOV-Z	опт	(1801)	TGCCACATCCTGGGCGCTGATTGTTGTATCGAACCTCAGATTGGACAAA	
		1851		1900
EBOV-S	опт	(1851)	GAATATCACCGACAAGATCAACAGATCATCCAGACTTCATCGACAACC	
EBOV-Z	опт	(1851)	GAACATTACAGATAAGATCGATCAGATTATCCATGACTTTGTGGACAAGA	
		1901		1950
EBOV-S	опт	(1901)	CCCTGCCCAACAGGACAACGACGACAACTGGTGGACTGGTTGGCGACAG	
EBOV-Z	опт	(1901)	CCCTGCCCGATCAGGGCGACAACGATAATTGGTGGACAGGTGGAGACAG	

Фиг. 9В (продовження)

		1951		2000
EBOV-S	опт	(1951)	TGGATCCCTGCCGGCATCGGCATCACCAGGCATCATCATTGCCATTATCGC	
EBOV-Z	опт	(1951)	TGGATTCCAGCCGGGATTGGCGTGACCGCGTGATTATCGCCGTGATCGC	
		2001		2031
EBOV-S	опт	(2001)	TCTCCTCTGCGTGTGCAAGCTCCTCTGCTGA	
EBOV-Z	опт	(2001)	CCTGTTCTGCATCTGCAAGTTCGTGTTCTGA	

Фиг. 9В (продовження)

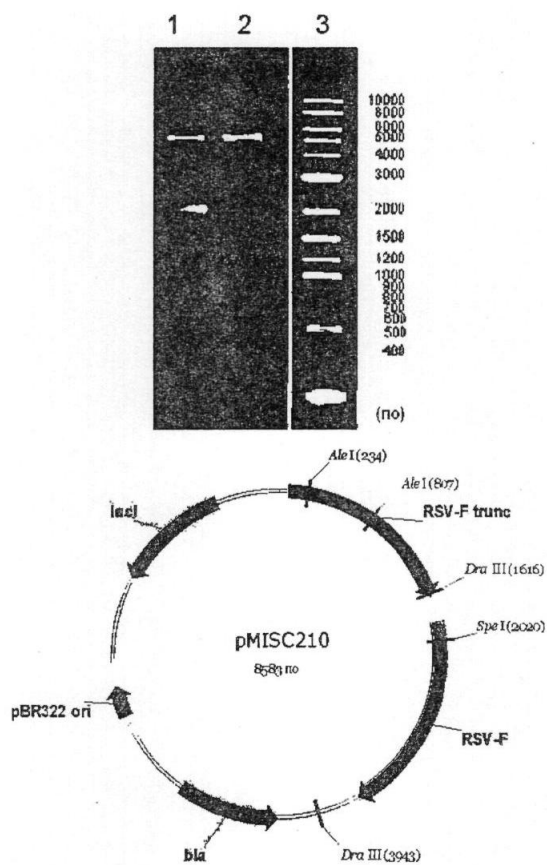


Fig. 10

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601